

Aus der Poliklinik für Zahnerhaltung und Parodontologie
der Ludwig- Maximilians- Universität München

Direktor: Prof. Dr. med. dent. Reinhard Hickel

**Assoziation von funktionell wirksamen Polymorphismen auf dem humanen
Chromosom 1 mit der Pathogenese der chronischen Parodontitis**

Dissertation
zum Erwerb des Doktorgrades der Zahnheilkunde
an der Medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Christina Fotiadou
aus
München

2016

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. med. Dr. med. dent. Matthias Folwaczny

Mitberichterstatter: Prof. Dr. med. Dipl. chem. Elke Holinski-Feder
Prof. Dr. med. dent. Daniel Edelhoff

Dekan: Prof. Dr. med. dent. Reinhard Hickel

Tag der mündlichen Prüfung: 22.02.2016

Eidesstattliche Versicherung

Christina Fotiadou

Name, Vorname

Ich erkläre hiermit an Eides statt,
dass ich die vorliegende Dissertation mit dem Thema

Assoziation von funktionell wirksamen Polymorphismen auf dem humanen Chromosom 1 mit der Pathogenese der chronischen Parodontitis

selbständig verfasst, mich außer der angegebenen keiner weiteren Hilfsmittel bedient und alle Erkenntnisse, die aus dem Schrifttum ganz oder annähernd übernommen sind, als solche kenntlich gemacht und nach ihrer Herkunft unter Bezeichnung der Fundstelle einzeln nachgewiesen habe.

Ich erkläre des Weiteren, dass die hier vorgelegte Dissertation nicht in gleicher oder in ähnlicher Form bei einer anderen Stelle zur Erlangung eines akademischen Grades eingereicht wurde.

02.08.2015

Ort, Datum

Unterschrift Doktorandin/Doktorand

Meinen Eltern

Inhaltsverzeichnis

1 Einleitung.....	1
2 Wissenschaftlicher Hintergrund	2
2.1 Klassifikation von Parodontalerkrankungen	2
2.2 Ätiologie und Pathogenese von Parodontalerkrankungen	4
2.2.1 Konzepte der Pathogenese	4
2.2.2 Bakterielle Exposition und mikrobielle Kolonisation.....	5
2.2.3 Parodontalpathogene Keime und Virulenzfaktoren	7
2.2.4 Der Biofilm.....	9
2.2.5 Von der gesunden Gingiva zur Parodontitis	10
2.2.5.1 Erste Phase der Immunantwort: Die Leukozyten.....	10
2.2.5.2 Zweite Phase der Immunantwort: Die Monozyten und Lymphozyten Achse.....	12
2.2.6 Knochenresorption	15
2.3 Risikofaktoren der Parodontalerkrankungen	16
2.3.1 Orale Faktoren.....	16
2.3.2 Verhaltensfaktoren	17
2.3.3 Soziodemografische Faktoren.....	18
2.3.4 Systemische Faktoren	19
2.4 Genetische Aspekte von Parodontalerkrankungen	20
2.4.1 Genetische Varianten und ihre Rolle bei der Krankheitsentwicklung.....	21
2.4.2 SNPs in der Pathogenese von Parodontalerkrankungen	23
2.4.3 SNPs als Suszeptibilitätsgene für mehr als eine Erkrankung	25
2.4.4 Methoden der genetischen Analyse-Assoziationsstudien.....	28
3 Genvarianten auf dem humanen Chromosom 1 mit Einfluss auf chronisch- entzündliche Erkrankungen	31
3.1 rs11584383	31
3.2 rs11465804	31
3.3 rs2274910	32
3.4 rs9286879	33
3.5 rs3737240 und rs13294	34
3.6 rs2476601	35

3.7 rs3024505	36
4 Ziel der Studie	38
5 Material und Methode	39
5.1 Studienpopulation	39
5.1.1 Gruppe mit chronischer Parodontitis	39
5.1.1.1 Klinische Untersuchung.....	39
5.1.2 Kontrollgruppe ohne Parodontitis	40
5.2 Blutentnahme	41
5.3 Aufbereitung der Blutproben	41
5.3.1 Methode 1	41
5.3.2 Methode 2	41
5.4 DNA-Isolierung.....	42
5.4.1 DNA-Isolierung mit Hilfe des QIAamp Blood Midi Kit.....	42
5.4.2 DNA-Isolierung nach der Aussalzmethode.....	42
5.5 Konzentrationsbestimmung der Nukleinsäuren.....	43
5.6 Genotypisierung mit MALDI TOF MS.....	44
6 Statistische Auswertung	47
6.1 Hardy Weinberg Gleichgewicht	47
6.2 Bestimmung der Genotypverteilung, der Allelfrequenzen und des Erbschaftsmodelles.....	47
6.3 Multinominale logistische Regression	48
6.4 Kopplungsungleichgewicht.....	48
6.5 Schätzung von Haplotypen	49
6.6 Bonferroni-Korrektur.....	50
7 Ergebnisse.....	51
7.1 Merkmale der Studienpopulation.....	51
7.2 Hardy-Weinberg-Gleichgewicht.....	52
7.3 Polymorphismen des Chromosoms 1	52
7.3.1 rs11584383	52
7.3.2. rs11465804	54
7.3.3 rs2274910	55
7.3.4 rs9286879	57
7.3.5 rs3737240	58

7.3.6 rs13294	59
7.3.7 rs2476601	61
7.3.8 rs3024505	62
7.4 Die Genotypverteilung in der männlichen Subpopulation.....	63
7.5 Genotypverteilung in der weiblichen Subpopulation.....	65
7.6 Genotypverteilung in der Subpopulation der Nichtraucher.....	67
7.7 Genotypverteilung in der Subpopulation der Raucher.....	68
7.8 Multinominale logistische Regression	69
7.9 Kopplungsungleichgewicht in der Studienpopulation	70
7.10 Schätzung von Haplotypen	72
7.10.1 Assoziation der Haplotypen mit der chronischen Parodontitis.....	75
7.10.2 Assoziation der Haplotypen mit chronischer Parodontitis in der adjustierten Population (Alter, Geschlecht, Rauchen)	78
7.11 Ergebnisse nach Anwendung der Bonferroni-Korrektur	81
8 Diskussion	82
8.1 Fragestellung und Studiendesign.....	82
8.1.1 Auswahl der Studienpopulation	84
8.1.2 Validität der verwendeten Genotypisierungsmethoden	86
8.2 Vergleich der Frequenzen der Kontrollgruppen mit Kohorten der Literatur	87
8.3 Interpretation der Ergebnisse.....	91
8.3.1 Interpretation der Ergebnisse für den rs2274910 und eventuelle Auswirkungen auf die Pathogenese der chronischen Parodontitis.....	91
8.3.2 Interpretation der Ergebnisse für den rs9286879 und eventuelle Auswirkungen auf die Pathogenese der chronischen Parodontitis.....	94
8.3.3 Interpretation weiterer Ergebnisse.....	95
8.3.4 Interpretation der Ergebnisse der Haplotypanalyse.....	97
8.4 Ausblick für die Zukunft.....	98
9 Zusammenfassung	101
10 Anhang	102
10.1 Abbildungsverzeichnis	102
10.2 Tabellenverzeichnis	103
10.3 Abkürzungsverzeichnis	106
11 Literaturverzeichnis.....	110
12 Danksagung	152

1 Einleitung

Die chronische Parodontitis ist eine chronisch-entzündliche Veränderung des Zahnhalteapparates (sog. Parodontium), die mit einer Prävalenz von bis zu 40% eine der am meist verbreiteten humanen Erkrankungen darstellt [1, 2].

Der wichtigste exogene ätiologische Faktor der Parodontitis ist die Etablierung einer pathogenen, oralen und mikrobiellen Flora, welche durch eine entzündliche und immunologische Wirtsantwort zu einem irreversiblen Verlust des Zahnhalteapparates führen kann [3]. Der klinische Phänotyp dieser Erkrankung ist dabei multifaktoriell bedingt. So spielen Umweltfaktoren, wie z.B. das Rauchen oder Allgemeinerkrankungen, aber auch genetische Einflüsse eine wichtige Rolle in der Manifestation einer chronischen Parodontitis [4].

Daten verschiedener Zwillingsstudien konnten den Anteil der genetischen Einflüsse auf bis zu 50% der Parodontitis-Population einstufen [5-8]. Um den genetischen Hintergrund aufzuschlüsseln ist es erforderlich, genetische Marker zu bestimmen, welche in Assoziation mit der chronischen Parodontitis stehen. Dadurch ist eine genauere Einschätzung des individuellen Erkrankungsrisikos möglich. Letztendlich könnte die Intensität von Vorsorge- und Therapiemaßnahmen daran ausgerichtet werden.

In dieser Arbeit wurden 8 auf dem Chromosom 1 befindliche Polymorphismen ausgewählt und deren mögliche Assoziation mit der Manifestation einer chronischen Parodontitis untersucht. Diese 8 Polymorphismen wurden zuvor in genomweiten Assoziationsstudien als Suszeptibilitätsgene für Morbus Crohn und weitere entzündliche autoimmune chronische Krankheiten identifiziert. Da sich die untersuchten Polymorphismen alle am Chromosom 1 befanden, wurde eine Haplotypanalyse durchgeführt, um einen Zusammenhang zwischen den Haplotypen und der chronischen Parodontitis aufzuzeigen.

2 Wissenschaftlicher Hintergrund

2.1 Klassifikation von Parodontalerkrankungen

Die Nomenklatur der Parodontalerkrankungen war im Laufe der Zeit einem ständigen Wandel unterworfen. Der *International Workshop for a Classification of Periodontal Diseases and Conditions* in Oak Brook (Illinois, USA) stellte 1999 die aktuelle Klassifikation parodontaler Erkrankungen vor (Tabelle 1) [9]. Die Deutsche Gesellschaft für Parodontologie übernahm diese Klassifikation später als nationale verbindliche Nomenklatur [10].

In die Klassifikation von 1999 wurde eine neue Kategorie mit dem Titel „*gingivale Erkrankungen*“ aufgenommen, bei der alle Erkrankungen der Gingiva beschrieben wurden, die entweder Plaque-induziert oder nicht Plaque-induziert sind. Weitere Veränderungen gegenüber dem bisherigen System stellte der Austausch des Begriffs „*adulte Parodontitis*“ durch den Begriff der „*chronische Parodontitis*“ dar. Die Einteilung der Parodontitiden wird somit nicht mehr durch das Patientenalter definiert, da epidemiologische Daten beweisen konnten, dass eine Parodontitis auch im Jugend- oder Kindesalter auftreten kann [11]. Weiterhin wurde der Begriff „*früh beginnende Parodontitis*“ aufgegeben und durch den Begriff „*aggressive Parodontitis*“ ersetzt. Die chronische sowie auch die aggressive Parodontitis können dabei sowohl lokalisiert als auch generalisiert auftreten. Eine weitere umfassende Kategorie stellte die Parodontitis als Manifestation einer Systemerkrankung dar. Darunter sind hämatologische Erkrankungen, wie z.B. Leukämien und erworbene Neutropenien zu verstehen sowie genetische Erkrankungen, wie das Down Syndrom und das Papillon-Lefèvre-Syndrom. Die „*nekrotisierende ulzerierende Parodontitis*“ wurde durch die Kategorie „*nekrotisierende Parodontalerkrankungen*“ ersetzt. In dieser Kategorie wurden die nekrotisierenden ulzerierenden Formen der Gingivitis (NUG), sowie der Parodontitis (NUP) untergeordnet. Unter dem Überbegriff „*Abszesse des Parodontiums*“ wurden weiterhin gingivale, parodontale und perikoronale Abszesse zusammengefasst. „*Parodontalerkrankungen im Zusammenhang mit endodontischen Läsionen*“ beschreiben die anatomische oder unphysiologische Kommunikation zwischen parodontalem und endodontalem Gewebe, welche zu einer Entzündung des Endodonts oder Parodonts führen kann [12]. Als letzte Kategorie wurden entwicklungsbedingte oder erworbene

Deformationen und Zustände definiert. Darunter wurden Faktoren, welche Gingivopathien und Parodontitis modifizieren oder fördern können aufgelistet, wie z.B. Zahnanatomien, Wurzelfrakturen, das Fehlen der keratinisierten Gingiva, die verminderte Tiefe des Vestibulum oris, der Gingivaüberschuss sowie das okklusale Trauma [13].

Tabelle 1: Klassifikation der Parodontalerkrankungen nach Armitage [9]. Gekürzte Version [14]

Typ	Klassifikation 1999 der Parodontalerkrankungen
I	Gingivale Erkrankungen A Plaqueinduzierte gingivale Erkrankungen B Nicht plaqueinduzierte gingivale Erkrankungen (Läsionen)
II	Chronische Parodontitis A Lokalisiert B Generalisiert
III	Aggressive Parodontitis A Lokalisiert B Generalisiert
IV	Parodontitis als Manifestation einer Systemerkrankung A Assoziiert mit hämatologischen Erkrankungen B Assoziiert mit genetischen Abberationen C Assoziiert mit anderen Allgemeinerkrankungen
V	Nekrotisierende Parodontalerkrankungen A Nekrotisierende ulzerative Gingivitis (NUG) B Nekrotisierende ulzerative Parodontitis (NUP)
VI	Abszesse des Parodontiums
VII	Parodontitis im Zusammenhang mit endodontischen Läsionen
VIII	Entwicklungsbedingte oder erworbene Deformationen und Zustände

2.2 Ätiologie und Pathogenese von Parodontalerkrankungen

2.2.1 Konzepte der Pathogenese

Eine repräsentative epidemiologische Studie der Bundesrepublik Deutschland stellte die „*Vierte Deutsche Mundgesundheitsstudie*“ (DMS-IV, Institut der deutschen Zahnärzte, IDZ) aus dem Jahr 2006 dar. Im Vergleich mit Daten der letzten Erhebung von 1997 zeigte sich eine deutliche Zunahme von 26,9% aller Erwachsenen Patienten, die an einer mittelschweren bzw. schweren Parodontitis litten (Abbildung 1). Als Grund für diese eher negative und im Vergleich zu einzelnen Leiden gegenläufige Entwicklung wird angegeben, dass heutzutage weniger Zähne durch Karies verloren gehen, was wiederum ein steigendes Risiko für parodontale Erkrankungen darstellt [15].

Auch in der Weltbevölkerung haben Erkrankungen der Gingiva und des Parodonts eine hohe Prävalenz [17]. Eine Gingivitis, die mildeste Form der Parodontalerkrankungen, entwickelt sich nach persistierender Plaqueakkumulation an den Zähnen, beeinflusst aber nicht das Parodontium und ist somit reversibel. Im Gegensatz dazu führt eine Parodontitis zusätzlich zum Verlust von Weichgewebe und Knochen und ist somit auch einer der wichtigsten Gründe für den Zahnverlust bei Erwachsenen. Zusätzlich zu den pathogenen Mikroorganismen im Biofilm tragen genetische Veränderungen und Umweltfaktoren zu den teilweise sehr komplexen Erkrankungen bei [1].

Mitte der sechziger Jahre zeigten Studien an Menschen und Tieren die kritische Rolle der Plaqueakkumulation bei der Manifestation einer Gingivitis bzw. Parodontitis [4, 18, 19]. Dies führte zum Konzept der „*unspezifischen Plaquehypothese*“, welches die Manifestation einer Parodontalerkrankung nur durch die Quantität der Bakterien und der Plaque zu erklären versuchte [20].

Die Beobachtung, dass die Zusammensetzung der subgingivalen Mikroflora aus Läsionen von Patienten mit lokalisierter aggressiver Parodontitis [21] oder auch Patienten mit chronischer Parodontitis [22], sich von der Zusammensetzung in Proben aus gesunden Stellen der gleichen Patienten unterschied, führte später zur Formulierung der „*spezifischen Plaquehypothese*“ [13]. Dieses Konzept benennt spezifische Bakterien, die die so genannten Henle-Koch-Postulate erfüllen, wie

gramnegative anaerobe oder mikroaerophile Bakterien, die mit bestimmten Formen entzündlicher Parodontopathien in Verbindung gebracht wurden [13]. Weiterhin wird die wichtige Rolle der protektiven und destruktiven Immunantwort des Wirtes [4, 23-29] in Kombination mit charakteristischen Bakterien im Verlauf der Parodontitis betont [4].

Zwischen 1985 und 1995 wurde das lineare Konzept der spezifischen und unspezifischen Plaquehypothese durch verschiedene Studien an Tieren [30] und Menschen [31, 32] und insbesondere Zwillingen [6-8] angefochten. Es wurden Risikofaktoren bestimmt, wie genetische Einflüsse [5, 8], aber auch das Rauchen [4, 33-36] und der Diabetes mellitus [4, 11, 37-41], die die Schwere einer Parodontitis durch die Alteration der protektiven und der destruktiven Immunantwort des Wirtes beeinflussen können. In Abwesenheit dieser Risikofaktoren besteht demnach ein symbiotisches Gleichgewicht zwischen Wirt und Bakterien, so die „ökologische Plaquehypothese“ [42]. Der Wirt ist demnach in der Lage durch eine adäquate Immunantwort die Destruktion des parodontalen Gewebes zu limitieren und die bakterielle Invasion zu bekämpfen. Wirken modifizierende Risikofaktoren auf den Wirt, bringt dies seine Immunantwort aus dem Gleichgewicht und führt zu einer gewebedestruktiveren Parodontitis [4].

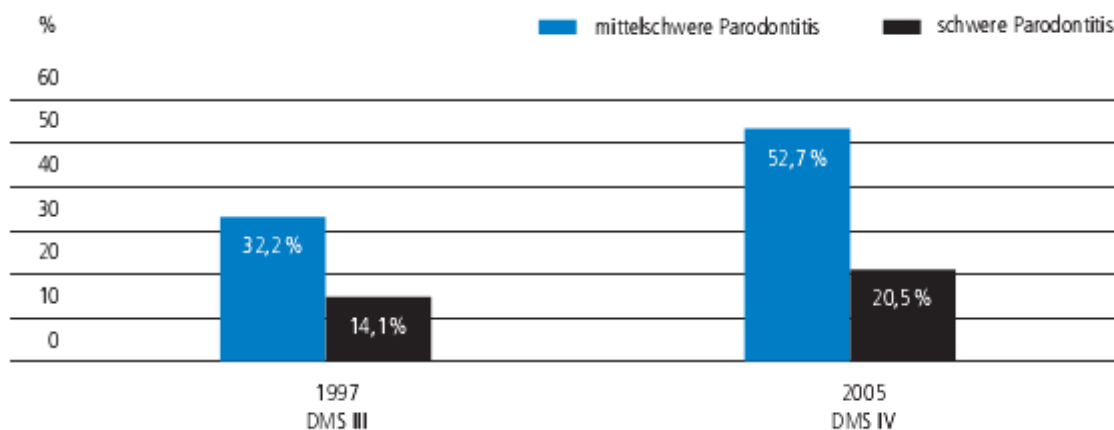


Abbildung 1: Entwicklung mittelschwerer und schwerer Parodontalerkrankungen bei 35- bis 44-jährigen erwachsenen Patienten in Deutschland von 1997 bis 2005 [15]

2.2.2 Bakterielle Exposition und mikrobielle Kolonisation

Die menschliche Mundhöhle wird während ihrer gesamten Lebenszeit von über 1000 Bakterien besiedelt. Ca. 40% dieser Bakterien wurden bereits in der subgingivalen

Plaque identifiziert [43]. Offenbar besteht in der Mundhöhle ein intaktes Gleichgewicht zwischen den Mikroorganismen und dem Wirtsorganismus, welches irreversible Schäden im Parodontium zunächst vermeidet. Wird dieses Gleichgewicht gestört, kann es zu parodontalen Infekten kommen. So können Infektionen durch Bakterien des Wirtes ausgehen (sog. endogene Infektion) die stets in der Mundhöhle anzutreffen sind oder durch neue exogene Mikroorganismen, die in das Ökosystem eindringen (sog. exogene Infektion), verursacht werden. Eine Überwucherung einer bestimmten Spezies von Bakterien kann ebenfalls zu opportunistischen Infektionen führen [13].

Das Kolonisationsmuster an Zahnoberflächen oder anderen harten Strukturen in der Mundhöhle, scheint dabei immer gleich zu sein. Innerhalb weniger Minuten bildet sich eine organische Anlagerung von Speichelglykoproteinen an der Zahnoberfläche, welcher als sog. erworbenes Pellicel bezeichnet wird. Das Pellicel verändert die Oberflächenenergie und die Ladung und erleichtert damit die Anheftung von Bakterien [13, 39, 40]. Zu den primären Kolonisierern gehören die fakultativ anaeroben grampositiven Kokken. In den ersten 24 Stunden nach der Plaquebildung können überwiegend Streptokokken, aber auch grampositive Stäbchen, insbesondere *Actinomyzeten*, isoliert werden. Nach zwei bis vier Tagen ohne ausreichende Mundhygiene kann eine weitere Änderung der Flora beobachtet werden. Es handelte sich um eine sekundäre Kolonisation von gramnegativen Bakterien wie z.B. *Veillonella* und *Fusobacterium*, die mit Hilfe von Oberflächenrezeptoren an die vorhandenen primären Kolonisierer anhafteten (die sog. interbakterielle Ko-Aggregation) [13, 19]. Durch die zunehmende Schichtdicke der Plaque wird die Diffusion in den und aus dem Biofilm erschwert, was zu anaeroben Bedingungen in der Tiefe der Plaque führt. Nach einer Woche des ungestörten Plaquewachstums können schließlich auch Spirochäten und Spirillen nachgewiesen werden [13, 44].

In den klassischen Studien zu kurzzeitig bestehender, experimentell ausgelöster Gingivitis konnte bewiesen werden, dass die Symptome der gingivalen Entzündung wie Blutung, Rötung und Schwellung vollständig reversibel sind, soweit eine entsprechende Mundhygiene wieder aufgenommen wurde [19, 44]. An mehr als 50% der Stellen, die eine jahrelang persistierende gingivale Entzündung aufwiesen, kam es jedoch zu einem Wechsel von der reversiblen Gingivitis zur Parodontitis mit einem irreversiblen Abbau des Zahnhalteapparates [41].

2.2.3 Parodontalpathogene Keime und Virulenzfaktoren

Im Jahr 1996 einigten sich Experten im World Workshop der Parodontologie auf vier Bakterien, von denen genügend Daten vorhanden waren, die eine Beteiligung in der Ätiologie der Parodontitis bekräftigten. So wurden die Bakterien *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia* und *Treponema denticola* dieser Kategorie zugeordnet [45, 46].

Socransky unternahm klinische Studien, um die Bakterien der subgingivalen Mikroflora zu charakterisieren. Mit Hilfe von DNA-Proben konnte er zeigen, dass Bakterien in Komplexen vorkamen, welche mit dem Schweregrad der Entzündung am Parodont im Zusammenhang standen (Abbildung 2) [38, 46]. Socransky konnte insgesamt fünf Komplexe identifizieren, von denen der rote Komplex - bestehend aus *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia* und *Treponema denticola* - eine auffällige Verbindung zu erhöhten Taschensondierungstiefen sowie Sondierungsblutung aufwies [38].

Porphyromonas gingivalis, als ein anaerobes Bakterium des roten Komplexes weist, eine Vielfalt potenter Virulenzfaktoren auf. Der kritischste Schritt der bakteriellen Kolonisation ist die Adhäsion am Gewebe des Wirtes. *P. gingivalis* besitzt Fimbrien, die zwischen dem Bakterium und den verschiedenen Typen epithelialer Zellen [47, 48], dem Fibronektin und dem Fibrinogen [48, 49], sowie Speichelkomponenten vermitteln können [48, 50]. Außerdem hat *P. gingivalis* durch die Fimbrien die Fähigkeit sich mit anderen kommensalen Bakterien, wie z.B. *Streptococcus gordonii*, zu verbinden, um einen Biofilm zu formen [48]. Ein weiterer etablierter Virulenzfaktor des *P. gingivalis* ist die Produktion von Hämagglutininproteinen, die die Kolonisation fördern, indem sie Hämagglutinine zwischen Wirtszellen und Bakterien vermitteln. Hämagglutinin erlaubt auch die Generierung von Häm aus Erythrozyten, was wiederum essentiell für das Bakterienwachstum ist [51]. Der Erwerb von Häm und Eisen wird ebenfalls durch aktive Hämolsine des *P. gingivalis* gefördert, die Erythrozyten lysieren können [52]. Einer der potentesten Virulenzfaktoren von *P. gingivalis* ist die Produktion verschiedener Proteasen (u.a. Gingipaine) die sich mit einer Reihe von Wirtsproteinen verbinden oder diese spalten können. Gingipaine sind für mindestens 85% der gesamten proteolytischen Aktivität der verschiedenen Varianten dieses Pathogens verantwortlich und spielen in der Gewebsdestruktion

sowie der Invasion und Modulation der Immunantwort des Wirtes eine zentrale Rolle [50, 51]. Die Lipopolysaccharide der äußeren Membran von *P. gingivalis* haben ebenfalls eine wichtige Rolle. Diese Lipopolysaccharide tragen dazu bei, die strukturelle Integrität des Bakteriums zu erhalten sowie die Membran zu schützen. Lipopolysaccharide provozieren außerdem eine Dysregulation der oralen Immunhomöostase, welche erforderlich für die orale Gesundheit ist und fördern damit eine parodontale Krankheit [50, 53].

Aggregatibacter actinomycetemcomitans ist ein klassisches parodontalpathogenes Bakterium, welches häufig mit der aggressiven Parodontitis assoziiert wird [50, 54-56]. *A. actinomycetemcomitans* kann, mithilfe von Adhäsinen, welche Elemente der Zelloberfläche der Bakterien darstellen (z.B. Fimbrien oder Proteine der äußeren Membran), an allen Komponenten der Mundhöhle anhaften [56-58]. *A. actinomycetemcomitans* steigert zusätzlich sein Potential zur Kolonisation von oralen Strukturen, indem es Actinobazillin produziert, ein Bakteriosin, welches toxisch gegen *Streptokokken* und *Actinomyzeten* wirkt, die primär auf der Zahnoberfläche anhaften. Somit hat *A. actinomycetemcomitans* gute Voraussetzungen, sich gegen konkurrierende Bakterienspezies durchzusetzen [56, 59, 60]. Ein weiterer häufig untersuchter Virulenzfaktor von *A. actinomycetemcomitans* ist das Leukotoxin. Dieses Toxin ist ein Protein, das sich mit Neutrophilen, Monozyten und einer Untergruppe von Lymphozyten verbindet und Poren an den Membranen dieser Zellen verursacht. Die gebildeten Poren führen zum Verlust des Gleichgewichts der osmotischen Homöostase dieser Zellen, was den Zelltod zur Folge hat [56, 61-63]. Somit kann *A. actinomycetemcomitans* sein eigenes Überleben manipulieren, indem es Virulenzfaktoren nutzt, die die Wirtsabwehr beeinträchtigen. Sobald das Bakterium sich etabliert hat, antwortet der Wirt auf den bakteriellen Reiz mit einer kontinuierlichen Entzündung, welche zu einer Destruktion von parodontalem Gewebe führt. *A. actinomycetemcomitans* besitzt mindestens drei spezifische Faktoren, die unmittelbar zu einem Knochenabbau führen (Lipopolysaccharide, proteolyse-sensitive Faktoren und GroEL) sowie weitere Faktoren mit der Fähigkeit Kollagen abzubauen, indem Kollagenasen und das Fibroblasten-Zytotoxin aktiviert werden und somit schädliche Effekte am Bindegewebe und der extrazellulären Matrix verursacht werden [56].

Trotz dieser Virulenzfaktoren sind parodontalpathogene Keime Voraussetzung, aber nicht allein ausreichend um eine parodontale Erkrankung zu verursachen. Eine parodontale Destruktion ist nur im angemessen empfänglichen Wirt möglich [45].

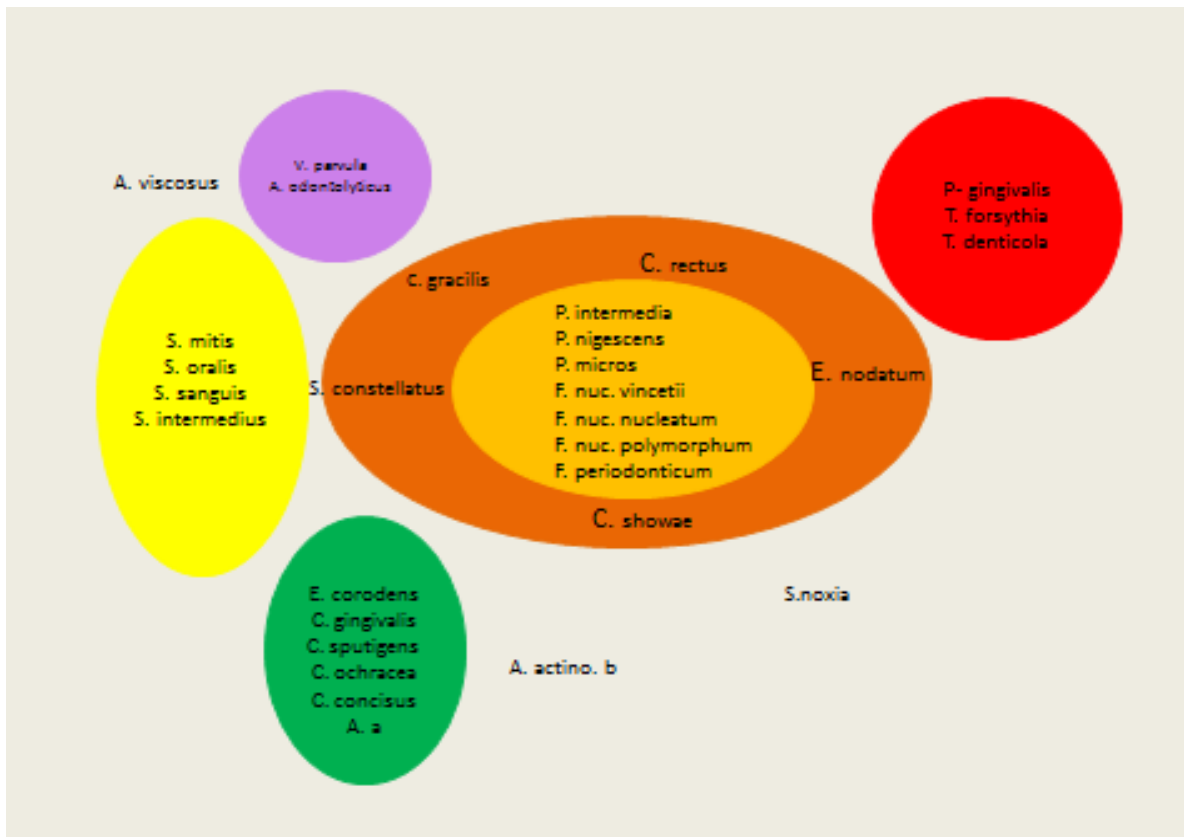


Abbildung 2: Assoziationen zwischen den verschiedenen Keimen in den mikrobiellen Komplexen sowie zwischen den verschiedenen mikrobiellen Komplexen [38]

2.2.4 Der Biofilm

Mikrobielle Biofilme werden als bakterielle Populationen definiert, die in einer selbst produzierten Matrix aus extrazellulären polymeren Substanzen (EPS) eingeschlossen sind und an Oberflächen und Grenzflächen sowie untereinander anhaften [64, 65]. Im Gegensatz zu planktonischen Zellen weisen Bakterien, die im gemeinschaftlichen Verbund des Biofilms Ko-existieren, eine weitgehende (bis zu 1000-fach höhere) Resistenz gegenüber Antibiotika und antibakteriellen Lösungen [66, 67] sowie gegenüber der körpereigenen Immunabwehr auf [68]. Diese Resistenz besteht nicht nur in einer Widerstandsfähigkeit der Bakterienzellen an sich (gemäß der klassischen Definition des Begriffes „Resistenz“), sondern u.a. auch in einer rein physikalischen Barriere, gebildet durch die schleimartige, partiell geladene Matrixstruktur, so dass eine Diffusion oder Penetration durch dickere Biofilme

erschwert wird. Innerhalb eines Biofilms kommt es zudem, durch einen als „*Quorum sensing*“ bezeichneten Prozess zu einem regen Informationsaustausch zwischen den einzelnen Bakterienzellen. Der Informationsaustausch erlaubt den Bakterien, als Reaktion auf das Erreichen einer kritischen Zelldichte, Gene zu exprimieren, die den weiteren Bestand des Biofilms sichern sollen [69, 70].

2.2.5 Von der gesunden Gingiva zur Parodontitis

2.2.5.1 Erste Phase der Immunantwort: Die Leukozyten

Im Gegensatz zu anderen Gewebetypen exprimiert der subepitheliale Gefäßkomplex, bereits unter klinisch entzündungsfreien Bedingungen, Adhäsionsmoleküle wie das E-Selektin und erlaubt einen kontinuierlichen Fluss von neutrophilen Granulozyten, die die Gefäße verlassen und in den gingivalen Sulkus einwandern. So diffundieren ungefähr 30.000 Leukozyten pro Minute in den gingivalen Sulkus eines parodontal gesunden Patienten. Diese Zellen in Kombination mit dem oralen Sulkusepithel, dem oralen Epithel, dem Saumepithel, der Sulkusflüssigkeit und dem Speichel bilden gemeinsam die lokale Wirtsabwehr eines klinisch gesunden Parodonts dar [71-74].

Sobald die bakterielle Last zunimmt, manifestiert sich auch klinisch eine Entzündung [71, 75]. Bakterielle Komponenten, wie Lipopolysaccharide gramnegativer Bakterien und ihre Produkte, wie z.B. Metaboliten (Butyrat und Propionat), die toxisch auf das Gewebe wirken, sowie Enzyme (Kollagenasen, Proteasen), die die Struktur des Bindegewebes abbauen, interagieren mit den Epithelzellen und penetrieren das darunterliegende Gewebe [74, 76-79]. Diese Produkte können chemotaktisch auf Leukozyten wirken. Ebenso veranlassen sie die Produktion von Zytokinen (z.B. IL-1) und verschiedenen pro-inflammatorischen Mediatoren (z.B. PGE₂) des Saumepithels. Die Zytokine, die pro-inflammatorischen Mediatoren sowie das Komplementsystem, welches von den Lipopolysacchariden aktiviert wird [80], führen zu einer Vasodilatation der Arteriolen, Venolen und Kapillaren des dentogingivalen Plexus. Der hydrostatische Druck wird erhöht und Spalten öffnen sich zwischen Endothelzellen der Kapillaren, was in einer gesteigerten vaskulären Permeabilität resultiert. Die Gefäßpermeabilität wird auch durch die Wirkung des Histamins von Mastzellen erhöht, so dass es zu vermehrter Exsudation von Sulkusflüssigkeit kommt [13, 74].

Parallel zu den Gefäßveränderungen kommt es zu einer erhöhten Exsudation von Leukozyten, speziell den neutrophilen Granulozyten (sog. PMNs) des Gefäßkomplexes, in das subepitheliale Bindegewebe. Dies wird durch komplementäre Adhäsionsmoleküle gesteuert, die an der Oberfläche der PMNs und den Endothelzellen nach Reizeinwirkung exprimiert werden [81].

Die aktivierten Endothelzellen schütten daraufhin Adhäsionsmoleküle aus, wie das ELAM-1 (Endothel-Leukozyten-Adhäsionsmolekül-1), ICAM-1 (interzelluläres-Adhäsionsmolekül-1) und VCAM-1 (vaskuläres Adhäsionsmolekül-1). Die PMNs wiederum exprimieren dazu passende Integrine, die sich mit den zuvor genannten Adhäsionsmolekülen verbinden und ihren Fluss verlangsamen. Die PMNs können somit an der Gefäßwand postkapillärer Venolen anhaften und durch diese diffundieren (sog. Diapedese) [13, 74, 82-84]. Wie wichtig die Adhäsionsmoleküle für die Leukozytendiapedese sind, zeigt sich z.B. bei Krankheiten wie dem Leukozytenadhäsion-Defizienz-Syndrom (LAD), bei dem eine mangelnde Adhäsion von Leukozyten an der Gefäßwand u.a. zu einer raschen und schweren Zerstörung des parodontalen Gewebe führt [74, 85-87].

Nachdem die PMNs die Gefäßwand der postkapillären Venolen durchdrungen haben, wandern sie durch chemotaktische vermittelte Reize entlang der Konzentrationsgradienten zum Sulkus. Bei den chemotaktischen Reizen handelt es sich um Produkte des Bakterienmetabolismus und Produkte der Wirtszelle, wie dem Interleukin 8 (IL-8), dem Komplementmolekül C5a und dem Leukotrien B4 [13, 74, 82-84]. Die PMNs bewegen sich rasch zum höchsten Konzentrationspunkt der chemotaktischen Produkte, entsprechend sind sie auch die ersten Granulozyten am Ort der Entzündung, im Gegensatz zu den Monozyten-Makrophagen, welche sich langsamer bewegen und somit erst später zum Einsatz kommen [74, 83]. Die PMNs sind auch die häufigsten Zellen im Sulkus. In kleineren Mengen können noch Monozyten, Lymphozyten und Langerhanszellen gefunden werden, die eine wichtige Rolle im Aufnehmen von Antigenen und deren Präsentation im lymphatischen Gewebe darstellen, um dort die Antikörperproduktion anzuregen (sog. spezifische Immunantwort) [13, 74, 88].

Die eingewanderten PMNs üben ihre antibakterielle Wirkung entweder durch Partikelaufnahme (sog. Phagozytose) oder durch Enzymfreisetzung aus. Die Phagozytose wird mit Hilfe von im Körper vorkommenden Proteinen, die ein Teil der Immunantwort darstellen, (sog. Opsonine) erleichtert. Die beiden wichtigsten

Opsone sind das unspezifische Komplementsystem und die spezifisch wirkenden Antikörper [74, 89, 90].

Das primär unspezifisch wirkende Komplementsystem wird durch die Antikörper-Antigenpräsentation (sog. klassischer Pfad) oder durch die LPS der Bakterien, Viren und Teichonsäuren gram-positiver Bakterien (sog. alternativer Pfad) aktiviert. Bei der Aktivierung des Komplementsystems verbindet sich das Molekül C3 β mit der Bakterienzellmembran. Makrophagen und PMNs besitzen spezifische Rezeptoren für das C3 β Komplementmolekül auf ihrer Oberfläche und fördern die Phagozytose [74, 89].

Auch Antikörper-Bakterienkomplexe können sich mit spezifischen Rezeptoren für den Bereich Fc des Antikörpers (Fc γ -Rezeptoren für IgG), welche sich auf den Makrophagen und PMNs befinden, verbinden. [74, 89].

Nachdem die PMNs an den Bakterien anhaften, findet schließlich die Phagozytose statt. Nach der Phagozytose verschmelzen Phagosomen mit zytoplasmatischen Granula (sog. Lysosomen) und werden zu Phagolysosomen. Diese werden durch oxidierende Enzymsysteme, mithilfe von radikalen Verbindungen, die aus dem NADP-Oxydase System stammen, oder durch nicht oxidierende Enzyme, wie dem Lysosym, Calprotektin und Kathepsin G, zerstört. [40, 89, 90].

Die polymorphkernigen Granulozyten (PMN) sind Vertreter der unspezifischen bzw. der angeborenen Immunantwort. Ist die bakterielle Last klein, kann diese erste Phase der Immunantwort ausreichen, um einen parodontalen Gewebeabbau zu verhindern [45, 91]. Wenn die mikrobielle Last dadurch nicht kontrolliert werden kann, kommt es zur Aktivierung der zweiten Phase der Immunantwort (sog. Monozyten-Lymphozyten-Achse) die im Gewebeabbau mündet [45, 71, 92].

2.2.5.2 Zweite Phase der Immunantwort: Die Monozyten und Lymphozyten Achse

Verläuft die Plaqueakkumulation ungestört, kommt es zu einer Vermehrung der bakteriellen Last, einem zunehmend stärkeren Überwiegen gram-negativer anaerober Bakterien und daraus resultierend einer ausgeprägten, klinisch sichtbaren Entzündung [74].

Begleitet wird dieser Prozess von der Verlagerung der T-Zellen dominanten Läsion zu einer Plasmazellläsion. Die bakterielle Proliferation und deren Produkte dringen

tiefer ins Gewebe ein und führen dort zu einer Mobilisierung und Aktivierung der Monozyten/Lymphozyten Achse [45].

Die Zahl der Makrophagen nimmt mithilfe des Gefäßzelladhäsionsmoleküls-1 (ECAM-1) zu, das von aktiven Endothelzellen durch die erhöhte Konzentration an LPS exprimiert wird und selektiv an Monozyten bindet [91]. Die Monozyten differenzieren sich darauf im Gewebe in Makrophagen. Diese aktivierten Makrophagen dienen dem Ausbau der Entzündungsreaktion und zur Einleitung der Immunantwort. Daher handelt es sich um Effektorzellen, die, abhängig von der Natur des Stimulus, eine Reihe von Zytokinen sowie Oberflächenrezeptoren die die Antigen-spezifische Immunantwort beeinflussen, exprimieren und direkt das Pathogen anvisieren [91]. Makrophagen, die Lipopolysacchariden ausgesetzt sind, produzieren eine Reihe von Zytokinen [91, 93] unter anderem das Interferon γ [91, 94] den Tumornekrosenfaktor- α (TNF- α) [91, 95], den transformierenden Wachstumsfaktor β (TGF β) [91, 96], das IL-1 α und β [91, 97, 98], das IL-6 [91, 99, 100], das IL-10 [91, 101, 102], das IL-12 [91, 103, 104], das IL-15 [91, 105] sowie zahlreiche Chemokine, wie das Makrophagen-Entzündungs-Chemokin, das RANTES (*regulated on activation, normal T-cell expressed and secreted*), die Matrix-Metalloproteinasen (MMPs) und das Prostaglandin E₂ [91]. Einige dieser Faktoren wie das IL-1 β , der TNF- α und das Prostaglandin E₂ sind stark assoziiert mit parodontalen Läsionen und spielen eine wichtige Rolle in der Vermittlung des PA-assozierten Gewebeabbaus [45, 91].

Auch Makrophagenprodukte sind von Bedeutung in der Manifestation einer chronischen Parodontitis. Makrophagen, die Chemokine produzieren, rekrutieren z.B. weitere Monozyten und Lymphozyten in dem Entzündungsareal [91, 106]. Weiterhin führen Faktoren wie die MMPs, das PGE₂ und verschiedene Zytokine (z.B. IL-1 β), die durch die LPS-aktivierten Makrophagen exprimiert werden, zu einer Kollagendegradation [91]. Das IL-1 β und der TNF- α aktivieren Fibroblasten zur PGE₂- und MMP-Produktion. Beide aktivierte Zelltypen verringern die Exprimierung von MMP-Inhibitoren, was letztendlich zu einer hohen Aktivität der MMPs führt. Die MMPs zerstören Komponenten der extrazellulären Matrix und erhöhen somit den Raum für das entzündliche Zellinfiltrat [71]. Das IL-1 β steigert außerdem die Kollagenaseproduktion des parodontalen Ligaments sowie der Fibroblasten [91, 107, 108] und verringert die Kollagensynthese [91, 109]. Somit wird der Abbau von desmodontalen Kollagenfasern und alveolärem Knochen begünstigt [91, 110].

Prostaglandin E₂ reduziert ebenfalls die Kollagensynthese gingivaler Fibroblasten [91, 111] ist aber auch zuständig für die Aktivierung der Knochenresorption [71]. Schließlich werden CD4⁺-T-Lymphozyten durch Makrophagen aktiviert und zu T-Zellen differenziert, die Zytokine produzieren, um somit die B-Zell-Differenzierung und Antikörperproduktion zu unterstützen [91].

Bei den CD4⁺-T-Lymphozyten (sog. T-Helferzellen) können unter anderem die zwei Untergruppen Th1 und Th2 differenziert werden [112, 113]. Wenn ein naiver CD4⁺-T-Lymphozyt einem Antigen im Sinne einer Antigen-präsentierenden Zelle (APC), wie Makrophagen oder dendritischen Zellen, ausgesetzt wird, kommt es je nach Antigen (IL-12 oder IL-4) zur Th1/ Th2 Phänotyp-Differenzierung. Th1-Zellen sezernieren das Interferon γ und führen somit zu einer zellvermittelten Antwort mit Aktivierung von Makrophagen, NK Zellen und CD⁺8 T-Zellen, auch bekannt als „*cell mediated immunity* oder *CMi*“. Th1-Zytokine stimulieren ebenso B-Zellen zur Sezernierung opsonierender-Antikörper-Isotypen, die die Antigen-Aufnahme und Präsentation anregen [113]. Th2-Zellen produzieren IL-4, IL-5, IL-6 und sind für die humorale Immunantwort zuständig, welche die Differenzierung von B-Zellen in Plasmazellen fördert, zur Produktion von IgE und IgG1 anregt, sowie zur Aktivierung von Mastzellen führt [74, 84, 113-115]. Seit einiger Zeit werden weitere Phänotypen von Th-Zellen diskutiert. Th17 Zellen werden durch die Wirkung von Zytokinen wie IL-6, IL-1, IL-21 und TGF β zur Differenzierung angeregt [116], während das IL-23 eine wichtige Rolle in der Expansion und der Pathogenität dieser Zellen spielt [117]. Th17-Zellen bieten eine wichtige Immunität gegen extrazelluläre Pathogene durch die Aktivierung verschiedenster angeborener Entzündungswege an, sind aber auch die Schlüssel-Th-Zellen bei der Vermittlung der Autoimmunität [113, 118-120]. Bei der Regulation des Verhältnisses zwischen Th17 und den regulatorischen T-Zellen (sog. T_{reg}-Zellen), scheint das IL-6 eine zentrale Rolle zu spielen [113].

Beim vierten Phänotypen handelt es sich um regulatorische T-Zellen (T_{reg}-Zellen) von denen antiinflammatorische und protektive Effekte ausgehen [113].

Th1-Zellen können die Differenzierung von Th2- und Th17-Zellen inhibieren und umgekehrt. Das Gleichgewicht zwischen Th1/Th2-Zellen spielt nach aktuellen pathogenetischen Modellen eine wichtige Rolle in der Progression parodontaler Destruktion. Eine vorwiegende Th1-Zellen Population führt zu einer rascheren Kontrolle der Parodontitis mit Produktion von IgG2 und Aktivierung der Phagozytose von Makrophagen und Leukozyten. Eine überwiegend Th2 dominante Läsion führt

zur Produktion von funktionell weniger effektiven Antikörper, die die parodontale Infektion schlechter in den Griff bekommen und deshalb mit schwereren Parodontitisformen assoziiert sind [114, 115].

2.2.6 Knochenresorption

Die Manifestation der parodontalen Knochenresorption als Antwort auf eine Entzündung ist abhängig von zwei Faktoren: zuerst muss die Konzentration der im Gewebe präsenten Entzündungsmediatoren ausreichend sein, um die Knochenresorption einzuleiten. Als zweiten Schritt müssen die inflammatorischen Mediatoren in das Gewebe penetrieren, um einen kritischen räumlichen Abstand zum Alveolarknochen zu erreichen [121, 122].

Das Erlangen dieser ausreichenden Konzentrationen inflammatorischer Mediatoren ist abhängig von der Exprimierung proinflammatorischer Zytokine sowie Interleukin-1, -6, -11, -17, Tumornekrosenfaktor- α (TNF- α), dem Leukämie inhibierenden Faktor und Oncostatin M [122, 123]. Kinine, wie etwa das Bradykinin, Kallidin und Trombin, aber auch verschiedene Chemokine, haben einen stimulierenden Effekt auf die Knochenresorption. Im Gegensatz dazu führt die Exprimierung von antiinflammatorischen Zytokinen und anderen Mediatoren wie IL-4, -10, -12, -13 und -18, aber auch Interferon- β (IFN- β) und - γ (IFN- γ) zur Hemmung der Knochenresorption [122, 123].

Die verschiedenen inflammatorischen Mediatoren stimulieren die parodontalen Osteoblasten und verändern so den Grad der Ausschüttung von RANKL (*Receptor Activator of Nuclear Factor kappa B Ligand*) an der Oberfläche der Osteoblasten [122-124]. RANKL wird von Osteoblasten als membrangebundenes Protein exprimiert oder durch Spaltung in eine lösliche Form überführt [122, 125, 126]. Neben Osteoblasten wird RANKL auch durch eine Vielzahl weiterer Zellen produziert, einschließlich Fibroblasten, T- und B-Lymphozyten. RANKL wird in kleinen Mengen auch von Fibroblasten exprimiert. Diese Expression wird aber mehr durch eine Antwort auf das *cytolethal distending toxin* des *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* angeregt [122, 123].

Die Aktivierung des RANK-Rezeptors (RANK) an den Oberflächen von Präosteoklasten, durch die Bindung mit RANKL, induziert dessen Fusion und die Differenzierung in reife Osteoklasten und so auch die Initiierung der

Knochenresorption [127, 128]. Das lösliche Osteoprotegerin (OPG) ist ein natürlicher Inhibitor von RANKL, indem es durch die Bindung an diesem die Interaktion mit RANK unterbindet und somit alle folgenden molekularen Ereignisse, die zur Knochenresorption führen [128].

Die verstärkte Synthese von RANKL bei der Parodontitis unter Vermittlung durch proinflammatorische Zytokine resultiert in einer Verschiebung des Gleichgewichts zwischen RANKL/OPG und damit in Richtung einer verstärkten Knochenresorption.

2.3 Risikofaktoren der Parodontalerkrankungen

Bei der Parodontitis handelt es sich um eine multifaktorielle Erkrankung, bei der die bakterielle Plaque den ätiologischen Hauptfaktor darstellt [129-131]. Die Manifestation und Progression einer Parodontitis wird allerdings von einer Vielzahl von Faktoren moduliert. Bei diesen sogenannten Risikofaktoren handelt es sich sowohl um orale Faktoren, als auch um Verhaltensfaktoren, soziodemografische Faktoren und systemische Faktoren.

2.3.1 Orale Faktoren

Verschiedene lokale anatomische Bedingungen konnten mit der Manifestation einer Parodontitis in Verbindung gebracht werden. Schmelzparaplasien, wie Schmelzprojektionen oder Perlen, wurden insbesondere mit einem Furkationsbefall an Molaren assoziiert. Die Hypothese ist, dass der Schmelz an diesen Stellen die Befestigung von Bindegewebe verhindert und so leichter zu einem parodontalem „Gewebe-breakdown“ führt [130, 132-137]. Wurzelanomalien, wie Furchen an Oberkiefer-Schneidezähnen und -Prämolaren führen zu Attachment- und Knochenverlust, indem sie die Plaqueretention fördern [130, 138, 139].

Bestimmte Zahnstellungen, wie Fehlstellung, Engstand und Migration oder Neigung von Zähnen in benachbarte, nicht bezahnte Areale, können ebenfalls zu einem Verlust an parodontalem Gewebe führen [130, 140-144]. Auch Okklusionsdiskrepanzen können tiefere parodontale Taschen verursachen [145].

Offene Approximalkontakte werden mit erhöhten Taschensondierungstiefen und Attachmentverlust in Zusammenhang gebracht [130, 146]. Aber auch insuffiziente Zahnrestaurationen oder subgingivale Restaurationen [130, 147-150] sowie feste

kieferorthopädische Apparaturen [130, 151] werden mit einem erhöhten Risiko für marginale Entzündungen und Rezessionen assoziiert.

2.3.2 Verhaltensfaktoren

Dass Rauchen nachteilig für die parodontale Gesundheit ist, wurde schon in einer Studie von *Pidborg* 1947 nachgewiesen, in der eine starke Assoziation zwischen nekrotisierender ulzerativer Gingivitis und dem Rauchen gezeigt werden konnte [152, 153]. Bei einem Vergleich der Alveolenhöhe von Rauchern und Nichtrauchern konnte eine signifikante Reduzierung der Knochenhöhe bei Rauchern nachgewiesen werden [130, 154]. Das Risiko, bei einem Raucher eine Parodontitis anzutreffen, entspricht etwa mit einer fünffachen höheren Wahrscheinlichkeit als bei einem Nichtraucher [13, 155]. Eine weitere Studie konnte aufzeigen, dass chronischer Nikotinkonsum die Wahrscheinlichkeit eines Zahnverlustes in einem parodontalgeschädigten Gebiss erhöht [130, 156]. Die Beziehung zwischen Nikotinkonsum und Zahnverlust als Folge einer Parodontitis, scheint dabei dosisabhängig zu sein. Starke Raucher weisen, im Gegensatz zu leichten Rauchern und Nichtrauchern, ein höheres Risiko für Zahnverlust auf [130, 157]. Ähnliche Ergebnisse zeigten auch die Studien von *Grossi* und Kollegen, wonach das Ausmaß der parodontalen Zerstörung (sog. mittlerer Attachmentverlust) mit der Gesamtdosis des Nikotinkonsums korreliert [153, 158]. Ein weiterer Beweis, dass Rauchen eine bedeutende Rolle bei der Manifestation von Parodontalerkrankungen spielt, zeigten Studien an ehemaligen Rauchern, bei denen die Prävalenz und der Schweregrad einer Parodontitis im Vergleich mit Rauchern niedriger lagen [153, 159].

Die biologischen Effekte von Nikotin am parodontalen Gewebe sowie auf das Immunsystem selbst, wurden ebenfalls in der Literatur beschrieben. So führt Nikotin zu einer lokalen Vasokonstriktion der peripheren Blutgefäße und kann so die klinischen Zeichen einer Gingivitis unterdrücken [153, 160]. *Kinane* und *Radvar* zeigten in Ihrer Studie, dass bei Rauchern das Volumen der Sulkusflüssigkeit signifikant reduziert ist [153, 161], was zu einer Reduzierung der Antikörper und weiterer immunkompetenter Zellen führt. Ferner wird Nikotin und seine Metaboliten von der Oberfläche der Wurzel [74, 162], sowie von Keratinozyten [74, 163] und Fibroblasten absorbiert [74, 164]. Keratinozyten produzieren in Anwesenheit von Nikotin mehr Interleukin-1 α , ein wichtiges Zytokin für die Regulierung der

Entzündung, und Prostaglandin E₂ [74, 163]. Die Exposition der Fibroblasten gegenüber Nikotin kann dessen Kollagenproduktion sowie deren Anhaftung an die Wurzeloberfläche beeinträchtigen [74, 165].

Rauchen behindert weiterhin verschiedene Aspekte der Wirtsantwort [153, 166], speziell wird die Chemotaxis und Phagozytose neutrophiler Granulozyten gestört [74, 167-171]. Auch eine verringerte Antikörperproduktion (IgG₂) [74, 172, 173] und eine reduzierte Anzahl an T-Helferzellen konnten bei Rauchern nachgewiesen werden [74]. Die klinische Konsequenz dieser biologischen Effekte ist, dass die Wundheilung beeinträchtigt wird und somit ungünstige Therapieergebnisse zu erwarten waren [153, 174, 175]. Diese Beobachtung spiegelt sich auch in einen hohen Anteil an refraktärer Parodontitis bei Rauchern wider [153].

Psychosozialer Stress wird auch als Risikofaktor für eine Parodontitis postuliert. Verschiedene Studien zeigten, dass soziale Überanstrengung [130, 176], finanzielle Schwierigkeiten [130, 177], belastende Ereignisse im Leben, z.B. Arbeitslosigkeit, mit der Manifestation einer Parodontitis in Zusammenhang gebracht werden können [130, 178]. Auch Ernährungsdefizite in Entwicklungsländer wurden als Risikofaktoren einer vorangeschrittenen Parodontitis nachgewiesen [130, 179], was von anderen Studien jedoch nicht bestätigt werden konnte [130, 180-182].

2.3.3 Soziodemografische Faktoren

Das Alter ist allgemein assoziiert mit Parodontalerkrankungen, eher im Sinne eines kumulativen parodontalen Gewebeabbaus, der sich über die Zeit entwickelt [130, 183]. Epiidiomologische Studien konnten zeigen, dass Parodontalerkrankungen, verbunden sowohl mit Attachmentverlust als auch mit Knochenverlust, bei älteren Menschen häufiger auftraten [130, 158, 184, 185]. Veränderungen im Parodont über die Zeit konnten nachgewiesen werden, die allein nicht zu einem parodontalen Gewebeverlust führen konnten [130, 186, 187].

Das Geschlecht wurde gleichfalls als Risikofaktor diskutiert: Männer scheinen signifikant mehr Attachment- und Knochenverlust aufzuweisen als Frauen [130, 158, 184]. Studien, die sich mit postmenopausalen Frauen und deren Östrogenlevel beschäftigen, zeigten, dass Frauen die in der postmenopausalen Phase Östrogenhormone einnahmen, signifikant weniger gingivale Blutungen aufwiesen [130, 188, 189].

2.3.4 Systemische Faktoren

Einer der stärksten und direkt mit einer Parodontitis assoziierten systemischen Risikofaktoren ist der Diabetes mellitus [130, 190, 191]. Unabhängig vom individuellen Typ scheinen Diabetiker das gleiche Risiko zu besitzen, an einer Parodontitis zu erkranken [130]. Der Schweregrad und die Ausbreitung der Parodontitis bei einem Diabetiker hängt von der Qualität der Stoffwechselkontrolle ab [130, 192]. Ein schlecht eingestellter Diabetes mellitus wird mit signifikant höherem Knochenverlust in Zusammenhang gebracht [130, 183]. Eine effektive Parodontitisbehandlung kann aber auch einen positiven Effekt bei der Regulation des Diabetes mellitus haben [130, 193]. Somit scheint es zwischen Diabetes mellitus und Parodontalerkrankungen eine bidirektionale Beziehung zu geben [130, 194].

Bei den für das humane Immunschwächevirus (HIV) seropositiven Patienten, bei denen sich bereits AIDS (Acquired Immunodeficiency Syndrome) manifestiert hat, wurde häufiger die nekrotisierende ulzerierende Gingivitis (NUG) sowie die nekrotisierende unzerierende Parodontitis (NUP) beobachtet [131, 195]. Das Auftreten der NUP, eine akute, sehr schmerzhaft und schnell progressive Form der Parodontitis, konnte mit dem Grad der Immunsuppression assoziiert werden, welches mit einem Absinken der CD4-Lymphozytenzahlen unter 200 Zellen/mm³ einherging. Diese Abfallen der CD4-Lymphozyten ist ein Anzeichen für die Veränderung der zellvermittelten Immunabwehr, welche die Anfälligkeit für parodontale Infektionen erhöhen konnte [131, 196-199]. HIV-assoziierte Parodontitiden sollten eher als eine separate Manifestation einer Systemerkrankung angesehen werden und nicht als ein wichtiger Modulator einer Parodontitis [131].

Auch die Adipositas wurde in einigen Studien mit einer Parodontitis assoziiert, da metabolische Veränderungen, welche bei einer Fettleibigkeit auftreten, die Immunantwort verändern können. Drei metabolische Veränderungen sind bei Adipositas festzustellen: Erstens eine erhöhte Produktion von Insulin, um die Insulinresistenz der Gewebezellen (Adipozyten, Muskelzellen, Leberzellen) zu kompensieren. Zweitens die Erhöhung des Glukoseniveaus im Blut und drittens die Steigerung der Lipid-Konzentration (Cholesterol und Triglyceride), durch die Steigerung der in der Leber produzierten Lipide und der Lipolyse in den Adipozyten. Grund dieser Veränderungen ist die erhöhte Produktion von TNF- α , das von Adipozyten sezerniert wird [200]. Verschiedene Studien vermuten, dass die Insulinresistenz eine Verlinkung zwischen Adipositas und Parodontitis, durch die

vermehrte Produktion von TNF- α in beiden Krankheiten, darstellt [200-202]. Dennoch könnte TNF- α , das von Adipozyten hergestellt wird, zu einer Exazerbation einer chronischen Parodontitis führen. TNF- α , welches bei einer chronischen Parodontitis ausgeschüttet wird, hilft beim Fortbestehen der Insulinresistenz die in der Fettleibigkeit beobachtet werden kann [200]. Die erhöhten Lipid- und Glukosewerte, welche bei Adipositas anzutreffen sind, führen zu einer unkontrollierten Immunantwort des Wirtes, sowohl durch eine Veränderung der Funktion der Neutrophilen, als auch durch Inhibition der Makrophagen und können so die Entwicklung einer Parodontalerkrankung fördern und die Gewebsheilung verhindern [200].

2.4 Genetische Aspekte von Parodontalerkrankungen

Die Parodontitis und weitere chronisch entzündliche Erkrankungen (Morbus Crohn, Diabetes mellitus, kardiovaskuläre Erkrankungen) wurden als komplexe multifaktorielle Erkrankungen beschrieben [203]. Obwohl pathogene Bakterien und verschiedene Umweltfaktoren bei der Pathogenese der Parodontitis mitwirken, können diese nur einen Teil der Variabilität der Krankheit erklären. In einer klassischen Studie von *Löe et al.* [31] wurde bei Individuen mit schlechter Mundhygiene und fehlender Verfügbarkeit von zahnärztlicher Pflege eruiert, dass obwohl einige dieser Patienten eine rapide voranschreitende Parodontitis entwickelten, andere Patienten nur leicht oder gar nicht an Parodontitis erkrankten. Diese Variation konnte zum einem mit dem Einfluss nicht identifizierter Umweltfaktoren und zum anderem mit Unterschieden der Wirtsanfälligkeit gegenüber der Parodontitis erklärt werden. Die Wirtsanfälligkeit wird heute als genetische Variation definiert, was dazu führte, dass die Parodontologie sich intensiv mit der Charakterisierung des genetischen Risikos beschäftigte sowie mit der Identifizierung von Genvarianten, die die Höhe der Suszeptibilität für Parodontalerkrankungen determinieren könnten [204].

Die Evidenz der genetischen Komponente bei chronischer Parodontitis wurde zunächst in Zwillings- und Familienstudien nachgewiesen. Zwillingsstudien gelten als die vermutlich wirksamste Methode, um genetische Aspekte verschiedener Krankheiten zu entdecken [203]. Monozygote Zwillinge sind genetisch identisch, wobei dizygoten Zwillinge nur 50% ihres genetischen Erbguts teilen [204]. *Michalowicz*

et al. zeigte in einer Studie bei 110 Zwillingen, dass zwischen 38% und 82% der Populationsabweichung der getesteten parodontalen Konditionen auf genetische Faktoren zurückzuführen waren [5, 203]. Eine weitere Studie der gleichen Gruppe an 117 Zwillingen postulierte eine ca. 50% Heritabilität der chronischen Parodontitis, unbeeinflusst von Verhaltensfaktoren wie z.B. Rauchen [7, 203]. Weitere Zwillings- und Familienstudien konnten feststellen, dass die familiäre Häufung einer Parodontitis nicht nur bakteriell bedingt war oder vom Umwelt- oder Verhaltenswesen abhing, sondern die Genetik ebenfalls eine wichtige Rolle spielte [203].

2.4.1 Genetische Varianten und ihre Rolle bei der Krankheitsentwicklung

Schätzungsweise 25.000-50.000 verschiedener Gene sind im menschlichen Genom vorhanden [205, 206]. Gene können dabei in verschiedenen Formen vorkommen sog. *allelische Varianten* bzw. *Allele*. Wenn ein spezifisches Allel über 1% in der Population anzutreffen ist, spricht man von einem *genetischen Polymorphismus* [206]. Häufige allelische Varianten (bis zu 90% der DNA) stellen Veränderung einer einzelnen Base in der Nukleotidensequenz dar, die als *Einzelnukleotidpolymorphismen* oder *SNPs* bezeichnet werden [207-209]. Wird die Base durch eine andere ausgetauscht, so handelt es sich um eine *Transition* (Pyrimidin-Pyrimidin, Purin-Purin) bzw. eine *Transversion* (Pyrimidin-Purin). Es kann sich dabei auch um eine *Insertion* (Einfügen einer Base) oder eine *Deletion* (Entfernung einer Base) in der Nukleotidensequenz handeln [210]. Eine Insertion bzw. Deletion kann sich auf eine einzelne Base beschränken, auf mehrere Basen, ein oder mehrere Exonen oder sich sogar auf ein ganzes Gen ausweiten [209].

Eine zweite Kategorie genetischer Polymorphismen stellen die *Mikro- bzw. Minisatellitenpolymorphismen* dar, die auch als *variable number of tandem repeats / short tandem repeats* bezeichnet werden. Hierbei handelt es sich in der Regel um nicht kodierte DNA-Abschnitte, die sich aus einer kurzen, sich mehrfach wiederholende Nukleotidensequenz zusammensetzen [211, 212]. In Abhängigkeit von der Größe spricht man von Mikrosatelliten (<5 Nukleotiden) und Minisatelliten (>5 Nukleotiden) [213].

Eine genetische Variation entsteht auch durch das Fehlen bzw. das Vorkommen von größeren Abschnitten der DNA von mindestens 1000 Basenpaaren im Vergleich zu einem Referenzgenom, sog. *Kopienzahlvariationen* bzw. *copy number variants* [214,

215]. Die Kopienzahlvariationen können sich von einigen Kilobasen bis hin zu mehreren hundert Kilobasen, bei phänotypisch normalen Individuen, erstrecken [216].

Die lineare Sequenz der Nukleotide an einem Einzelstrang ist für die Aminosäurencodierung, in Form einer Triplet-Codierung, zuständig. Eine Veränderung in der Reihenfolge der Nukleinsäuren kann verschiedene Auswirkungen nach sich ziehen. Einige dieser Triplets können aufgrund ihres redundanten Charakters noch immer für die gleiche Aminosäure und somit für das gleiche Protein kodieren. Solche allelischen Varianten wurden in der Literatur als sog. *stumme* Veränderungen beschrieben [206]. Führt eine allelische Variante zur Komposition einer anderen Aminosäure, kann es zur Produktion verschiedener *Isoformen* eines Proteins kommen. Die funktionellen Konsequenzen dieser Isoformen können von einer nicht wahrnehmbaren Veränderung in der Funktion des Proteins, bis hin zu dramatischen Veränderungen oder sogar zum vollständigen Funktionsverlust führen. Ist eine allelische Variation sehr selten (<0,1% der Population), wird diese als sog. *Mutation* bezeichnet [217]. Mutationen sind häufig die Hauptursache monogenetisch vererbter Konditionen. Es handelt sich hierbei um Krankheiten, die ein einfaches familiäres Vererbungsmuster aufweisen (autosomal-dominant, autosomal-rezessiv oder gonosomal) und in den meisten Fällen auf einen einzigen Genlocus zurückzuführen sind. Der Krankheitsphänotyp tritt unter einer großen Varietät von Umweltfaktoren auf und obwohl dieser durch Umweltfaktoren und andere Gene beeinflussbar ist, manifestiert er sich meistens auf ähnliche Weise [206].

Im Gegensatz zu Erkrankungen mit mendelscher Vererbung sind komplexe genetische Erkrankungen, unter anderem auch Parodontalerkrankungen aus epidemiologischer Sicht, prävalenter. Komplexe genetische Erkrankungen haben kein einfaches Vererbungsmuster [206], sondern resultieren vielmehr aus der Interaktion multipler Genloci [203, 218]. Die genetischen Polymorphismen, die für derartig komplexe Krankheiten zuständig sind, sind gewöhnliche und geläufige Varianten in der Population und können gleichzeitig bei Betroffenen und nicht Betroffenen vorhanden sein [206]. Einige dieser krankheitsassoziierten Allele wurden bis zu 50% in gesunden Individuen geschätzt [206, 219]. Entscheidend ist zu verstehen, dass die Anwesenheit eines krankheitsassoziierten Allels in einem Individuum meistens nicht mit der Diagnose der Krankheit übereinstimmt.

Polymorphismen tragen, im Gegensatz zu monogenetischen Eigenschaften, jeweils nur einen geringen Beitrag zur Krankheitsprogression bei. Eine Mitwirkung von mehreren Allel-Genen scheint nötig, um einen Krankheitsphänotyp entwickeln zu können [206]. Auch Umweltfaktoren scheinen eine wichtige Rolle in der Ätiologie der meisten chronischen Krankheiten zu spielen, die oft im Erwachsenen-Stadium eintreten und somit eine lange Periode der Entstehung durchwandern. In der komplexen Erkrankungsätiologie erweist sich die Rolle der einzelnen beeinflussenden Komponenten als schwer quantifizierbar. Die klinische Signifikanz eines mit der Krankheit assoziierten, genetischen Polymorphismus kann somit häufig nicht ganz geklärt werden [206].

2.4.2 SNPs in der Pathogenese von Parodontalerkrankungen

Die meisten genetischen Studien über Parodontalerkrankungen fokussieren sich auf Genpolymorphismen, die eine funktionelle Rolle im Immunsystem, den Gewebe-Destruktions-Prozessen oder bei metabolischen Mechanismen spielen [203].

Interleukin-1 ist ein potentes proinflammatorisches Zytokin, welches größtenteils von Monozyten, Makrophagen und dendritischen Zellen ausgeschüttet wird [203]. In Studien konnte gezeigt werden, dass IL-1 α -, IL-1 β - und IL-1/IL-Rezeptor-Antagonisten-Spiegel (RA, antiinflammatorisches Zytokin) wesentlich im erkrankten parodontalen Gewebe und in der Sulkusflüssigkeit erhöht war [203, 220, 221]. Die Gene für die Kodierung der Proteine IL-1 α , IL-1 β und IL-1RA befinden sich in der Nähe des IL1-Genkluster am Chromosom 2q13-q21 [203]. *Kornman et al.* haben beobachtet, dass ein kombinierter IL-1 Genotyp, welcher aus mindestens einer Kopie der selteneren T-Allele für die beiden Polymorphismen IL-1 α -889 und IL-1 β +3954, mit einer schweren Parodontitis bei europäischen Erwachsenen assoziiert war [213, 222]. Genotyppositive Nichtraucher wiesen ein 6,8x höheres Risiko auf, an einer schweren Form der Parodontitis zu erkranken [222]. Es folgten weitere Studien mit ähnlichen Resultaten, wobei *Gore et al.* noch ein Kopplungsungleichgewicht der zwei Polymorphismen aufzeigen konnten [157, 206, 223-225]. Zum Einfluss der IL-1-Polymorphismen auf die Pathogenese der chronischen Parodontitis gab es aber auch viele widersprüchliche Ergebnisse: *Meisel et al.* konnten eine starke positive Assoziation des kombinierten Genotyps bei Rauchern nachweisen, was im Widerspruch zu den Beobachtungen von *Kornman et al.* stand [206, 226]. Der

kombinierte IL-1 Genotyp schien bei den europäischen Populationen bis zu 30% prävalent zu sein und in asiatischen Populationen nur vereinzelt verteilt. Weitere Studien aber konnten keine Assoziation des kombinierten Genotyps und der chronischen Parodontitis bei kaukasischen Populationen nachweisen [227-230]. Somit hat der IL-1 Genotyp vorerst keine ausreichende Validität als diagnostischer Test [181, 204, 222, 231].

Ein weiteres wichtiges Zytokin, sowohl in der immunologischen Antwort als auch in der Entzündungsreaktion des Wirtes, ist der Tumornekrosenfaktor- α . Der TNF- α reguliert die Wirtsabwehr und spielt auch eine entscheidende Rolle bei der Knochenresorption [206, 232]. Polymorphismen in der Promoterregion des TNF- α Gens an den Positionen -238 und -308 wurden beschrieben [209, 233]. Der -308-A Allelpolymorphismus wurde mit einer erhöhten Promoteraktivität in Verbindung gebracht, was wiederum in einer erhöhten TNF- α Produktion resultiert [209, 233, 234]. Dennoch konnte bislang keine eindeutige Assoziation zwischen den TNF- α Polymorphismen und der Parodontitis gezeigt werden [209, 235, 236].

Auch weitere Zytokine wie z.B. das IL-10 wurden untersucht. IL-10 reguliert die immunologische Antwort der Monozyten und Makrophagen und gleichzeitig weitere Zytokine, wie das IL-1 und das TNF- α [203]. Das IL-10 -592 R-Allel wurde in einer Studie mit einer erhöhten Suszeptibilität für die chronische Parodontitis assoziiert. Diese Beobachtung konnte in mehreren Studien bestätigt werden [203, 237-239].

Die Forschung der genetischen Polymorphismen zeigte jedoch häufig widersprüchliche Resultate und konnte in vielen Fällen keine reproduzierbaren Ergebnisse hervorheben. Dies lässt sich unter anderem dadurch erklären, dass Parodontalerkrankungen als multifaktorielle und polygenetische komplexe Krankheiten angesehen werden müssen, in welchen ein einzelner Polymorphismus nur einen kleinen Effekt zum Gesamtrisiko beisteuert. Zudem bleiben Interaktionen von Genen und ihrer Polymorphismen miteinander (sog. Gen-Gen Interaktion oder Epistase) sowie Umweltfaktoren (sog. Epigenetik) unberücksichtigt, welche den betrachteten Phänotypen beeinflussen können [203]. Auch der Stichprobenumfang vieler Studien ist in vielen Fällen zu klein und führt zu Problemen in der Interpretation der Ergebnisse. Um einen existierenden Effekt einer Variable zu entdecken, muss der Stichprobenumfang entsprechend der festgelegten Wahrscheinlichkeit (statistische Power) sowie des Signifikanzniveaus und der Größe des zu nachweisenden Effektes, festgelegt werden [240].

2.4.3 SNPs als Suszeptibilitätsgene für mehr als eine Erkrankung

Rapide technische Entwicklungen vereinfachen inzwischen die Genotypisierung von Individuen und eröffnen dadurch die Möglichkeiten von genomweiten Assoziationsstudien (GWAs) [241, 242]. GWAs sind ein agnostischer Weg, das ganze menschliche Genom zu scannen und Gene oder genetische Loci, welche sehr kleine Effekte auf komplexe Krankheiten entfalten, zu identifizieren [242].

In jüngerer Zeit wurden, insbesondere zur Aufklärung des genetischen Hintergrunds von chronisch entzündlichen Erkrankungen, zahlreiche GWAs durchgeführt. Auf Grund der monotonen und universellen Abläufe entzündlicher bzw. immunologischer Reaktionen im menschlichen Organismus, zeigt die Ätiopathogenese vieler chronisch entzündlicher Erkrankungen häufig eine Überschneidung. Aus diesem Grund können die Ergebnisse von GWAs zur Aufklärung einer chronisch entzündlichen Erkrankung wie z.B. chronisch-entzündlicher Darmerkrankungen (Morbus Crohn, Colitis ulcerosa) teilweise auch Hinweise auf die Pathogenese anderer chronisch entzündlicher Entitäten wie z.B. der rheumatoiden Arthritis oder der chronischen Parodontitis geben. So konnten verschiedene Studien belegen, dass bei Menschen viele der Gene, die die monozytäre Zytokinreaktion regulieren, der HLA-DR-Region am Chromosom 5 im Bereich der TNF- β Gene zugeordnet sind [243-245]. Sowohl die chronische Parodontitis als auch die rheumatoide Arthritis sind mit diesem HLA-Komplex assoziiert [246, 247], was als gemeinsames genetisches Merkmal der chronischen Parodontalerkrankungen und der rheumatoiden Arthritis und weiterer systemischen Erkrankungen (darunter auch Morbus Crohn) interpretiert werden kann [245, 248].

In Tierversuchen konnte *Tataki et al.* bei transgenen HLA-B27-positiven Ratten zeigen, dass diese spontan eine Spondyloarthropathie sowie Morbus Crohn entwickeln konnten und ferner eine erhöhte Parodontitisanfälligkeit mit starken Knochenverlust aufwiesen [249].

Das Interleukin-23-Rezeptor-Gen (IL-23R) konnte als Suszeptibilitätsgen für Morbus Crohn [250] sowie Psoriasis [251] identifiziert werden. Ähnlich wie bei der chronischen Parodontitis, könnten bei diesen beiden Erkrankungsentitäten epitheliale Barrierestörungen pathogenetisch für die jeweiligen klinischen Entzündungssymptome auslösend sein. Eine Studie von *Glas et al.* konnte das IL23R als Suszeptibilitätsgen für die chronische Parodontitis identifizieren [252] und

somit Hinweise auf eine Bedeutung des IL-23 bei der Pathogenese der chronischen Parodontitis liefern.

Nur wenige der bis heute durchgeführten genomweiten Assoziationsstudien befassen sich unmittelbar mit dem genetischen Hintergrund der chronischen Parodontitis. Eine dieser Studien konnte eine signifikante Assoziation der aggressiven Parodontitis mit einem Einzelnukleotidpolymorphismus (SNP) im Glukosetransferase-Gen *GLT6D1* nachweisen [213, 253]. Weitere GWAs fanden keine positive Assoziation von Genvarianten und den Parodontalerkrankungen [242, 254, 255]. Allerdings konnten *Teumer et al.* einen additiven Effekt der geläufigen SNPs von 23% auf die Gesamtvarianz des marginalen parodontalen Gewebeverlustes in zwei unabhängigen Populationen beobachten [242]. Vier Gene, die als mögliche Kandidatengene in den Studien von *Divaris et al.* von 2012 und 2013 identifiziert wurden, konnten in einer erst kürzlich publizierten GWA von *Rhodin et al.* als signifikante Loci bestätigt werden und zwei weitere Genloci wurden als neue Assoziationen hervorgehoben [254-256]. Die Gene *NIN*, *ABHD12B*, *WHAMM* *AP3B2* wurden mit der schweren Form der chronischen Parodontitis in Verbindung gebracht, das Gen *KCNK1* mit einer höheren Kolonisation des roten Komplexes und das Gen *DAB2IP* mit einer höheren Inzidenz von *Porphyromonas gingivalis* [256]. In dieser Studie wurde, basierend auf dem Wissen, dass eine mögliche Assoziation zwischen Suszeptibilitätsgenen gleichzeitig für andere Krankheiten und eine Parodontitis möglich ist, die Hypothese erstellt, dass positiv assoziierte SNPs für Morbus Crohn auch eine positive Assoziation mit Parodontalerkrankungen haben könnten.

Der Morbus Crohn und die parodontalen Erkrankungen weisen einige pathogenetische Ähnlichkeiten auf. In beiden Fällen handelt es sich um chronisch entzündliche Krankheiten, die einen schubweisen klinischen Verlauf zeigen [257].

Multiple systemische Faktoren, unter anderem genetische Faktoren, verschiedene Entzündungsmediatoren, bakterielle Infektionen, der Ernährungszustand und das Rauchen beeinflussen den Verlauf von entzündlichen Darmerkrankungen. Mehrere dieser Risikofaktoren sind auch mit Parodontalerkrankungen assoziiert [258-264]. Eine Studie von *Brandtzaeg* konnte einen Zusammenhang in der Immunpathologie beider Erkrankungen belegen [263]. So konnte in verschiedenen Studien bewiesen werden, dass eine lokale Produktion von IgG Antikörpern gegen Plaquekomponenten in entzündeter Gingiva [263, 265-267] auch gegen kommensale Darmbakterien bei chronisch entzündlichen Darmerkrankungen stattfand. Dies bekräftigt die Hypothese,

dass beide Krankheiten zugleich auch als Überempfindlichkeitsreaktion auf bakterielle Antigene interpretiert werden könnten [263, 268, 269]. Bei der Art der Immunzellen, die im entzündeten Darmgewebe und der Gingiva anzufinden sind, handelte es sich um B-Zellen und CD4+ T-Helferzellen, die eine Hyperaktivität aufwiesen und erhöhte Spiegel von IFN- γ produzierten [263, 269-271]. Beide Krankheitsbilder haben ein ähnliches Zytokinprofil mit einer verstärkten Produktion an TNF- α , IL-1, IL-6, IL-8 [261, 262, 264, 272]. Morbus Crohn wird heutzutage auch als „beeinträchtigte angeborene Abwehr des Wirtes“ gegen Darmbakterien beschrieben [273]. Dies trifft auch bei der chronischen Parodontitis zu. Die Darmbakterien bestehen dazu größtenteils aus anaeroben Bakterien ähnlich wie bei parodontalen Erkrankungen [274]. Morbus Crohn und die parodontalen Erkrankungen wurden weiterhin mit den gleichen genetischen Syndromen mit neutrophiler Dysfunktion, wie das Leukocyte-Adhesion-Deficiency-Syndrom (LAD), in Verbindung gebracht [275]. Viele der parodontalerkrankten Patienten können eine abnormale Funktion der Neutrophilen aufzeigen ohne Träger eines genetischen Syndroms mit neutrophiler Dysfunktion zu sein [275, 276]. Bestimmte Bakterien spielten eine Rolle in der neutrophilen Dysfunktion bei Parodontalerkrankungen [275, 277]. Diese Bakterien konnten das Gingivaepithel penetrieren und mit Leukotoxinen und weiteren Mechanismen die Neutrophilenfunktion beeinträchtigen. Die Gruppe dieser Bakterien beinhaltet unter anderem *Porphyromonas gingivalis*, *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Tannerella forsythia*, *Prevotella intermedia*, *Fusobacterium nucleatum*, *Wolinella sp.* und *Capnocytophaga sp.* [275, 278-282]. *Wolinella sp.* selbst wurden schon als der Hauptauslöser für Morbus Crohn diskutiert [275, 279] und könnte somit als gemeinsamer Risikofaktor für beide Krankheiten in Frage kommen. Bakterielle Produkte könnten die Neutrophilenfunktion stören und dadurch eine Parodontitis verursachen [275, 277]. Ein ähnlicher pathogenetischer Verlauf, wie hier beschrieben, könnte auch bei anderen chronisch entzündlichen Darmerkrankungen vorhanden sein [275].

Auf Grund der pathogenetischen Überschneidungen des Morbus Crohn und der chronischen Parodontitis wurde in dieser Studie der Einfluss von 8 möglichen Suszeptibilitätsgenen für Morbus Crohn, die sich auf dem Chromosom 1 befinden, auf die Pathogenese der chronischen Parodontitis untersucht.

2.4.4 Methoden der genetischen Analyse-Assoziationsstudien

In den letzten Jahrzehnten wurden Positionsklonierungsstudien und Kopplungsstudien für die Identifizierung Mendelscher Krankheitsgene genutzt. Diese genetischen Methoden zeigten sich aber weniger erfolgreich bei der Identifikation von Genen, die bei der Manifestation komplexer Krankheiten eine Rolle spielen. Das Scheitern lässt sich durch drei wichtige Eigenschaften komplexer Krankheiten erklären:

Erstens handelte es sich bei komplexen Krankheiten um Formen, die sowohl in der Ausprägung der Symptome als auch im durchschnittlichen Erkrankungsalter variierten. Dies erschwerte die Definition eines geeigneten Phänotyps, sowie die Wahl einer passenden Studienpopulation.

Zweitens variierten die ätiologischen Mechanismen, die mehrere biologische Wege involvieren könnten.

Zuletzt schien es, dass komplexe Krankheiten aus der Interaktion mehrerer Genen verursacht wurden, in denen jedes Gen einen kleinen Anteil des Ganzen ausmachte [218]. Somit handelte es sich eher um probabilistische und weniger um deterministische Gene [283].

Diese Eigenschaften haben Forscher zur Erprobung neuer Methoden der Identifizierung disponierender Genen angeregt. Assoziationsstudien nutzten einen Kandidaten-Gen Ansatz und streben die statistische Korrelation zwischen genetischen Varianten und der Krankheit an. Sie basierten auf einer a priori gestellten Hypothese über die Rolle der Genvarianten im Auftreten der Krankheit [218]. Hierbei konnte es sich um einen funktionellen Beitrag des Kandidaten-Gens handeln (sog. *functional candidate*), um eine erhöhte Expression des Genprodukts am Erkrankten (sog. *expressional candidate*) oder der assoziierte Polymorphismus befand sich in unmittelbarer Nähe zum Suszeptibilitätsgen (sog. *positional candidate*) [206, 213, 284]. Zwei Arten von Assoziationsanalysen werden allgemein genutzt: sog. populationsbasierte und sog. familienbasierte Ansätze [206, 285]. Im populationsbasierten Ansatz wird ein standardisiertes Fall-Kontroll-Design genutzt, bei dem Marker-Allel-Frequenzen zwischen den Erkrankten und den Kontrollfällen (nicht erkrankte Individuen oder durch Zufall gewählte Individuen aus der Population) verglichen werden. Wurde eine positive Assoziation entdeckt, so kann diese verschieden interpretiert werden. Entweder handelte es sich beim assoziierten Allel um das wirkliche Suszeptibilitätsallel oder das positiv assoziierte Allel befand sich im

Kopplungsungleichgewicht mit dem tatsächlichen krankheitsassoziierten Locus. Weiterhin könnte die Assoziation ein Resultat der Populationsstratifikation sein oder es handelte sich um ein statistisches- bzw. Stichprobenartefakt [206].

Obwohl direkte Assoziationsstudien sehr vielversprechend sind, wurde die mangelnde Replikation wichtiger Assoziationen in folgenden Replikationsstudien häufig stark kritisiert [218]. Weiterhin beruhten direkte Assoziationsstudien auf dem Prognostizieren krankheitsassoziiertes Gene, basierend auf biologischen Hypothesen der Position des Kandidaten oder basierend auf eine vornherein bestimmte Kopplungsregion. Auch wenn solche Hypothesen breit aufgestellt waren, konnten diese bestenfalls eine kleine Fraktion genetischer Risikofaktoren identifizieren, auch wenn die Pathophysiologie der Krankheit weitgehend bekannt und verständlich war. Wenn die fundamentalen physiologischen Wege einer Krankheit unbekannt sind, können direkte Assoziationen nur ungenügend die genetische Basis der Krankheit erklären [286].

Bei genomweiten Assoziationsstudien (GWAs) handelte es sich dem gegenüber um eine Vorgehensweise, bei der nahezu das ganze Genom auf kausal genetische Varianten untersucht wurde. Da keine Hypothesen bezüglich der genomischen Position dieser kausalen Varianten erhoben wurden, ließ diese Art von Studie die Stärken der direkten Assoziationsstudien nutzen, ohne die Identität des kausalen Gens vermuten zu müssen [286]. Menschliche GWAs basierten auf drei Hypothesen: Die Erste die *“Common Trait/Common Disease Variant Hypothesis”* schlug vor, dass die genetische Architektur komplexer Krankheitsmerkmale aus einer limitierten Anzahl geläufiger Allele bestand, indem jedes Allel einen kleinen Beitrag in der Erhöhung des individuellen Risikos spielte [240, 287, 288]. Die zweite Hypothese basierte auf dem Ansatz, dass die Geschichte der meisten menschlichen Populationen Meiosen ausschließt, um Rekombinationen zwischen naheliegenden geläufigen (sog. archaischen) Varianten zu erlauben. Die dritte Hypothese, beruhend auf der Suppression einer meiotischen Rekombination (sog. coldspots), war häufig anzutreffen. Diese Beobachtungen ließen darauf schließen, dass 80% des humanen Genoms rund um die Regionen von der Größe 10kb aufgebaut waren, was eine reduzierte Rekombinationsrate aufwies (sog. Haplotypen) [288, 289]. Genetische Varianten (sog. Allele) die sich in Haplotypen auffinden ließen, befanden sich im Kopplungsungleichgewicht (sog. linkage disequilibrium, LD) [288]. Dies bedeutete, dass Allelkombinationen zweier Loci auf einem Haplotypen in einer Population

häufiger vorkamen als bei unabhängiger Kombination der Allele entsprechend ihren Allelhäufigkeiten zu erwarten wäre [240]. Dieses Phänomen ermöglichte die Rekombinationsgeschichte einer Population größtenteils aufzuschlüsseln, in dem eine Vielzahl strategisch im Genom verteilter Genvarianten genotypisiert wurden [288], um mit einer Auswahl repräsentativer Einzelnukleotidpolymorphismen (sog. tag-SNPs) fast die gesamte Varianz des Genoms erfassen zu können [213, 290, 291].

3 Genvarianten auf dem humanen Chromosom 1 mit Einfluss auf chronisch-entzündliche Erkrankungen

3.1 rs11584383

Der Polymorphismus rs11584383 befindet sich auf dem langen Arm des Chromosoms 1 an der Position 1q32.1 am 3' Ende in unmittelbarer Nähe zweier Gene. Hierbei handelt es sich um das Pseudogen MROH3P (*maestro heat-like repeat family member 3*) und das Gen KIF21B (*kinesin family member 21B*). Beim Polymorphismus rs11584383 entspricht das T-Allel dem Wildtyp und das G-Allel dem mutierten Genotyp.

Das Pseudogen MROH3P ist mit langen nicht kodierenden RNA-Strängen (sog. lncRNAs) verbunden und der rs11584383 konnte in diesem Gen als ein Suszeptibilitätsgen für die Zöliakie [292], den Morbus Crohn, die Colitis ulcerosa [293] und die ankylosierende Spondylitis [294] identifiziert werden.

Kinesine sind ATP-abhängige, mikrotubulibasierte Motorproteine, die in den dendritischen intrazellulären Transport der Zellorganellen involviert sind. Kinesine werden auch von einer Reihe der Immunzellen exprimiert [295]. Der rs11584383 wurde als Suszeptibilitätsgen in zwei GWA-Studien von Morbus Crohn [296] und Colitis ulcerosa [297] identifiziert sowie für weitere Krankheiten, wie multiple Sklerose verantwortlich gemacht [295].

3.2 rs11465804

Der Polymorphismus rs11465804 befindet sich auf dem kurzen Arm des Chromosoms 1 an der Position 1p31.3. Hierbei handelt es sich um eine Intronregion bzw. eine nicht kodierende Region des Interleukin 23 Rezeptors (IL-23R). Beim Polymorphismus rs11465804 entspricht das T-Allel dem Wildtyp, das G-Allel dem mutierten Genotyp.

IL-23 ist ein Heterodimer, welches zur Familie des IL-12 gehört. IL-23 besteht aus einer p40–Untereinheit, die identisch mit der p40-Untereinheit von IL-12 ist und einer p19-Untereinheit, sehr ähnlich der p35-Untereinheit des IL-12 [298, 299]. IL-23 wird von dendritischen Zellen und Makrophagen innerhalb weniger Stunden nach Exposition gegenüber Lipopolysacchariden und anderen bakteriellen Produkten

produziert und bindet an einen Rezeptorkomplex, welcher aus dem IL-12R β 1 und dem IL-23-spezifischen Rezeptor (IL-23R) zusammengesetzt ist [300-303]. Das Protein, welches von dem IL23R-Gen kodiert wird, stellt eine Untereinheit des Rezeptors von IL-23A/IL-23 dar. Dieses Protein paart sich mit dem Rezeptormolekül IL12Rb1/IL12Rbeta1 und beide sind erforderlich für den IL-23A-Signalweg. Ferner ist dieses Protein essentiell mit der Janus Kinase 2 (JAK2) assoziiert und bindet am Transkriptionsaktivator STAT3 in einer ligandenbindenden Art.

IL-23 stimuliert die Expression von IL-17, welche die Synthese von Zytokinen (unter anderem von IL-1 β , IL-6 und TNF- α) begünstigt [300, 303-313]. Diese proinflammatorischen Zytokine rekrutieren zusammen Neutrophile auf die Seite der Infektion. Infolgedessen spielt IL-23 eine bedeutsame Rolle in der frühzeitigen Immunantwort des Wirtes und eine Dysregulation dieses Signalweges könnte eventuell die Entwicklung einer Parodontalerkrankung beeinflussen [314]. Eine Studie von Glas et al. konnte das IL23R als Suszeptibilitäts-gen für die chronische Parodontitis identifizieren [252] und somit weitere Hinweise auf eine Bedeutung des IL-23 in der Pathogenese der chronischen Parodontitis liefern.

Der Polymorphismus rs11465804 wurde als Suszeptibilitäts-gen für mehrere autoimmune und inflammatorische Erkrankungen identifiziert (Spondylitis ankylosans, rheumatoide Arthritis, Psoriasis) [315-317]. Drei weitere genomweite Assoziationsstudien beschrieben inzwischen den rs11465804 als Suszeptibilitäts-gen für Morbus Crohn und Colitis ulcerosa [318-320].

3.3 rs2274910

Der Polymorphismus rs2274910 befindet sich auf dem langen Arm des Chromosoms 1 an der Position 1q21.3. Es handelt sich hier um eine Intronregion bzw. eine nicht kodierende Region des proteinkodierenden Gens Intelektin 1 (ITLN1). Beim Polymorphismus rs2274910 entspricht das C-Allel dem Wildtyp, das T-Allel dem mutierten Genotyp.

ITLN1 ist ein Protein, welches von omentalen Fettzellen stark exprimiert wird, aber auch von Herz, Kolon und den Speicheldrüsen ausgeschüttet wird. ITLN1 bindet an Kohlenhydratketten (Galaktofuranoseresten), die nur bakterienspezifisch und dabei nicht in Säugetieren anzutreffen sind. Das Erkennen bakterieller Komponenten ist wichtig, um die zellulären Reaktionen und die Immunantwort zur Eliminierung der

Pathogene zu aktivieren. Somit scheint ITLN1 eine wichtige Rolle im angeborenen Abwehrmechanismus des Wirtes zu spielen [321-324].

Weiterhin steigert ITLN1 die Glukoseaufnahme in Adipozyten und die ITLN1-Gen-Expression verändert sich bei inflammatorischen Zuständen und der Adipositas [324-326]. Darüber hinaus konnte ITLN1 als Suszeptibilitäts-gen in einer genomweiten Assoziationsstudie sowie weiteren Studien für Morbus Crohn identifiziert werden [319, 327].

3.4 rs9286879

Der Polymorphismus rs9286879 befindet sich auf dem langen Arm des Chromosoms 1 an der Position 1q24. Der rs9286879 liegt zwischen zwei Genen, dem Tumor-Nekrose-Faktor-Superfamilien-Liganden Mitglied 6 (FASLG) und dem Tumor-Nekrose-Faktor-Liganden-Superfamilien Mitglied 18 (TNFSF18). Beim Polymorphismus rs9286879 entspricht das A-Allel dem Wildtyp, das G-Allel dem mutierten Genotyp.

Das Protein, welches aus dem Gen TNFSF18 kodiert wird, ist ein Zytokin der Tumor-Nekrose-Faktor Liganden Familie zugehörend. Dieses Zytokin ist ein Ligand, bekannt als GITR-L (*glucocorticoid-induced tumor necrosis factor-related receptor ligand*), für den Rezeptor TNFRSF18/AITR/GITR und reguliert die Antwort der T-Zellen. TNFSf18 kann als Ko-Stimulator für naive T-Zellen fungieren und den Schwellenwert zur Aktivierung und Proliferation der T-Zellen reduzieren. TNFSF18 vermittelt darüber hinaus bei der Aktivierung von NF-kappa-B und spielt zugleich eine wichtige Rolle in der Interaktion zwischen aktivierten T-Lymphozyten und Endothelzellen [307, 328].

Das Protein, welches aus dem Gen FASLG kodiert wird, ist ein Ligand für den Rezeptor TNFRSF6/FAS und gehört der Tumor-Nekrose-Faktor Familie an. Es handelt sich um ein Typ-II transmembranes Protein, welches nach dem Verbund mit dem Rezeptor die Apoptose in den Zellen veranlasst und somit eine bedeutende Rolle bei der Regulierung der Homöostase des Immunsystems spielt. Diese Art von induzierter Apoptose scheint eine Rolle in der Einleitung der peripheren Toleranz zu spielen bzw. in dem Antigen-stimulierten Suizid reifer T-Zellen. Gleichzeitig scheint es auch an der Entwicklung der T-Zellen beteiligt zu sein [329].

Der rs9286879 wurde in zwei genomweiten Assoziationstudien als Suszeptibilitätsgen für entzündliche Darmerkrankungen [330] bzw. Morbus Crohn [319] identifiziert.

3.5 rs3737240 und rs13294

Der rs3737240 und der rs13294 befinden sich auf dem langen Arm des Chromosoms 1 an der Position 1q21.2, jeweils auf der Exon 6- und Exon 8 -Region. Beide Polymorphismen liegen auf dem Gen des extrazellulären Proteins 1 (ECM1). Beim Polymorphismus rs3737240 entspricht das C-Allel dem Wildtyp, das T-Allel dem mutierten Genotyp. Beim Polymorphismus rs13294 entspricht das A-Allel dem Wildtyp und das G-Allel dem mutierten Genotyp.

Das ECM1-Gen kodiert ein Protein, welches als negativer Regulator der enchondralen Knochenformation agiert, indem es die alkalische Phosphatase-Aktivierung hemmt [301, 302, 309]. Ferner interagiert es mit einer Vielzahl extrazellulärer und struktureller Proteine und erlaubt somit die Erhaltung der Hautintegrität sowie der Homöostase [309]. Weiterhin wurde bewiesen, dass ECM1 in der Proliferation endothelialer Zellen involviert ist sowie die Angiogenese und Tumorbilogie anregt [309, 314].

Das ECM1 interagiert mit der MMP9 (sog. Matrixmetalloproteinase 9) und blockiert dessen proteolytische Aktivität. Dies ist eine wichtige Eigenschaft des Proteins, da MMPs eine erhöhte Expression in Parodontalerkrankungen aufwiesen und für die Destruktion des Weich- sowie Hartgewebes verantwortlich gemacht wurden [309, 331-337]. ECM1 steuert eine umfangreiche Aktivierung des NF- κ B-Signalwegs, welches als zentraler-Immunregulator gilt und in kolorektalen Karzinomen verstärkt exprimiert wird. Diese Eigenschaft macht das ECM1 zu einem plausiblen Gen-Kandidaten für die Colitis ulcerosa [309, 338].

Der rs3737240 und der rs13294 kodieren die Aminosäuresubstitutionen von T130M und S290G. Hierbei handelt es sich um eine nichtsynonyme Mutation bzw. den Tausch einer Aminosäure und somit um eine Veränderung des Proteinproduktes. Weitestgehend wurde spekuliert, dass es sich beim rs3737240 um ein pathogenetisch wirksamen SNP handeln könnte und dieser möglicherweise die Interaktion zwischen ECM1 und Typ IV Kollagen beeinflusst und somit zur einer exzessiven Kollagenproduktion führt [339].

Beide Polymorphismen wurden als Suszeptibilitätsgene der Colitis ulcerosa und des Morbus Crohn in einer genomweiten Assoziationsstudie von *Fisher* gefunden [338].

3.6 rs2476601

Der Polymorphismus rs2476601 (R620W) befindet sich auf dem kurzen Arm des Chromosoms 1 an der Position 1p13.2. Der rs2476601 liegt im Gen für die Protein-Tyrosin-Phosphatase, Nicht-Rezeptor Typ 22 (PTPN22). Beim Polymorphismus rs2476601 entspricht das G-Allel dem Wildtyp, das A-Allel dem mutierten Genotyp. Der rs2476601 führt zu einer nichtsynonymen Mutation (sog. missense Mutation) und somit zur Kodierung von Tryptophan statt Arginin.

Der T-Zell-Antigen-Rezeptor (TCR) Signalweg ist für die Aktivierung, Proliferation und Differenzierung der T-Zellen von Bedeutung [320]. PTPN22 ist eine Protein-Tyrosin-Phosphatase, die als negativer Regulator der T-Zell-Aktivierung angesehen wird. Dies wird durch die Dephosphorylierung von TCR- assoziierten Lck und der ZAP-70 Kinasen erreicht [340-342]. PTPN22 (R620W) ist ein Einzelnukleotidpolymorphismus der auf der mRNA-Ebene die Aminosäure Tryptophan kodiert, im Gegensatz zu dem Wildtyp der für Arginin kodiert [343]. Der R620W generiert somit eine stärker aktive Phosphatase, welche noch effektiver die T-Zell Aktivierung inhibiert [342, 344].

Der rs2476601 wurde mit verschiedenen Autoimmunerkrankungen assoziiert wie z.B. Diabetes mellitus Typ 1 [345], rheumatoider Arthritis [346] und Lupus erythematoses [320]. Genomweite Assoziationsstudien zeigten eine Verlinkung zwischen rs2476601 und rheumatoider Arthritis [347-349], Diabetes mellitus Typ 1 [350-353], Morbus Crohn [319, 354] und Myasthenia gravis [355].

Viele dieser Krankheiten, vor allem der Diabetes mellitus, sind mit Parodontalerkrankungen assoziiert. Zahlreiche Studien beschrieben außerdem eine mögliche Beziehung zwischen Parodontalerkrankungen und rheumatoider Arthritis [245, 342, 343, 356, 357]. Ältere Studien und Fall-Kontroll-Studien wiesen auf eine höhere Inzidenz von Parodontalerkrankungen bei Patienten mit rheumatoider Arthritis und umgekehrt hin [357]. Weitere Studien unterstützten die Auffassung, dass diese zwei Krankheiten, durch die gemeinsame zugrundeliegende Dysfunktion fundamentaler inflammatorischer Mechanismen, sich sehr ähnlich sind [342, 343, 357]. Es ist breit akzeptiert, dass eine Reihe gleicher Zytokine und

Matrixmetalloproteinasen in der Pathogenese beider Krankheiten involviert sind [342]. Sowohl für die rheumatoide Arthritis als auch für parodontale Erkrankungen kommt zudem genetische Faktoren sowie verschiedene Verhaltensfaktoren, wie z.B. das Rauchen, eine wichtige Rolle zu [358].

3.7 rs3024505

Der Polymorphismus rs3024505 befindet sich auf dem langen Arm des Chromosoms 1 an der Position 1q32.1. Es handelt sich hier um eine intergenetische Region in der Nähe des 3' UTR (untranslatierter Bereich) des Interleukin 10 Gens (IL10) [359]. Beim Polymorphismus rs3024505 entspricht das C-Allel dem Wildtyp, das T-Allel dem mutierten Genotyp.

IL-10 wird von Monozyten, Makrophagen und T-Zellen produziert und ist in der Regulation von proinflammatorischen Zytokinen beteiligt, sowie des IL-1 und TNF- α [360]. IL-10 gilt als ein antiinflammatorisches Zytokin, welches die proinflammatorische Immunantwort der Monozyten bzw. Makrophagen reduziert und die Produktion protektiver Antikörper stimuliert [360-362]. Gleichzeitig wird ihnen die Stimulation der Auto-Antikörper [360, 363, 364] zugeordnet, welche eine Rolle bei Parodontalerkrankungen [360, 365, 366] spielen könnte. Die Expression von IL-10 im parodontal geschädigten Gewebe ist mit schwächerem Krankheitsverlauf verbunden [239, 335, 367]. Tatsächlich kann IL-10 Matrixmetalloproteinasen und das RANK-System inhibieren [239, 335, 368], indem es die Produktion von TIMPs (sog. Gewebe Inhibitoren der MMPs) hochreguliert [239, 369, 370] und die Produktion von OPG, dem Rezeptor von RANKL, erhöht [239, 371, 372]. Funktionelle Probleme im IL-10 Gen könnten aufgrund von SNPs die Krankheitssuszeptibilität verändern [360]. So konnte gezeigt werden, dass der IL-10-592 SNP im IL-10-Gen-Promoter die Zytokinproduktion im Hinblick auf inflammatorische Stimuli verändern [239, 373-377] und so mit einer chronischen Parodontitis assoziiert werden kann [239, 335, 367, 378].

Der rs3024505 hat ein großes Potential, regulatorische Sequenzen zu beinhalten und somit die Expression von IL-10 zu regulieren. Ferner befindet sich der rs3024505 im vollständigen Kopplungsungleichgewicht mit anderen SNPs im IL-10 Gen [359, 379].

Der rs3024505 wurde in genomweiten Assoziationstudien als ein Suszeptibilitätsgen für Diabetes mellitus Typ 1 [350, 351], Morbus Crohn [330, 354] und Colitis ulcerosa identifiziert [330, 359, 380, 381]

4 Ziel der Studie

Ziel der vorliegenden Arbeit war, mögliche Assoziationen zwischen acht auf dem Chromosom 1 befindlichen Polymorphismen mit der Manifestation der chronischen Parodontitis zu untersuchen. Es handelte sich um Polymorphismen, die bereits als Suszeptibilitätsgene in genomweiten Assoziationstudien für Morbus Crohn sowie weitere chronisch entzündliche Erkrankungen identifiziert worden sind und im Hinblick auf eine teilweise pathogenetische Überschneidung beider Entitäten, attraktive SNPs für eine Assoziation mit Parodontalerkrankungen darstellten. Dazu wurde eine direkte Assoziationstudie mit einem klassischen Fall-Kontroll-Design angewandt. Die SNPs wurden des Weiteren auf ein Kopplungsungleichgewicht und auf Assoziationen von bestimmten Haplotypen mit einer chronischen Parodontitis untersucht.

5 Material und Methode

5.1 Studienpopulation

5.1.1 Gruppe mit chronischer Parodontitis

Diese Gruppe umfasste 352 Individuen, bei denen eine chronische Parodontitis diagnostiziert wurde (P-Proben) und sich in der Ludwig-Maximilians-Universität München, in der Abteilung für Zahnerhaltung und Parodontologie, in Behandlung befanden. Ausgeschlossen von der Studie wurden Personen mit systemischen Erkrankungen, wie Diabetes mellitus, HIV, Osteoporose sowie Personen mit erhöhtem Endokarditis-Risiko. Ebenfalls ausgeschlossen wurden Patienten mit regelmäßiger Medikamenteneinnahme, insbesondere Antihistaminika, Eisenpräparaten und Antiphlogistika sowie Schwangere. Alle Patienten wurden über den Ablauf und das Ziel der Studie aufgeklärt und willigten schriftlich in die Teilnahme ein.

Die Studie wurde von der Ethikkommission der Medizinischen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität genehmigt (290/01).

5.1.1.1 Klinische Untersuchung

Das Vorliegen einer generalisierten, chronischen Parodontitis wurde anhand einer kombinierten radiologischen und klinischen Befunderhebung diagnostiziert: An jedem Zahn wurde eine 6-Punkt-Taschensondierungstiefenmessung durchgeführt, wobei die Blutung auf Sondierung (BOP) notiert wurde. Die Lokalisation der Messpunkte wurde mesiobukkal, zentrobukkal, distobukkal, distooral, zentrooral und mesiooral festgelegt. Die Messung erfolgte parallel der Zahnachse, vom Gingivalsaum zum Sulkusboden, mithilfe einer Parodontalsonde PCP 10 (Hu-Friedy Europe, Leimen, Deutschland). Der Furkationsbefall wurde mit einer Naber Sonde Typ PQ2N (Hu-Friedy Europe, Leimen, Deutschland) in horizontaler Richtung vom Furkationseingang bis zum Defektboden gemessen. Die Einteilung erfolgte anhand der Klassifikation nach *Hamp et al. 1975* [382]:

Grad I: horizontaler Attachmentverlust bis 3 mm

Grad II: horizontaler Attachmentverlust über 3 mm, nicht durchgängig

Grad III: Furkation durchgängig sondierbar

Die Zahnlockerung wurde in drei verschiedene Grade unterteilt:

Grad I: Zahnkrone bis 1 mm auslenkbar

Grad II: Zahnkrone über 1 mm auslenkbar

Grad III: Beweglichkeit des Zahnes auf Wangen- und Zungendruck
und/oder in axialer Richtung

Zusätzlich wurde ein röntgenologischer Befund erhoben und zur Beurteilung des Knochenniveaus bei Patienten mit chronischer Parodontitis ein Orthopanthomogramm angefertigt. Dabei wurde die Distanz zwischen dem Limbus alveolaris und der Schmelz-Zement-Grenze zur Beurteilung des Knochenverlusts bestimmt. Werte von ≥ 1 mm zirkulär um den betroffenen Zahn wurden als parodontaler Attachmentverlust interpretiert.

Um in der Untersuchungsgruppe aufgenommen zu werden, mussten folgende Kriterien erfüllt sein: Mindestens 5 Zähne mussten eine Taschensondierungstiefe von ≥ 5 mm oder einen Furkationsbefall Grad II oder III aufweisen. Der Abstand des Limbus alveolaris zur Schmelz-Zement-Grenze sollte zirkulär mindestens 3 mm betragen.

5.1.2 Kontrollgruppe ohne Parodontitis

Die Kontrollgruppe umfasste 587 Personen kaukasischer Abstammung, die eine zufällige Auswahl aus der Münchner Bevölkerung darstellten (B-Proben). Um in die Kontrollgruppe aufgenommen zu werden, mussten folgende Kriterien gegeben sein: Die Personen der Kontrollgruppe sollten keinerlei Anzeichen einer Parodontitis aufweisen, sowie in den letzten fünf Jahren keine systematische Parodontaltherapie erhalten haben. Mindestens 22 Zähne sollten noch in situ sein und es durfte nicht an mehr als einer Stelle eine maximale Taschensondierungstiefe von ≥ 3 mm vorhanden sein. Weiterhin durften keine Anzeichen eines marginalen Knochenabbaus vorliegen. Auch in dieser Gruppe wurden nur Probanden aufgenommen, die keine systemischen oder medikamentenpflichtigen Erkrankungen aufwiesen.

Bei der Kontrollgruppe wurde, sofern kein aktuelles Orthopanthomogramm zur Verfügung stand, aus ethischen Gründen auf die Anfertigung eines Röntgenbildes verzichtet.

5.2 Blutentnahme

Allen Probanden wurden 9 ml venöses Blut aus dem Bereich der Armbeuge (Fossa cubitalis) entnommen. Die dazu verwendeten sterilen Röhrchen (Monovette®, Sarstedt, Nümbrecht) enthielten 1,6 mg Kalium-EDTA-Lösung pro ml Blut. Das entnommene Blut wurde gleichmäßig mit der Kalium-EDTA-Lösung vermischt. Nach Aufnahme der Patientendaten wurde, zur Gewährleistung der Anonymität, jeder Blutprobe eine Ziffer erteilt.

5.3 Aufbereitung der Blutproben

Die entnommenen Blutproben wurden innerhalb von 24 Stunden weiterverarbeitet. Dazu wurden zwei Methoden angewandt.

5.3.1 Methode 1

Methode 1: Die mit einer Nummer versehenen Monovetten wurden für 10 Minuten bei 2000 U/min zentrifugiert. Danach wurde das überstehende Plasma abpipettiert und bei -20°C für eine eventuelle spätere Verwendung eingelagert. Der Buffy-coat, der aus Leukozyten und Thrombozyten besteht, wurde entfernt und in ein 1,5ml Eppendorf-Gefäß umgefüllt.

5.3.2 Methode 2

Methode 2: Nach Zentrifugierung und Entfernung des Plasmas wurde der Buffy-coat mit dem darunterliegenden Erythrozytensediment in ein 15 ml Zentrifugenröhrchen überführt und mit 12 ml Erylysepuffer (155mM NH₄Cl, 400 mM NaCl, 1mM EDTA) aufgefüllt. Es folgte eine Inkubation von 10-30 Minuten bei Zimmertemperatur bzw. 37°C, bis sich eine vollständige Lösung der Erythrozyten ergab. Dies konnte durch die Klarheit der Lösung kontrolliert werden. Die Lösung wurde anschließend für 10 Minuten zentrifugiert, um eine Leukozytenablagerung zu erreichen. Nach Verwerfen des Überstandes wurde das Sediment in 3 ml Erylysepuffer resuspendiert und für weitere 5 Minuten mit 2000 U/min zentrifugiert. Nach erneutem Verwerfen des Überstandes wurde das Sediment in 1 ml Erylysepuffer resuspendiert und für 5 Minuten bei 5000 U/min abzentrifugiert. Der Überstand wurde entfernt und das erhaltene Leukozytensediment entweder bei -20°C gelagert oder sofort weiterverarbeitet.

5.4 DNA-Isolierung

5.4.1 DNA-Isolierung mit Hilfe des QIAamp Blood Midi Kit

200 µl Blut/Bufycoat wurden in ein 15 ml Zentrifugenröhrchen mit 200 µl Proteinkinase K (20mg/ml, Quiagen) überführt. Nach Zugabe von 2,4 ml Puffer AL (10 mM Tris/HCl PH 8, 400 mM NaCl, 10 mM EDTA) wurde die Lösung mindestens dreimal auf einem Vortex-Schüttler vermischt. Danach erfolgte eine zehnmünütige Inkubation in einem Wasserbad bei 56°C. Nach Zugabe von 200 µl absolutem Ethanol und erneutem Mischen mittels Vortex-Schüttlers wurden zunächst 3 ml der entstandenen Lösung auf die vorgesehene Säule übertragen und für drei Minuten bei 1850 U/min zentrifugiert. Dabei blieb die in der Lösung enthaltene DNA an der Silicat-Gel-Matrix der Säule haften. Das Filtrat wurde verworfen und der Rest der Lösung in gleicher Weise weiter aufbereitet. Anschließend erfolgten zwei Waschschrirte: im ersten Schritt wurden 2 ml Puffer AW1 auf die Säule aufgetragen, für 15 Minuten bei 5000 U/min zentrifugiert und das Filtrat verworfen. Im zweiten Schritt wurde der Vorgang mit 2ml AW2 Puffer wiederholt. Die Säule wurde anschließend, zur Eluation der DNA, in ein sauberes 15 ml Zentrifugenröhrchen gestellt und 300 µl Puffer AE wurden auf die Membran der Säule aufgetragen. Nach 5 minütiger Inkubationszeit erfolgte bei Raumtemperatur eine Zentrifugation über weitere 5 Minuten bei 5000 U/min. Die dadurch gewonnene DNA wurde bei -20°C aufbewahrt.

5.4.2 DNA-Isolierung nach der Aussalzmethode

Zur DNA-Extrahierung wurden die aus dem abgenommenen Blut isolierten Leukozyten benutzt. Die Zellen wurden in ein Zentrifugenröhrchen mit Spitzboden überführt und mit 5 ml Kernlysepuffer (10 mM NH₄Cl, 400 mM NaCl, 1 mM EDTA) aufgefüllt. Die Zellyse wurde durch Auf- und Abpipettieren, sowie durch Mixen auf dem Vortex-Schüttler, unterstützt. Zur Degradation der Membran- und Proteinanteile wurde zu der Lösung SDS (Natriumdodecylsulfat-Lösung 20%, Endkonzentration 1%) gegeben. Es erfolgte eine Inkubation über Nacht bei 37°C mit Zugabe von 150 µl Proteinkinase-K (Quiagen, Endkonzentration 0,2 mg/ml). In diesem Zeitraum wurde, zur Unterstützung DNA-Auflösung, die Probe wiederholt auf dem Vortex-Schüttler gemischt. Dadurch wurde die DNA geschert und die vorher zähe Lösung

dünnflüssig. Um die vollständige Lösung der DNA zu ermöglichen, war es zum Teil notwendig die Inkubationszeit zu verlängern oder die Konzentration an Kernlysepuffer zu erhöhen. Die Proben wurden anschließend mit 1/3 Volumen 5 M NaCl versetzt, gemischt und für mindestens 30 Minuten bei 4°C oder auf Eis inkubiert. Dies ermöglichte das Ausfallen von Zellbestandteilen wie Protein- und Membranfragmenten. Im Anschluss erfolgte eine 15-minütige Zentrifugation bei 3000 U/min, die zur Proteinsedimentierung führte. Der Überstand dieses Schrittes wurde in ein neues Gefäß überführt und erneut für 10 Minuten zentrifugiert. Der Überstand wurde dieses Mal mit 0,6 Vol. % Isopropanol (Merck) versetzt und vorsichtig gemischt. Die hiermit fadenförmig ausfallende DNA konnte mit einer verschlossenen Pasteurpipette aufgenommen und zweimal in 70%igem Ethanol (Merck) gereinigt werden. Die DNA wurde getrocknet und dann im sterilen, bidestillierten Wasser hydrolysiert. Um Lösungen ähnlicher Konzentration zu erhalten, variierte die Menge an zugesetztem Wasser zwischen 50 und 300 µl. Die Lagerung erfolgte bei -20°C [383].

5.5 Konzentrationsbestimmung der Nukleinsäuren

Die Messung der Konzentration der Nukleinsäuren wurde photometrisch bei einer Wellenlänge von 260 nm, welche dem Absorptionsmaximum von Nukleinsäuren entspricht, durchgeführt. Hierzu wurde ein Photometer Modell Gene Quant Pro RNA/DNA Calculator® (Amersham Pharmacia) verwendet. Die Ermittlung der Konzentration wurde mit Hilfe des Lambert-Beer'schen Gesetzes ermittelt:

$$c = E_{260 \text{ nm}} \times f / (e \times d)$$

c = Konzentration (ng/µl)

E_{260 nm} = gemessener Extinktionskoeffizient bei 260 nm

f = Verdünnungsfaktor

d = Schichtdicke (1 cm)

e = Extinktionskoeffizient:

ds DNA: 50⁻¹ µl/ng

RNA: 40⁻¹ µl/ng

Oligonukletide: 30⁻¹ µl/ng

Nach der Bestimmung der Konzentration erfolgte die Verdünnung der Proben zu einer Endkonzentration von 100ng/µl.

5.6 Genotypisierung mit MALDI TOF MS

Das MALDI TOF MS (*matrix assisted laser desorption/ionisation time of flight mass spectrometry*) System wurde zur Hochdurchsatzgenotypisierung der SNPs (single nucleotide polymorphisms) benutzt. Die erworbenen DNA-Proben (Kontrollgruppe sowie Parodontitisgruppe) wurden auf 96-well PCR-Platten (ABgene Thermo-Fast 96 PCR Platte Skirted; Kat.-Nr. AB-0800) pipettiert. Hierzu war eine DNA-Zielkonzentration von 50 ng/µl mit einem Zielvolumen von 100 µl nötig. Als Puffer zur Verdünnung der Stammlösungen wurde DNA Hydration Solution (Quiagen) oder TEE-Puffer verwendet. Die 96-well-Platten wurden nur mit 92 Proben bestückt. Die Positionen B03 und G11 sowie auch die Positionen D05 und E07 wurden als Negativkontrollen genutzt und blieben leer. Die Platten wurden sorgfältig mit Folie (ABgene Adhesive PCR-Film Kat.-Nr. AB-0558) verschlossen und bei 4 °C gelagert. Für jede Platte wurde ein Datenfile (Excel) angelegt in dem Informationen wie Projektname, Position auf der Platte, Probennummer, Volumen der Probe und DNA-Konzentration beschrieben wurden. Für die Negativ-Kontrollen wurde als Probennummer das Kürzel „NK“ benutzt. Der Datensatz wurde ausgedruckt und aufbewahrt.

Die Proben wurden nachfolgend im Helmholtz Zentrum München (Deutsches Forschungszentrum für Gesundheit und Umwelt) mit einem MALDI TOF MS System der Firma Sequenom (Hamburg, San Diego) genotypisiert. Zunächst erfolgte eine PCR auf Tetrad Multi Cycler-Blöcken der Firma MJ Research (Biozym Diagnostik GmbH, Hess. Oldendorf, D). Standardmäßig wurden 10% der PCR-Produkte auf 3%igen Agarosegelen überprüft. Die PCR-Produkte wurden danach einer SAP-Reaktion unterzogen. Das Enzym SAP (Shrimp Alkaline Phosphatase) inaktivierte die nicht in der PCR eingebauten Nukleotide. Das Enzym wurde automatisiert (Beckman Coulter GmbH (Krefeld, D)) pipettiert. Darauffolgend schloss sich eine Primer-Extensionsreaktion an. Hierzu setzte der spezifisch entwickelte Extensionsprimer unmittelbar vor dem zu untersuchenden SNP an. Mithilfe des Enzym Thermosequense wurden Didesoxynukleosidtriphosphate (ddNTPs) und Desoxynukleosidtriphosphate (dNTPs) an der allelspezifischen DNA gebunden. Die entstandenen DNA Fragmente verschiedener Länge (mindestens 300 Da) wurden

jeweils nach Wahl des Reaktionsmixes (ddNTPs oder dNTPs) um eine oder zwei Basen verlängert. Vor der TOF-Messung wurde noch ein Ionenaustauscherharz den Proben zugegeben (SpectroClean™, Sequenom, Hamburg, D), um störende Kationen zu entfernen. Die MALDI TOF Analyse wurde durchgeführt, in dem 1-2 nl der Reaktionsprodukte auf Siliziumchips mit Hilfe vom Spectro Point Nanoliter Pipetting Systems™ der Firma Sequenom (Hamburg) transferiert wurden. Die Siliziumchips beinhalteten 384 Matrixspots, beladen mit der organischen Säure 3-Hydroxypicolinsäure (3HPA). Die Aussetzung der Analyten in 3HPA führte zur Co-Kristallisation der Matrix und den dazugemischten Analyten. Dazu wurden noch Kalibranten aufgetragen, die aus einer Mischung von Oligonukleotiden bekannter Masse bestanden und zur Kalibrierung des Systems dienten. Bis zu zehn dieser Chips konnten in einen Probenträger aufgeladen und durch eine Vakuumschleuse in das Massenspektrometer eingeführt werden. Im Vakuum des MALDI wurden die Analyten durch Laserbeschuss ionisiert. Durch den Laserbeschuss verdampfte die Matrix explosionsartig und die zu untersuchenden Analytmoleküle wurden mitgerissen. Die Matrix sollte die Analytenmoleküle von der Laserenergie schützen, sowie eine Interaktion der Moleküle verhindern. Die entstandenen Ionen, welche in der Gasphase übergetreten waren (sog. Sublimation), wurden in einem elektrischen Feld beschleunigt und weiter ins Flugrohr (sog. feldfreie Driftstrecke) überführt, in dem sie abhängig vom Masse-/Ladungsverhältnis (m/z) aufgetrennt wurden. Ionen mit hohem m/z -Werten trafen im Gegensatz zu Ionen mit kleinen m/z -Werten langsamer am Detektor an. Der TOF-Analysator (*Time Of Flight-Analysator*) bestimmte die Zeit zwischen dem Start der Ionen in der Quelle bis zum Eintreffen im Detektor. Die unterschiedlich großen DNA-Fragmente hatten eine entsprechend unterschiedliche Flugzeit, die von einer Software aufgenommen und einem spezifischen Genotypen zugeordnet wurde (Abbildung 3). Die Genotypisierungsergebnisse wurden in einer Datenbank (Oracle) gespeichert und über automatische Routinen auf ihre Qualität geprüft (Negativkontrollen, Positivkontrollen, Übereinstimmung von doppelten Proben, Test auf Hardy-Weinberg-Gleichgewicht) [384-386].

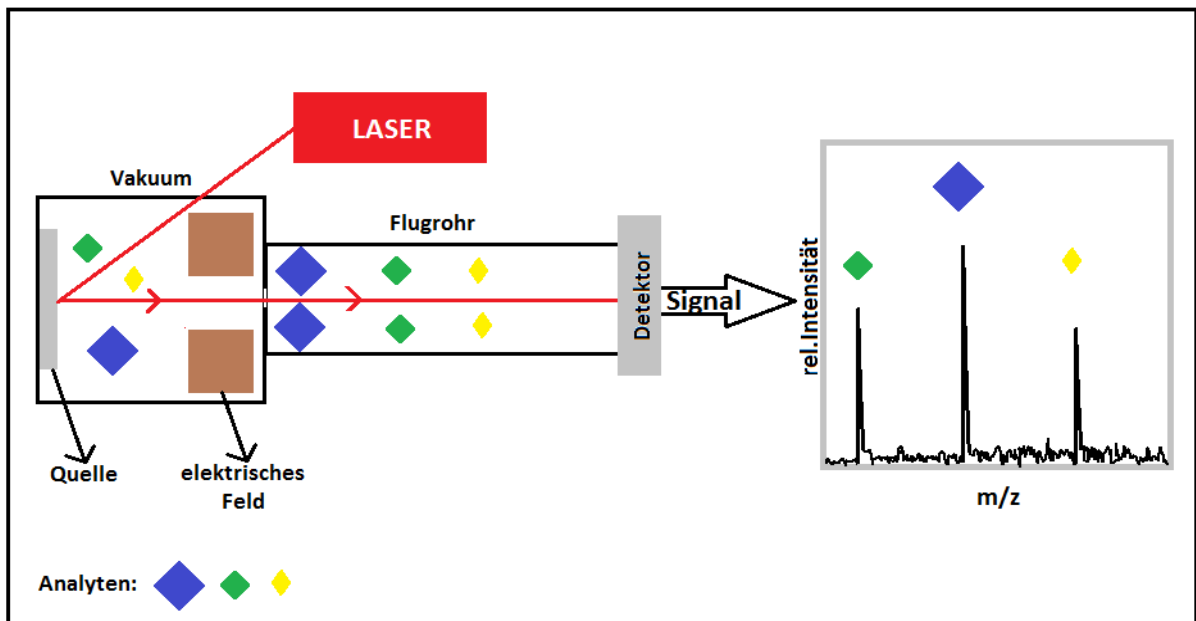


Abbildung 3: Schematische Darstellung eines MALDI TOF Massenspektrometers. Die Analyten (Quelle) werden durch Laserbeschuss ionisiert, in einem elektrischen Feld beschleunigt und ins Flugrohr überführt. Im Flugrohr werden die Analyten-Ionen abhängig von Masse-/Ladungsverhältniss (m/z) aufgetrennt. Ionen mit hohen m/z Werten treffen, im Gegensatz zu Ionen mit kleinen m/z Werten, langsamer am Detektor an. Der Detektor übermittelt dem Computer durch ein geeignetes Signal die Daten und so können die verschiedenen Genotypen zugeordnet werden.

6 Statistische Auswertung

6.1 Hardy Weinberg Gleichgewicht

Die Allel- und Genotypfrequenzen der Kontrollgruppe und der Patientengruppe wurden auf das Einhalten des Hardy-Weinberg-Gleichgewichts geprüft. Um herauszufinden, ob eine Population vom Hardy-Weinberg-Gleichgewicht (HWE) abwich, wurden die geschätzten und beobachteten Genotypfrequenzen miteinander verglichen. Die erwarteten Genotypfrequenzen wurden aus den beobachteten Frequenzen unter Anwendung der nachfolgend angegebenen Formel kalkuliert [240]:

$$P(AA)=p^2$$

$$P(Aa)=2pq$$

$$P(aa)=q^2$$

$$\text{Es gilt: } p^2 + 2pq + q^2 = 1$$

$P(AA)$: erwartete Häufigkeit für den Genotyp AA

$P(Aa)$: erwartete Häufigkeit für den Genotyp Aa

$P(aa)$: erwartete Häufigkeit für den Genotyp aa

p : beobachtete Häufigkeit für Allel A

q : beobachtete Häufigkeit für Allel a

Der p-Wert wurde als $p < 0,05$ bestimmt.

Die Bedingungen unter denen dieses Gleichgewicht in einer Population konstant gehalten werden konnte, waren folgende: Jedes Allel wurde mit einer Wahrscheinlichkeit von 50% an einen Nachkommen vererbt; es fand keine Selektion oder Mutation statt; es existierte eine Zufallspaarung und die Population war unendlich groß [240, 387].

6.2 Bestimmung der Genotypverteilung, der Allelfrequenzen und des Erbschaftsmodelles

Zum Vergleich der Genotypverteilung in den Fall-Kontrollgruppen wurde der Pearson-Chi-Quadrat-Test verwendet. Der Fisher's Exakt Test wurde zum Vergleich der Allelfrequenzen genutzt. Das Signifikanzniveau wurde für alle Tests auf 0,05

festgelegt ($p < 0,05$). Die Odds Ratio wurde mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von $\alpha = 5\%$ (Konfidenzintervall 95%) jeweils für die biallelischen SNPs berechnet. Zum Berechnen der statistischen Werte wurde das Programm SPSS 13.0 zu Hilfe genommen.

Zur Bestimmung des wahrscheinlichen Vererbungsmusters wurde das Modell des Akaike Informationskriterium (AIC) eingesetzt. 5 Vererbungsmodelle wurden verglichen (kodominant, dominant, rezessiv, überdominant und log-additiv) und das Modell mit dem kleinsten AIC als wahrscheinlichstes angenommen. Um einer Populationsstratifikation vorzubeugen, wurden die p-Werte für eine adjustierte Population nach möglichen Konfounder (Alter, Geschlecht und Raucherverhalten) angegeben. Für diese Analyse wurde das SNPStats Programm verwendet (http://bioinfo.iconcologia.net/en/SNPStats_web).

6.3 Multinominale logistische Regression

Der mögliche Einfluss von Kovariablen, wie Alter, Geschlecht und Rauchen, auf die Manifestation der chronischen Parodontitis, wurde mit Hilfe einer multivariablen Analyse berechnet. Dafür wurde die Differenz der 2 Log-Likehoods zwischen einem endgültigen Modell und einem reduziertem Modell kalkuliert. Das reduzierte Modell wurde berechnet, indem ein Parameter aus dem endgültigen Modell weggelassen wurde. Trotzdem war das reduzierte Modell dem endgültigen äquivalent, da das Weglassen dieses Parameters nicht die Freiheitsgrade erhöhte. Für die Berechnung wurde das Programm SPSS 13.0 verwendet.

6.4 Kopplungsungleichgewicht

Je dichter sich zwei Loci auf einem Chromosomenstrang befinden, umso geringer ist die Wahrscheinlichkeit einer Rekombination. Die Allelfolgen der zwei Loci werden dann als Block auf die nächste Generation vererbt, was bedeutet, dass die zwei Loci vollständig gekoppelt sind was wiederum zum *Kopplungsungleichgewicht* führen kann. Das *Kopplungsungleichgewicht* (sog. *linkage disequilibrium*) wird als das häufigere Vorkommen einer Allelkombination auf einem Haplotypen in einer Population bezeichnet, als man es nach ihrer individuellen Allelfrequenzen statistisch erwarten würde. Unter dem Haplotyp versteht man die allelische Konfiguration

entlang eines Chromosomenstranges bzw. eines Sequenzstücks auf einer Chromatide [240].

Das Kopplungsungleichgewicht kann mit Hilfe von Lewontins Disequilibriumskoeffizienten (D) gemessen werden. Dieser hat einen D_{\min} - und einen D_{\max} -Wert und ist abhängig von den Allelfrequenzen, somit auch schwierig zu interpretieren. Aus diesem Grund wurden neue Maßzahlen für LD gesucht, die weniger allelabhängig sind, wie $D' = D / D_{\max}$ und r^2 (Korrelationskoeffizient) $= D^2 / (p_A p_a p_B p_b)$, bei denen p die verschiedenen Allelfrequenzen für die jeweiligen Allele (A, a, B, b) bestimmt. Ist D' oder $r=1$ oder nahezu gleich 1, dann besteht eine Kopplung zwischen den zwei Loci. Beträgt D' oder $r=0$ besteht keine Kopplung [240]. Das Kopplungsungleichgewicht wurde mithilfe des SNPStats Programms (http://bioinfo.iconcologia.net/en/SNPStats_web) bestimmt.

6.5 Schätzung von Haplotypen

Haplotypen können nicht immer exakt bestimmt werden, da es sich um eine Reihe von Allelen handelt, die auf einem Chromosomenstrang vorhanden sind und bei jedem Menschen für jeweils zwei Chromosomenstränge doppelt auftreten. Gewöhnlich gibt es keine konkreten Informationen, welches Allel auf welchem Chromosomenstrang vorhanden ist. Lediglich bei homozygoten SNPs sind die zwei Haplotypen bekannt, da es sich hier um das gleiche Allel handelt. Schwieriger wird es bei mehreren heterozygoten SNPs, in denen die Anzahl der Varianten zu groß wird und somit der Haplotyp nicht mehr zu bestimmen ist. Aus diesem Grund wurden in der Statistik zuerst die Häufigkeiten für jeden Haplotyp mit der Hilfe von Algorithmen wie den *EM-Algorithmus* geschätzt (*Erwartung-Maximierungs-Algorithmus*) [240]. Die kumulativen Frequenzen wurden dazu genutzt, die Schwelle für die seltenen Haplotypen festzusetzen (Tabelle 36). Der häufigste Haplotyp wurde automatisch als Referenz-Haplotyp ausgesucht und die seltenen Haplotypen wurden in einer Gruppe zusammengepoolt. Erst dann war es möglich, Assoziationsanalysen in der Population für die verschiedenen Haplotypen zu generieren [388]. In dieser Studie wurde eine Assoziation der festgelegten Haplotypen mit der chronischen Parodontitis für die ganze Studienpopulation, sowie nach Korrektur nach Alter, Geschlecht und Rauchverhalten, durchgeführt. Die Haplotypfrequenzen wurden mithilfe des SNPStats Programms berechnet (http://bioinfo.iconcologia.net/en/SNPStats_web).

6.6 Bonferroni-Korrektur

Je mehr Hypothesen in einer Population getestet werden, desto größer ist die Wahrscheinlichkeit, dass eine Hypothese fälschlicherweise als richtig angenommen wird. Um das Ansteigen des Fehlers bei multipler Testung zu vermeiden, wurde in dieser Studie die Bonferroni-Korrektur angewandt, welche für k Tests das globale Signifikanzniveau α/k vorschreibt [240]. Das korrigierte Signifikanzniveau in dieser Studie nach Anwendung der Bonferroni-Korrektur wurde für 8 Polymorphismen auf 0,006 festgelegt.

7 Ergebnisse

7.1 Merkmale der Studienpopulation

Die Studienpopulation bestand aus insgesamt 939 Individuen kaukasischer Abstammung. Davon waren 352 an Parodontitis erkrankt und 587 gehörten der Kontrollgruppe an. Der Altersdurchschnitt der Patienten mit Parodontitis betrug $52,3 \pm 14,5$ Jahre und der Individuen der Kontrollgruppe $47,1 \pm 9,8$ Jahre.

Die Studienpopulation teilte sich in 540 Männer und 371 Frauen auf. Bei den Männern handelte es sich um 153 an Parodontitis erkrankte und 387 nicht erkrankte Individuen. Bei den Frauen waren 175 Individuen parodontal erkrankt und 196 gesund.

Als Raucher wurden insgesamt 142 Individuen identifiziert, davon wurden 100 als parodontal erkrankt und 42 als gesund eingestuft (Tabelle 2).

Tabelle 2: Merkmale der Studienpopulation

	Parodontitis	Kontrolle
Anzahl	352 (37,49%)	587 (62,51%)
Frauen	175 (49,71%)	196 (33,39%)
Männer	153 (43,47%)	387 (65,93%)
Raucher	100 (28,4%)	42 (7,16%)
Nicht Raucher	210 (59,66%)	306 (52,13%)
Keine Angaben zum Rauchverhalten	42 (11,32%)	239 (40,81%)
Altersdurchschnitt	52,4 ($\pm 14,5$)	47,1 ($\pm 9,8$)
Altersspanne	18-84	35-68
Geschlecht unbekannt	24 (6,81%)	4 (0,68%)

7.2 Hardy-Weinberg-Gleichgewicht

In 5 von 8 Polymorphismen zeigten sich keine signifikanten Unterschiede in der Verteilung der Kontrollgruppe zu der erwartenden Verteilung der Genotypen. Somit befanden sich beide Gruppen im Hardy-Weinberg-Gleichgewicht.

Beim rs2274910 und rs2476601 zeigte sich ein signifikanter Unterschied in der Parodontitis Gruppe und beim rs13294 zeigte sich eine signifikante Abweichung ($p=0,0019$) in der Kontrollgruppe (Tabelle 3).

Tabelle 3: Exakter Test für Hardy-Weinberg-Gleichgewicht

Polymorphismus	Parodontitis (P-Wert)	Kontrolle (P-Wert)
rs11584383	0,63	0,79
rs11465804	1	0,71
rs2274910	0,014	0,24
rs9286879	0,37	0,9
rs3737240	0,14	0,19
rs13294	1	0,0019
rs2476601	0,0063	0,12
rs3024505	0,51	0,74

7.3 Polymorphismen des Chromosoms 1

7.3.1 rs11584383

Mit Hilfe des MALDI TOF Systems konnte dem Polymorphismus rs11584383 drei Genotypen zugeordnet werden (TT, TC, CC).

Tabelle 4 zeigt die Allelfrequenzen in der jeweiligen Gruppe. Vergleicht man die beiden Gruppen, so waren keine signifikanten Unterschiede in den Allelfrequenzen zu erkennen ($p=0,92$ und OR 0,99 [0,8-1,22]). Auch die Genotypverteilung wies keine signifikanten Unterschiede zwischen den beiden Studiengruppen auf (p -Wert: 0,646) (Tabelle 5). Nach der Genotypverteilung stimmt der Vererbungsmodus am ehesten mit einem überdominanten Modus (AIC=721,1) überein (Tabelle 6).

Tabelle 4: Allelfrequenz des rs11584383 mit p-Wert und OR (CI=95%) in der Studienpopulation

OR: Odds Ratio; CI: Konfidenzintervall; MA: Minorallel

	Allelfrequenz			
	Parodontitis	Kontrolle	p-Wert	OR(95% CI)
T	483 (71,4%)	812 (71,2%)	0,92	1,01 (0,82-1,25)
MA: C	193 (28,6%)	328 (28,8%)	0,92	0,99 (0,8-1,22)

Tabelle 5: Genotypverteilung des rs11584383 mit p-Wert (2x4 Felder Chi-Quadrat-Test)

SNP	Genotyp	Parodontitis	Kontrollen	p-Wert
rs11584383	TT	171 (48,6%)	294 (50,1%)	0,646
	TC	141 (40,1%)	224 (38,2%)	
	CC	26 (7,4%)	52 (8,9%)	
	fehlend	14 (4%)	17 (2,9%)	

Tabelle 6: Genotypfrequenz des rs11584383 mit den verschiedenen Vererbungsmodellen in der Studienpopulation

	TT	TC	CC	
Parodontitis	171 (50,6%)	141 (41,7%)	26 (7,7%)	
Kontrolle	294 (51,6%)	224 (39,3%)	52 (9,1%)	
Modelle	nicht-adjustiert (n=908)		adjustiert (n=628)	
	p-Wert	AIC	p-Wert	AIC
<i>Kodominant</i>	0,65	1204	0,73	723
<i>Dominant</i>	0,77	1202,7	0,63	721,4
<i>Rezessiv</i>	0,45	1202,3	0,65	721,5
<i>Überdominant</i>	0,47	1202,3	0,46	721,1
<i>Log-additiv</i>	0,92	1202,8	0,86	721,6

7.3.2. rs11465804

Für den Polymorphismus rs11465804 wurden die Genotypen TT, TG, GG identifiziert. Die Allelverteilung wies zwischen den beiden Gruppen keine signifikanten Unterschiede auf, trotz leicht erhöhten Odds Ratio ($p=0,84$, OR 1,04 [0,7-1,55]). Auch die Genotypverteilung war bei beiden Gruppen sehr ähnlich. Anhand des AIC konnte am ehesten ein rezessiver Vererbungsweg (AIC=726,8) definiert werden (Tabellen 7-9).

Tabelle 7: Allelfrequenz des rs11465804 mit p-Wert und OR (CI=95%) in der Studienpopulation

	Allelfrequenz			
	Parodontitis	Kontrolle	p-Wert	OR (95% CI)
T	644 (93,9%)	1071 (94,1%)	0,84	0,96 (0,64-1,43)
MA: G	42 (6,12%)	67 (5,9%)	0,84	1,04 (0,7-1,55)

Tabelle 8: Genotypverteilung des rs11465804 mit p-Wert (2x4 Felder Chi-Quadrat-Test)

SNP	Genotyp	Parodontitis	Kontrollen	p-Wert
rs11465804	TT	302 (85,8%)	503 (85,7%)	0,951
	TG	40 (11,4%)	65 (11,1%)	
	GG	1 (3%)	1 (2%)	
	fehlend	9 (2,6%)	18 (3,1%)	

Tabelle 9: Genotypfrequenz des rs11465804 mit den verschiedenen Vererbungsmodellen in der Studienpopulation

	TT	TG	GG	
Parodontitis	302 (88%)	40 (11,7%)	1 (0,3%)	
Kontrolle	503 (88,4%)	65 (11,4%)	1 (0,2%)	
Modelle	nicht-adjustiert (n=912)		adjustiert (n=632)	
	p-Wert	AIC	p-Wert	AIC
<i>Kodominant</i>	0,93	1213,6	0,84	728,8
<i>Dominant</i>	0,87	1211,7	0,94	727,1
<i>Rezessiv</i>	0,72	1211,6	0,55	726,8
<i>Überdominant</i>	0,91	1211,7	0,97	727,1
<i>Log-additiv</i>	0,84	1211,7	0,87	727,1

7.3.3 rs2274910

Für die Genvariante rs2274910 wurden drei Genotypen charakterisiert (CC, CT, TT). Auch hier konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen der Kontroll- und Parodontitisgruppe in der Allelfrequenz beobachtet werden ($p=0,17$).

Die Genotypverteilung zeigte ein signifikant häufigeres Auftreten von Individuen, die homozygot für das Minorallel waren (Parodontitis:11,4%; Kontrolle:6,1%; $p=0,014$) (Tabellen 11-12).

Zwei signifikante Assoziationen konnten in der Gesamtpopulation, sowie nach Korrektur der Population hinsichtlich Alter, Geschlecht und Raucherverhalten für zwei Vererbungsmodelle (kodominant, rezessiv) gefunden werden. Da das rezessive Model einen kleineren AIC Wert von 1189,7 in der Studienpopulation und 712,2 in der korrigierten Population aufwies, konnte am ehesten von einem rezessiven Erbgang für den rs2274910 ausgegangen werden (Tabellen 10-12).

Tabelle 10: Allelfrequenz des rs2274910 mit p-Wert und OR (CI=95%) in der Studienpopulation

OR: Odds Ratio; CI: Konfidenzintervall; MA: Minorallel

	Allelfrequenz			
	Parodontitis	Kontrolle	p-Wert	OR (95% CI)
C	470 (69,94%)	830 (72,93%)	0,17	0,86 (0,7-1,07)
MA: T	202 (30,06%)	308 (27,07%)	0,17	1,16 (0,94-1,43)

Tabelle 11: Genotypverteilung des rs2274910 mit p-Wert (2x4 Felder Chi-Quadrat-Test)

SNP	Genotyp	Parodontitis	Kontrollen	p-Wert
rs2274910	CC	174 (49,4%)	297 (50,6%)	0,014
	CT	122 (34,7%)	236 (40,2%)	
	TT	40 (11,4%)	36 (6,1%)	
	fehlend	16 (4,5%)	18 (3,1%)	

Tabelle 12: Genotypfrequenz des rs2274910 mit den verschiedenen Vererbungsmodellen in der Studienpopulation

AIC: Akaike Informationskriterium

	CC	CT	TT	
Parodontitis	174 (51,8%)	122 (36,3%)	40 (11,9%)	
Kontrolle	297 (52,2%)	236 (41,5%)	36 (6,3%)	
Modelle	nicht-adjustiert (n=905)		adjustiert (n=626)	
	p-Wert	AIC	p-Wert	AIC
<i>Kodominant</i>	0,011	1190,9	0,0075	713,1
<i>Dominant</i>	0,9	1197,9	0,89	720,8
<i>Rezessiv</i>	0,0041	1189,7	0,0033	712,2
<i>Überdominant</i>	0,12	1195,6	0,081	717,8
<i>Log-additiv</i>	0,18	1196,1	0,26	719,6

7.3.4 rs9286879

Für den Polymorphismus rs9286879 wurden die Genotypen AA, AG, GG charakterisiert. Betrachtet man die Allelverteilung in den zwei Studiengruppen, so war eine eher gleichmäßige Verteilung der Allele trotz leicht erhöhten OR von 1,23 beim Risikoallel zu erkennen ($p=0,07$). Die Genotypverteilung zwischen den beiden Studienpopulationen wies ebenfalls keine signifikanten Unterschiede und somit auch keine Assoziation zur chronischen Parodontitis auf. Anhand des AIC konnte für die Genvariante rs9286879 ein dominanter Erbgang angenommen werden ($AIC=732,4$) (Tabellen 13-15).

Tabelle 13: Allelfrequenz des rs9286879 mit p-Wert und OR (CI=95%) in der Studienpopulation

OR: Odds Ratio; CI: Konfidenzintervall; MA: Minorallel

	Allelfrequenz			
	Parodontitis	Kontrolle	p-Wert	OR (95% CI)
A	527 (76,38%)	919 (79,91%)	0,07	0,81 (0,65-1,02)
MA: G	163 (23,62%)	231 (20,08%)	0,07	1,23 (0,98-1,54)

Tabelle 14: Genotypverteilung des rs9286879 mit p-Wert (2x4 Felder Chi-Quadrat-Test)

SNP	Genotyp	Parodontitis	Kontrollen	p-Wert
rs9286879	AA	198 (56,3%)	366 (62,4%)	0,311
	AG	131 (37,2%)	187 (31,9%)	
	GG	16 (4,5%)	22 (3,7%)	
	fehlend	7 (2%)	12 (2%)	

Tabelle 15: Genotypfrequenz des rs9286879 mit den verschiedenen Vererbungsmodellen in der Studienpopulation

AIC: Akaike Informationskriterium

	AA	AG	GG	
Parodontitis	198 (57,4%)	131 (38%)	16 (4,6%)	
Kontrolle	366 (63,6%)	187 (32,5%)	22 (3,8%)	
Modelle	nicht-adjustiert (n=920)		adjustiert (n=637)	
	p-Wert	AIC	p-Wert	AIC
<i>Kodominant</i>	0,17	1219,7	0,28	734,4
<i>Dominant</i>	0,06	1217,7	0,11	732,4
<i>Rezessiv</i>	0,55	1220,9	0,8	734,9
<i>Überdominant</i>	0,093	1218,5	0,13	732,6
<i>Log-additiv</i>	0,071	1218	0,15	732,9

7.3.5 rs3737240

In den beiden Studienpopulationen konnten drei Genotypen CC, CT, TT für den rs3737240 bestimmt werden. Die Allelfrequenz zeigte keine Unterschiede zwischen der Kontroll- und Parodontitisgruppe ($p=0,58$; OR:0,95; CI:0,78-1,5).

Die Genotypverteilung zeigte gleichfalls keine signifikante Assoziation in der Studienpopulation mit einer chronischen Parodontitis ($p=0,126$). Der AIC Wert von 733 für die Genvariante rs3737240 lässt eher auf ein rezessives Vererbungsmodell schließen (Tabellen 16-18).

Tabelle 16: Allelfrequenz des rs3737240 mit p-Wert und OR (CI=95%) in der Studienpopulation

OR: Odds Ratio; CI: Konfidenzintervall; MA: Minorallel

	Allelfrequenz			
	Parodontitis	Kontrolle	p-Wert	OR (95% CI)
C	425 (61,59%)	685 (60,3%)	0,58	1,06 (0,87-1,28)
MA:T	265 (38,41%)	451 (39,7%)	0,58	0,95 (0,78-1,5)

Tabelle 17: Genotypverteilung des rs3737240 mit p-Wert (2x4 Felder Chi-Quadrat-Test)

SNP	Genotyp	Parodontitis	Kontrollen	p-Wert
rs3737240	CC	124 (35,2%)	214 (36,5%)	0,126
	CT	177 (50,3%)	257 (43,8%)	
	TT	44 (12,5%)	97 (16,5%)	
	fehlend	7 (2%)	19 (3,2%)	

Tabelle 18: Genotypfrequenz des rs3737240 mit den verschiedenen Vererbungsmodellen in der Studienpopulation

AIC: Akaike Informationskriterium

	CC	CT	TT	
Parodontitis	124 (35,9%)	177 (51,3%)	44 (12,8%)	
Kontrolle	214 (37,7%)	257 (45,2%)	97 (17,1%)	
Modelle	nicht adjustiert (n=913)		adjustiert (n=635)	
	p-Wert	AIC	p-Wert	AIC
<i>Kodominant</i>	0,11	1212,2	0,6	735
<i>Dominant</i>	0,6	1214,4	0,75	734
<i>Rezessiv</i>	0,076	1211,5	0,31	733
<i>Überdominant</i>	0,076	1211,5	0,68	733,9
<i>Log-additiv</i>	0,58	1214,4	0,45	733,5

7.3.6 rs13294

Für den Genpolymorphismus rs13294 wurden in der Studienpopulation die Genotypen GG, GA, AA angetroffen. Auch für diesen Polymorphismus konnten keine Assoziationen, sowohl der Allelfrequenzen ($p=0,52$) als auch der Genotypfrequenzen ($p=0,166$), mit einer chronischen Parodontitis beobachtet werden. Anhand des AIC kam ein rezessives Vererbungsmuster in Betracht (AIC=657,8) (Tabellen 19-21).

Tabelle 19: Allelfrequenz des rs13294 mit p-Wert und OR (CI=95%) in der Studienpopulation

OR: Odds Ratio; CI: Konfidenzintervall; MA: Minorallel

	Allelfrequenz			
	Parodontitis	Kontrolle	p-Wert	OR (95% CI)
G	388 (62,99%)	614 (61,4%)	0,52	0,07 (0,87-1,32)
MA:A	228 (37,01%)	386 (38,6%)	0,52	0,93 (0,76-1,15)

Tabelle 20: Genotypverteilung des rs13294 mit p-Wert (2x4 Felder Chi-Quadrat-Test)

SNP	Genotyp	Parodontitis	Kontrollen	p-Wert
rs13294	GG	122 (34,7%)	205 (34,9%)	0,166
	GA	144 (40,9%)	204 (34,8%)	
	AA	42 (11,9%)	91 (15,5%)	
	fehlend	44 (12,5%)	87 (14,8%)	

Tabelle 21: Genotypfrequenz des rs13294 mit den verschiedenen Vererbungsmodellen in der Studienpopulation

AIC: Akaike Informationskriterium

	GG	GA	AA		
Parodontitis	122 (39,6%)	144 (46,8%)	42 (13,6%)		
Kontrolle	205 (41%)	204 (40,8%)	91 (18,2%)		
Modelle	nicht adjustiert (n=808)		adjustiert (n=568)		
	p-Wert	AIC	p-Wert	AIC	
<i>Kodominant</i>	0,13	1075,9	0,68	659,8	
<i>Dominant</i>	0,7	1077,9	0,7	658,4	
<i>Rezessiv</i>	0,086	1075,1	0,38	657,8	
<i>Überdominant</i>	0,097	1075,3	0,78	658,5	
<i>Log-additiv</i>	0,54	1077,7	0,47	658,1	

7.3.7 rs2476601

Die Genotypen GG, GA und AA wurden für den rs2476601 in der Studienkohorte gefunden. Auch für diesen Polymorphismus konnten keine Assoziationen bei der Analyse der Allelfrequenzen ($p=0,73$) oder der Genotypverteilung ($p=0,107$) beobachtet werden. Die Genvariante rs2476601 scheint mit einem überdominanten Vererbungsmuster zu korrelieren ($AIC=425,9$). Ein vergleichsweise hoher Anteil der Proben konnte für den rs2476601 nicht genotypisiert werden (nicht genotypisierte Proben=49,2%) (Tabellen 22-24).

Tabelle 22: Allelfrequenz des rs2476601 mit p-Wert und OR (CI=95%) in der Studienpopulation

OR: Odds Ratio; CI: Konfidenzintervall; MA: Minorallel

	Allelfrequenz			
	Parodontitis	Kontrolle	p-Wert	OR (95% CI)
G	365 (95,05%)	532 (93,33%)	0,27	1,37 (0,78-2,42)
MA:A	19 (4,95%)	38 (6,67%)	0,27	0,73 (0,41-1,28)

Tabelle 23: Genotypverteilung des rs2476601 mit p-Wert (2x4 Felder Chi-Quadrat-Test)

SNP	Genotyp	Parodontitis	Kontrollen	p-Wert
rs2476601	GG	176 (50%)	250 (42,6%)	0,107
	GA	13 (3,7%)	32 (5,5%)	
	AA	3 (9%)	3 (5%)	
	fehlend	160 (45,5%)	302 (51,4%)	

Tabelle 24: Genotypfrequenz des rs2476601 mit den verschiedenen Vererbungsmodellen in der Studienpopulation

AIC: Akaike Informationskriterium

	GG	GA	AA	
Parodontitis	176 (91,7%)	13 (6,8%)	3 (1,6%)	
Kontrolle	250 (87,7%)	32 (11,2%)	3 (1,1%)	
Modelle	nicht adjustiert (n=477)		adjustiert (n=384)	
	p-Wert	AIC	p-Wert	AIC
<i>Kodominant</i>	0,23	646,1	0,55	427,7
<i>Dominant</i>	0,17	645,1	0,47	426,4
<i>Rezessiv</i>	0,63	646,8	0,63	426,7
<i>Überdominant</i>	0,096	644,2	0,32	425,9
<i>Log-additiv</i>	0,3	645,9	0,67	426,7

7.3.8 rs3024505

Für den Polymorphismus rs3024505 wurden drei Genotypen zugeordnet (CC, CT, TT). Auch bei diesem Polymorphismus fand sich keine signifikante Assoziation in der Studienpopulation hinsichtlich der Allelfrequenz ($p=0,93$) und der Genotypfrequenz ($p=0,771$). Der AIC Wert deutet auf ein dominantes Vererbungsmuster hin (Tabellen 25-27).

Tabelle 25: Allelfrequenz des rs3024505 mit p-Wert und OR (CI=95%) in der Studienpopulation

OR: Odds Ratio; CI: Konfidenzintervall; MA: Minorallel

	Allelfrequenz			
	Parodontitis	Kontrolle	p-Wert	OR (95% CI)
C	589 (85,9%)	962 (84,98%)	0,6	1,07 (0,82-1,4)
MA:T	97 (14,3%)	170 (15,18%)	0,61	0,93 (0,71-1,22)

Tabelle 26: Genotypverteilung des rs3024505 mit p-Wert (2x4 Felder Chi-Quadrat-Test)

SNP	Genotyp	Parodontitis	Kontrollen	p-Wert
rs3024505	CC	251 (71,3%)	407 (69,3%)	0,771
	CT	87 (24,7%)	148 (25,2%)	
	TT	5 (1,4%)	11 (1,9%)	
	fehlend	9 (2,6%)	21 (3,6%)	

Tabelle 27: Genotypfrequenz des rs3024505 mit den verschiedenen Vererbungsmodellen in der Studienpopulation

AIC: Akaike Informationskriterium

	CC	CT	TT	
Parodontitis	251 (73,2%)	87 (25,4%)	5 (1,5%)	
Kontrolle	407 (71,9%)	148 (26,1%)	11 (1,9%)	
Modelle	nicht adjustiert (n=909)		adjustiert (n=630)	
	p-Wert	AIC	p-Wert	AIC
<i>Kodominant</i>	0,82	1210,5	0,56	731,4
<i>Dominant</i>	0,68	1208,7	0,34	729,7
<i>Rezessiv</i>	0,58	1208,6	0,48	730,1
<i>Überdominant</i>	0,79	1208,8	0,45	730
<i>Log-additiv</i>	0,6	1208,6	0,29	729,5

7.4 Die Genotypverteilung in der männlichen Subpopulation

In der Subpopulation der *Männer* (n=540) wurde ein leicht signifikanter Unterschied in der Genotypverteilung vom rs2274910 angetroffen. Auffällig war die erhöhte Mutantenfrequenz in der Parodontitisgruppe im Vergleich zur Kontrollgruppe (13,1% vs. 5,9%; p=0,029). Die heterozygote Version des SNPs war fast gleichmäßig verteilt und der Wildtyp war in der Kontrollgruppe (55%) präsenter (Tabelle 28).

Tabelle 28: Genotypverteilung in der männlichen Subpopulation mit p-Wert (2x4 Felder Chi-Quadrat-Test)

SNP	Genotyp	Parodontitis N=153	Kontrollen N=387	p-Wert
rs11584383	TT	80 (52,3%)	188 (48,6%)	0,460
	TC	58 (37,9%)	150 (38,8%)	
	CC	8 (5,2%)	35 (9%)	
	fehlend	7 (4,6%)	14 (3,6%)	
rs11465804	TT	127 (83%)	325 (84%)	0,846
	TG	21 (13,7%)	46 (11,9%)	
	GG	0 (0%)	1 (3%)	
	fehlend	5 (3,3%)	15 (3,9%)	
rs2274910	CC	71 (46,4%)	213 (55%)	0,029
	CT	54 (35,3%)	136 (35,1%)	
	TT	20 (13,1%)	23 (5,9%)	
	fehlend	8 (5,2%)	15 (3,9%)	
rs9286879	AA	85 (55,6%)	227 (58,7%)	0,598
	AG	61 (39,9%)	134 (34,6%)	
	GG	4 (2,6%)	16 (4,1%)	
	fehlend	3 (2%)	10 (2,6%)	
rs3737240	CC	53 (34,6%)	137 (35,4%)	0,291
	CT	77 (50,3%)	168 (43,4%)	
	TT	20 (13,1%)	66 (17,1%)	
	fehlend	3 (2%)	16 (4,1%)	
rs13294	GG	54 (35,3%)	129 (33,3%)	0,422
	GA	62 (40,5%)	137 (35,4%)	
	AA	19 (12,4%)	64 (16,5%)	
	fehlend	18 (11,8%)	57 (14,7%)	
rs2476601	GG	80 (52,3%)	172 (44,4%)	0,236
	GA	4 (2,6%)	20 (5,2%)	
	AA	1 (7%)	1 (3%)	
	fehlend	68 (44,4%)	194 (50,1%)	
rs3024505	CC	110 (71,9%)	268 (69,3%)	0,709
	CT	36 (23,5%)	95 (24,2%)	
	TT	3 (2%)	6 (1,6%)	
	fehlend	4 (2,6%)	18 (4,7%)	

7.5 Genotypverteilung in der weiblichen Subpopulation

Der rs2274910 zeigte einen signifikanten Unterschied der Genotypfrequenz in der Frauensubpopulation mit einem p-Wert von 0,005 an (Tabelle 29). Homozygote CC-Individuen waren mit einem Anteil von 52% in der Parodontitisgruppe und von 41,3% in der Kontrollgruppe vertreten. Heterozygote CT-Individuen waren in der Kontrollgruppe im Gegensatz zur Fallgruppe (50,5%) leicht häufiger vertreten und homozygote TT-Individuen waren auch in der Parodontitisgruppe häufiger anzutreffen (10,9%).

Die Genotypverteilung für den rs9286879 war in der weiblichen Population signifikant unterschiedlich zwischen PA-Patienten und gesunden Individuen ($p=0,037$). In der Kontrollgruppe war ein höheres Vorkommen des homozygoten AA-Genotyps im Vergleich zur Parodontitisgruppe zu beobachten (70,4% vs. 56,6%). Seltener schienen die homozygoten Träger des mutierten Allels mit 3,1% vorhanden zu sein. Heterozygote Träger waren etwas häufiger in der Parodontitisgruppe anzutreffen (34,9%; $p=0,037$) (Tabelle 29).

Tabelle 29: Genotypverteilung in der Frauenpopulation mit p-Wert (2x4 Felder Chi-Quadrat-Test)

SNP	Genotyp	Parodontitis N=175	Kontrollen N=196	p-Wert
rs11584383	TT	81 (46,3%)	105 (53,6%)	0,317
	TC	70 (40%)	71 (36,2%)	
	CC	17 (9,7%)	17 (8,7%)	
	fehlend	7 (4%)	3 (1,5%)	
rs11465804	TT	153 (87,4%)	174 (88,8%)	0,701
	TG	17 (9,7%)	19 (9,7%)	
	GG	1 (6%)	0 (0%)	
	fehlend	4 (2,3%)	3 (1,5%)	
rs2274910	CC	91 (52%)	81 (41,3%)	0,005
	CT	58 (33,1%)	99 (50,5%)	
	TT	19 (10,9%)	13 (6,6%)	
	fehlend	7 (4%)	3 (1,5%)	
rs9286879	AA	99 (56,6%)	138 (70,4%)	0,037
	AG	61 (34,9%)	50 (25,5%)	
	GG	11 (6,3%)	6 (3,1%)	
	fehlend	4 (2,3%)	2 (1%)	
rs3737240	CC	64 (36,6%)	76 (38,8%)	0,591
	CT	86 (49,1%)	86 (43,9%)	
	TT	21 (12%)	31 (15,8%)	
	fehlend	4 (2,3%)	3 (1,5%)	
rs13294	GG	61 (34,9%)	75 (38,3%)	0,449
	GA	72 (41,1%)	65 (33,2%)	
	AA	21 (12%)	27 (13,8%)	
	fehlend	21 (12%)	29 (14,8%)	
rs2476601	GG	80 (45,7%)	78 (39,8%)	0,706
	GA	9 (5,1%)	12 (6,1%)	
	AA	2 (1,1%)	2 (1%)	
	fehlend	84 (48%)	104 (53,1%)	
rs3024505	CC	124 (70,9%)	136 (69,4%)	0,610
	CT	44 (25,1%)	52 (26,5%)	
	TT	2 (1,1%)	5 (2,6%)	
	fehlend	5 (2,9%)	3 (1,5%)	

7.6 Genotypverteilung in der Subpopulation der Nichtraucher

Die Verteilung der Genotypen für den rs2274910 war zwischen den Studienpopulationen schwach signifikant unterschiedlich ($p=0,048$). In der Parodontitisgruppe fanden sich deutlich mehr homozygote TT-Individuen (10% vs. 4,2%). Die übrigen Polymorphismen zeigten keine Unterschiede in der Genotypverteilung zwischen den beiden Studiengruppen (Tabelle 30).

Tabelle 30: Genotypverteilung in der Subpopulation der Nichtraucher mit p-Wert (2x4 Felder Chi-Quadrat-Test)

SNP	Genotyp	Parodontitis N=210	Kontrollen N=306	p-Wert
rs11584383	TT	99 (47.1%)	155 (50.7%)	0,814
	TC	83 (39,5%)	117 (38,2%)	
	CC	19 (9%)	22 (7,2%)	
	fehlend	9 (4,3%)	12 (3,9%)	
rs11465804	TT	186 (88.6%)	258 (84.3%)	0,449
	TG	19 (9%)	35 (11,4%)	
	GG	1 (5%)	1 (3%)	
	fehlend	4 (1,9%)	12 (3,9%)	
rs2274910	CC	107 (51%)	152 (49.7%)	0,048
	CT	73 (34,8%)	128 (41,8%)	
	TT	21 (10%)	13 (4,2%)	
	fehlend	9 (4,3%)	13 (4,2%)	
rs9286879	AA	124 (59%)	193 (63.1%)	0,215
	AG	70 (33,3%)	95 (31%)	
	GG	12 (5,7%)	8 (2,6%)	
	fehlend	4 (1,9%)	10 (3,3%)	
rs3737240	CC	82 (39%)	114 (37.3%)	0,181
	CT	100 (47,6%)	131 (42,8%)	
	TT	25 (11,9%)	49 (16%)	
	fehlend	3 (1,4%)	12 (3,9%)	
rs13294	GG	80 (38.1%)	108 (35.3%)	0,501
	GA	81 (38,6%)	108 (35,3%)	
	AA	25 (11,9%)	47 (15,4%)	
	fehlend	24 (11,4%)	43 (14,1%)	
rs2476601	GG	103 (49%)	166(54.2%)	0,053
	GA	7 (3,3%)	24(7,8%)	
	AA	3 (1,4%)	3(1%)	
	fehlend	97 (46,2%)	113(36,9%)	
rs3024505	CC	152 (72.4%)	204 (66.7%)	0,141
	CT	52 (24,8%)	79 (25,8%)	
	TT	2 (1%)	8 (2,6%)	
	fehlend	4 (1,9%)	15 (4,9%)	

7.7 Genotypverteilung in der Subpopulation der Raucher

In der Subpopulation der Raucher konnten keine signifikanten Unterschiede in der Genotypverteilung beobachtet werden (Tabelle 31).

Tabelle 31: Genotypverteilung in der Subpopulation der Raucher mit p-Wert (2x4 Felder Chi-Quadrat-Test)

SNP	Genotyp	Parodontitis N=100	Kontrollen N=42	p-Wert
rs11584383	TT	54 (54%)	17 (40,5%)	0,442
	TC	36 (36%)	19 (45,2%)	
	CC	5 (5,%)	4 (9,5%)	
	fehlend	5 (5%)	2 (4,8%)	
rs11465804	TT	80 (80%)	35 (83,3%)	0,624
	TG	15 (15%)	4 (9,5%)	
	GG	5 (5%)	3 (7,1%)	
	fehlend	0 (0%)	0 (0%)	
rs2274910	CC	43 (43%)	22 (52,4%)	0,407
	CT	37 (37%)	16 (38,1%)	
	TT	14 (14%)	2 (4,8%)	
	fehlend	6 (6%)	2 (4,8%)	
rs9286879	AA	51 (51%)	22 (52,4%)	0,602
	AG	43 (43%)	15 (35,7%)	
	GG	3 (3%)	3 (7,1%)	
	fehlend	3 (3%)	2 (4,8%)	
rs3737240	CC	29 (29%)	14 (33,3%)	0,942
	CT	53 (53%)	20 (47,6%)	
	TT	14 (14%)	6 (14,3%)	
	fehlend	4 (4%)	2 (4,8%)	
rs13294	GG	54 (35,3%)	129 (33,3%)	0,422
	GA	62 (40,5%)	137 (35,4%)	
	AA	19 (12,4%)	64 (16,5%)	
	fehlend	18 (11,8%)	57 (14,7%)	
rs2476601	GG	47 (47%)	26 (61,9%)	0,134
	GA	5 (5%)	0 (0%)	
	AA	48 (48%)	16 (38,1%)	
	fehlend	0 (0%)	0 (0%)	
rs3024505	CC	69 (69%)	26 (61,9%)	0,800
	CT	23 (23%)	13 (31%)	
	TT	3 (3%)	1 (2,4%)	
	fehlend	5 (5%)	2 (4,8%)	

7.8 Multinominale logistische Regression

Der mögliche Einfluss von Kovariablen wie Alter, Geschlecht und Rauchen auf die Manifestation der chronischen Parodontitis wurde mit Hilfe einer multinominalen Regressionsanalyse berechnet. Wie erwartet zeigte sich, dass Alter, Geschlecht und Rauchen eine signifikante Bedeutung zur chronischen Parodontitis aufweisen. In diesem Zusammenhang schien auch der rs2274910 mit einem p-Wert von 0,002 positiv mit der chronischen Parodontitis zu korrelieren (Tabelle 32).

Tabelle 32: Likelihood-Quotienten-Tests

χ^2 : Chi-Quadrat-Test; FG: Freiheitsgrade

Parameter	-2Log-Likelihood für reduziertes Modell	χ^2	FG	p-Wert
Endgültiges Modell	702,466	0,000	0	.
Geschlecht	744,938	42,472	1	0,000
Raucher	753,175	50,709	1	0,000
Alter	788,672	86,205	1	0,000
rs11584383	710,160	7,694	3	0,053
rs11465804	702,606	0,140	3	0,987
rs2274910	717,602	15,136	3	0,002
rs9286879	705,995	3,529	3	0,317
rs3737240	706,151	3,685	3	0,298
rs13294	705,231	2,765	3	0,429
rs2476601	706,767	4,301	3	0,231
rs3024505	703,098	0,631	3	0,889

7.9 Kopplungsungleichgewicht in der Studienpopulation

Das SNP-Paar rs13294 und der rs3737240 hatten nach der D' Statistik einen Wert von $D'=1$ und $R^2=1$ was eine vollständige Kopplung darstellte. Es konnten keine weiteren Ungleichgewichte gefunden werden (Tabellen 33-34).

Tabelle 33: D' Statistik für die Kopplungsungleichgewichtsanalyse der SNP

D' Statistik	rs 1158438 3	rs 1146580 4	rs 2274910	rs 9286879	rs 3737240	rs 2476601	rs 3024505	rs 13294
rs 1158438 3	*	0,21	0,04	0,05	0,02	0,18	0,19	0,01
rs 1146580 4	*	*	0,08	0,07	0,13	0,33	0,01	0,14
rs 2274910	*	*	*	0,03	0,01	0,1	0,06	0,01
rs 9286879	*	*	*	*	0,04	0,05	0,08	0,05
rs 3737240	*	*	*	*	*	0,16	0,08	1
rs 2476601	*	*	*	*	*	*	0,02	0,15
rs 3024505	*	*	*	*	*	*	*	0,07
rs 13294	*	*	*	*	*	*	*	*

Tabelle 34: R Statistik für die Kopplungsungleichgewichtanalyse der SNP

R Statistik	rs 1158438 3	rs 1146580 4	rs 2274910	rs 9286879	rs 3737240	rs 2476601	rs 3024505	rs 13294
rs 1158438 3	*	-0,03	0,04	-0,02	-0,01	-0,03	-0,05	0,01
rs 1146580 4	*	*	0,03	-0,01	0,04	-0,02	0,01	0,04
rs 2274910	*	*	*	0,03	0,01	-0,02	-0,01	0,01
rs 9286879	*	*	*	*	-0,02	0,02	-0,02	0,02
rs 3737240	*	*	*	*	*	-0,03	0,04	1
rs 2476601	*	*	*	*	*	*	-0,002	-0,03
rs 3024505	*	*	*	*	*	*	*	0,03
rs 13294	*	*	*	*	*	*	*	*

7.10 Schätzung von Haplotypen

In dieser Studie wurde eine Assoziation der festgelegten Haplotypen mit der chronischen Parodontitis für die ganze Studienpopulation, sowie nach Korrektur nach Alter, Geschlecht und Raucherverhalten, durchgeführt. Die geschätzten Haplotypfrequenzen werden in der Tabelle 35 aufgelistet.

Tabelle 35: Haplotyp-Frequenz-Schätzung

Pa: Parodontitis Gruppe; Ko: Kontrollgruppe; Ku.FR: kumulative Frequenz

	rs 11584 383	rs 11465 804	rs 22749 10	rs 92868 79	rs 37372 40	rs 24766 01	rs 30245 05	Total	Pa	Ko	Ku. FR
1	T	T	C	A	C	G	C	0.1864	0.1464	0.1927	0.1864
2	T	T	C	A	T	G	C	0.126	0.1296	0.1303	0.3124
3	C	T	C	A	C	G	C	0.0743	0.0908	0.0836	0.3867
4	T	T	T	A	C	G	C	0.0737	0.0984	0.0596	0.4604
5	T	T	C	G	C	G	C	0.05	0.0702	0.0482	0.5104
6	C	T	C	A	T	G	C	0.0406	0.0362	0.0432	0.551
7	T	T	T	A	T	G	C	0.0375	0.0428	0.038	0.5885
8	C	T	T	A	C	G	C	0.036	0.0181	0.0307	0.6245
9	T	T	C	A	C	G	T	0.0339	0.0333	0.0423	0.6584
10	T	T	C	G	T	G	C	0.0278	0.0215	0.0312	0.6862
11	C	T	T	A	T	G	C	0.0216	0.0391	0.0094	0.7078
12	C	T	C	G	C	G	C	0.0201	0.0106	0.0165	0.7279
13	T	T	T	G	C	G	C	0.02	0.0102	0.0247	0.7479
14	T	T	C	A	T	G	T	0.016	0.0265	0.0055	0.7639
15	T	G	C	A	C	G	C	0.0157	0.0239	0.0047	0.7797
16	T	T	C	A	T	A	C	0.015	NA	0.0166	0.7947
17	C	T	C	G	T	G	C	0.0146	0.0174	0.0143	0.8093
18	c	T	C	A	C	G	T	0.0141	0.0022	0.0139	0.8234
19	T	T	T	A	T	G	T	0.0126	0.0074	0.0145	0.836
20	C	T	C	A	T	G	T	0.0124	0.011	0.0122	0.8484
21	C	T	C	A	C	A	C	0.0122	0.0134	NA	0.8606
22	T	T	T	G	T	G	C	0.0109	0.0047	0.0153	0.8715
23	C	T	T	G	C	G	C	0.0106	0.028	0.0029	0.8821
24	T	T	C	G	C	G	T	0.0101	0.0151	0.0024	0.8921
25	T	T	T	A	C	G	T	0.0093	0.0109	0.0063	0.9015
26	T	T	C	G	T	G	T	0.0076	0.0133	0.006	0.9091
27	T	G	C	A	T	G	C	0.0075	NA	0.0102	0.9166
28	C	T	T	A	T	G	T	0.0059	NA	0.0115	0.9225
29	C	T	T	G	T	G	C	0.0059	0.0023	0.0067	0.9283
30	T	T	T	A	C	A	C	0.0056	NA	0.002	0.9339
31	T	G	C	A	C	G	T	0.0054	0.0056	0.0026	0.9393
32	C	G	T	A	T	G	C	0.0053	0.0036	0.005	0.9446
33	T	T	T	G	C	A	C	0.005	0.0077	3e-04	0.9497
34	C	G	C	G	C	G	C	0.0049	0.0027	0.0053	0.9545
35	T	T	C	G	C	A	C	0.0047	NA	0.0037	0.9592
36	T	T	C	A	C	A	T	0.0041	NA	NA	0.9633
37	T	T	C	G	T	A	C	0.0036	0.0053	0	0.9669

38	T	T	T	G	T	G	T	0.0033	0.0045	0.0032	0.9702
39	T	G	T	A	T	G	C	0.0032	8e-04	0.0054	0.9735
40	T	G	T	G	T	G	C	0.0031	9e-04	0.002	0.9766
41	C	G	C	A	C	G	C	0.0022	NA	0.0042	0.9788
42	C	T	C	A	T	A	C	0.0022	NA	0.0033	0.981
43	T	G	T	A	T	A	C	0.002	NA	5e-04	0.9829
44	T	T	T	G	C	A	T	0.0019	NA	0.0046	0.9848
45	T	G	T	A	T	G	T	0.0018	NA	2e-04	0.9867
46	T	T	T	G	C	G	T	0.0018	0.0027	NA	0.9885
47	T	G	T	G	C	G	C	0.0018	0.0057	NA	0.9903
48	T	G	C	G	T	G	C	0.0016	0.006	NA	0.9918
49	C	G	T	G	T	G	T	0.0015	0.0052	NA	0.9933
50	T	G	C	A	T	G	T	0.0014	NA	0.0058	0.9947
51	C	T	C	G	C	G	T	0.0014	NA	0.005	0.996
52	T	G	T	A	C	G	C	0.0012	NA	0.0091	0.9972
53	T	T	C	G	T	A	T	0.001	NA	NA	0.9982
54	T	G	C	G	T	G	T	7e-04	NA	NA	0.999
55	C	G	C	A	C	A	C	5e-04	0	NA	0.9995
56	C	T	C	G	C	A	T	3e-04	NA	NA	0.9998
57	C	G	T	G	T	G	C	1e-04	0.0021	NA	0.9999
58	C	T	T	A	C	G	T	1e -04	NA	0.0057	1
59	C	T	T	A	C	A	C	0	NA	0,0113	1
60	T	T	C	A	C	A	C	0	0,0166	0,0122	1
61	T	T	C	G	C	A	T	0	NA	0,0014	1

7.10.1 Assoziation der Haplotypen mit der chronischen Parodontitis

Da der rs3737240 und der rs13294 im Kopplungsungleichgewicht standen, wurde eine 7-Punkt Haplotypanalyse durchgeführt. Es konnte eine positive Assoziation zwischen den Haplotypen 3 (T,T,T,A,C,G,C), 5 (T,T,CG,C,G,C), 11 (C,T,T,A,T,G,C) und 20 (C,T,T,G,C,G,C) und der chronischen Parodontitis nachgewiesen werden. Bei den Haplotypen 3 (T,T,T,A,C,G,C), 11 (C,T,T,A,T,G,C) und 20 (C,T,T,G,C,G,C) ist das in dieser Studie mit der Parodontitis assoziierte Minorallel T des rs2274910 enthalten (Tabelle 36).

Tabelle 36: Haplotypen in der Gesamtpopulation (n=924)

FR: Frequenz; OR: Odds Ratio; CI: Konfidenzintervall

	rs 11584383	rs 11465804	rs 2274910	rs 9286879	rs 3737240	rs 2476601	rs 3024505	FR	OR (95% CI)	p- Wert
1	T	T	C	A	C	G	C	0,1853	1	...
2	T	T	C	A	T	G	C	0,124	0,76 (0,42- 1,40)	0,38
3	T	T	T	A	C	G	C	0,0763	0,48 (0,26- 0,9)	0,023
4	C	T	C	A	C	G	C	0,0755	0,6 (0,33- 1,1)	0,1
5	T	T	C	G	C	G	C	0,0518	0,36 (0,17- 0,79)	0,01
6	C	T	C	A	T	G	C	0,043	1,58 (0,62- 4,06)	0,34
7	T	T	T	A	T	G	C	0,0353	1,08 (0,44- 2,66)	0,86
8	T	T	C	A	C	G	T	0,0337	0,98 (0,38- 2,57)	0,97
9	C	T	T	A	C	G	C	0,0311	3,71 (0,77- 17,96)	0,1
10	T	T	C	G	T	G	C	0,0272	0,88 (0,28- 2,76)	0,83
11	C	T	T	A	T	G	C	0,0222	0,13 (0,03- 0,65)	0,013
12	C	T	C	G	C	G	C	0,0194	6,54 (0,74- 57,98)	0,092
13	T	T	T	G	C	G	C	0,0181	1,26 (0,31- 5,15)	0,75

14	T	T	C	A	T	G	T	0,0176	0,32 (0,09- 1,08)	0,066
15	T	G	C	A	C	G	C	0,0166	0,44 (0,14- 1,36)	0,15
16	C	T	C	A	C	G	T	0,0162	1,24 (0,26- 5,87)	0,79
17	T	T	C	A	T	A	C	0,0156	1,79 (0,37- 8,64)	0,47
18	C	T	C	G	T	G	C	0,0154	0,48 (0,13- 1,73)	0,26
19	T	T	T	A	T	G	T	0,0135	1,08 (0,3- 3,90)	0,9
20	C	T	T	G	C	G	C	0,0131	0,02 (0,00- 0,33)	0,0054
21	T	T	T	G	T	G	C	0,0119	3,13 (0,2- 48,03)	0,41
22	C	T	C	A	C	A	C	0,0113	0,64 (0,12- 3,53)	0,61
23	C	T	C	A	T	G	T	0,0107	0,99 (0,16- 5,98)	0,99
24 selten	*	*	*	*	*	*	*	0,1155	0,89 (0,52- 1,5)	0,65

7.10.2 Assoziation der Haplotypen mit chronischer Parodontitis in der adjustierten Population (Alter, Geschlecht, Rauchen)

Auch in der adjustierten Subpopulation nach Alter, Geschlecht und Raucherverhalten konnte eine Assoziation zwischen jeweils einem Haplotyp und der chronischen Parodontitis gefunden werden. Der Haplotyp T,T,C,A,T,G,C ($p=0,035$) und der Haplotyp T,T,T,A,C,G,C ($p=0,014$) wurden überzufällig häufig bei Individuen mit einer chronischen Parodontitis beobachtet (Tabelle 37).

Tabelle 37: Haplotypassoziation in der adjustierten Population (Alter, Geschlecht und Raucher)

FR: Frequenz; **OR:** Odds Ratio; **CI:** Konfidenzintervall

	rs 11584383	rs 11465804	rs 2274910	rs 9286879	rs 3737240	rs 2476601	rs 3024505	FR	OR (95% CI)	p- Wert
1	T	T	C	A	C	G	C	0,1724	1	...
2	T	T	C	A	T	G	C	0,1188	0,34 (0,12- 0,92)	0,035
3	T	T	T	A	C	G	C	0,0864	0,31 (0,12- 0,79)	0,014
4	C	T	C	A	C	G	C	0,0697	0,6 (0,33- 1,1)	0,1
5	T	T	C	G	C	G	C	0,0518	0,33 (0,10- 1,09)	0,068
6	T	T	C	A	C	G	T	0,0431	1,78 (0,18- 3,03)	0,72
7	C	T	C	A	T	G	C	0,0388	1,57 (0,42- 5,84)	0,5
8	T	T	C	G	T	G	C	0,0373	1,17 (0,33- 4,09)	0,081
9	T	T	T	A	T	G	C	0,0372	1,89 (0,62- 5,79)	0,26
10	C	T	T	A	C	G	C	0,0304	4,4 (0,7- 27,79)	0,12
11	C	T	T	A	T	G	C	0,03	0,26 (0,06- 1,12)	0,071

12	C	T	C	G	C	G	C	0,0231	4,45 (0,38- 51,53)	0,23
13	T	G	C	A	C	G	C	0,0193	0,33 (0,08- 1,33)	0,12
14	C	T	C	A	T	G	T	0,0178	1,5 (0,23- 9,7)	0,67
15	T	T	C	A	T	G	T	0,0159	0,32 (0,01- 10,91)	0,53
16	T	T	T	G	C	G	C	0,0147	6,22 (0,19- 198,81)	0,3
17	C	T	T	G	C	G	C	0,0145	0,00 (0,00- 3502,06)	0,42
18	T	T	C	A	T	A	C	0,0145	3,33 (0,16- 67,38)	0,43
19	C	T	C	A	C	G	T	0,0137	1,81 (0,09- 37,98)	0,7
20	C	T	C	A	C	A	C	0,0136	0,62 (0,10- 3,82)	0,61
21	T	G	C	A	T	G	C	0,01	4,46 (0,11- 181,18)	0,43
22 selten	*	*	*	*	*	*	*	0,1179	0,45 (0,19- 1,06)	0,068

7.11 Ergebnisse nach Anwendung der Bonferroni-Korrektur

Das Signifikanzniveau in dieser Studie nach Anwendung der Bonferroni-Korrektur wurde für 8 Polymorphismen auf 0,006 bestimmt. Auf den korrigierten Signifikanzniveau konnte nur noch für den Polymorphismus rs2274910 eine signifikante Assoziation der Genotypverteilung in der Subgruppe der Frauen nachgewiesen werden ($p=0,005$).

Bei den Haplotypen betrug der neu ermittelte p-Wert 0,002. Hier konnte nach Anwendung der Bonferroni-Korrektur für kein Haplotypen eine signifikante Assoziation mit der chronischen Parodontitis gefunden werden.

8 Diskussion

8.1 Fragestellung und Studiendesign

Durch genomweite Assoziationsstudien können Kandidatengene identifiziert werden, die eine wichtige Rolle bei der Pathogenese verschiedener Krankheiten spielen. Durch genomweite Assoziationsstudien konnte auch die Erkenntnis gewonnen werden, dass Krankheiten, die nicht unmittelbar verwandt sind, gleiche Suszeptibilitätsgene teilen können. Dies warf den Verdacht auf, dass Krankheiten wie zum Beispiel Typ II Diabetes und Tumoren oder Morbus Crohn und neurologische Erkrankungen, ähnliche oder teilweise gleiche pathophysiologische Verläufe haben könnten [241].

Schon seit 1981 wird eine Assoziation von Morbus Crohn und Parodontitis diskutiert. *Beitman et al.* konnten bei Morbus Crohn Patienten eine Gingivitis beobachten, welche unbehandelt zur einer Parodontitis führte [389]. *Flemming et al.* untersuchten den Schweregrad der parodontalen Erkrankungen bei Patienten mit Morbus Crohn und Colitis ulcerosa. Bei 93,5 % der Morbus Crohn Patienten konnte an mindestens einer Zahnoberfläche ein klinischer Attachmentverlust von 2 mm festgestellt werden und bei 28,3% der Patienten wurden Taschentiefen von mindestens 4 mm sondiert [390]. *Brandtzaeg* wiederum postulierte Ähnlichkeiten auch hinsichtlich der Immunantwort beider Krankheitsbilder [263]. Eine teilweise gemeinsame immunologische Pathogenese der chronischen Parodontitis und des Morbus Crohn könnte auf gleiche Suszeptibilitätsgene verweisen. Ziel dieser Studie war es zu testen, ob 8 Hoch-Risiko SNPs für Morbus Crohn an der Manifestation der chronischen Parodontitis beteiligt sind.

Da im Gegensatz zu direkten Assoziationsstudien bei genomweiten Assoziationsstudien keine a priori Hypothese über die Identität der kausalen Genvariante gestellt wird, konnten aus GWAs eine Vielzahl neuer potenziell pathologischer SNPs gewonnen werden. Ungefähr 40% dieser assoziierten SNPs befinden sich in intergenetischen Regionen und weitere 40% in nicht-kodierenden Intron-Regionen. Nur 12% der SNPs sind lokalisiert oder stehen in engem Kopplungsungleichgewicht mit proteinkodierenden Regionen [241, 391]. Diese Erkenntnis ist ein Hinweis darauf, dass intergenetische und nicht kodierende Regionen im Genom eine wichtige Rolle in der Manifestation einer Krankheit spielen

könnten und die genauere Rolle dieser SNPs näher, insbesondere in kandidatengen Studien, untersucht werden sollte. In vorliegender Studie befanden sich drei in GWAs identifizierte Polymorphismen auf intergenetischen Regionen (rs11584383, rs9286879, rs3024505), weitere drei auf Exon Regionen (rs3737240, rs13294, rs2476601) und zwei auf Intron Regionen (rs2274910, rs11465804).

In dieser Studie wurden Einzelnukleotidpolymorphismen (SNPs) als Marker zur Untersuchung ausgewählt, welche momentan die am häufigsten gewählten Varianten in der genetischen Forschung sind. Eine weitere Form der Marker, die in den letzten Jahren zunehmend häufiger in genetischen Studien herangezogen wurden, waren Mikro- bzw. Minisatellitenpolymorphismen oder auch Kopiezahlvariationen (Kapitel 2.5.1). Grund dafür war die Feststellung, dass zwei nicht verwandte Individuen sich auf der Basis der SNPs in circa nur 0,1% unterscheiden, wohingegen auf der Basis der Kopiezahlvariationen der genetische Unterschied bei ungefähr 1% liegt und somit erheblich größer ist [213, 392].

Um einen möglichen Zusammenhang zwischen den gewählten Polymorphismen und der chronischen Parodontitis erforschen zu können, wurde in der hier vorgelegten Studie die Methode einer direkten genetischen Assoziationsstudie angewandt. Hierfür wurden 352 Patienten mit einer chronischen Parodontitis untersucht und mit einer gesunden Kontrollgruppe von 587 Individuen verglichen. Es handelte sich also um eine bevölkerungsbasierte und nicht eine familienbasierte Studie, da die Rekrutierung der Probanden einfacher und im größeren Maße möglich war.

Es wurden Genotyp- und Allelfrequenzen für die verschiedenen Polymorphismen in beiden Gruppen berechnet und verglichen, um herauszufinden, ob ein Polymorphismus häufiger bei Parodontitispatienten anzutreffen war als bei gesunden Individuen. Da sich die untersuchten Polymorphismen alle am Chromosom 1 befinden, wurde zusätzlich eine Haplotypanalyse durchgeführt, um den Zusammenhang zwischen den Haplotypen und chronischer Parodontitis aufzuzeigen. Unter einem *Haplotyp* versteht man die allelische Konfiguration entlang eines Chromosomenstrangs bzw. ein Sequenzstück auf einer Chromatide [240].

Um eventuelle falsch-positive Assoziationen aufgrund der Einwirkung von Kovariablen zu vermeiden, wurden die wichtigsten Risikofaktoren für eine chronische Parodontitis bei der statistischen Auswertung als Kovariablen berücksichtigt (Alter, Geschlecht, Rauchen). Als Confounder wird eine Variable beschrieben, die die

Schätzung des relativen Risikos einer Genvariante beeinträchtigt, da sie mit der Krankheit assoziiert ist und somit eine Einflussvariable darstellt [240].

8.1.1 Auswahl der Studienpopulation

Direkte Assoziationsstudien, die auf dem Prinzip des Fall-Kontroll-Designs aufbauen, sind anfällig für Stratifikation. Stratifikation ist ein Phänomen welches auftritt, wenn durch unbemerkte Selektion der Probanden wie z.B. bei Auswahl der Studienpopulation aus Ethnien mit einem höheren Aufkommen der untersuchten Genvariante oder einer erhöhten Erkrankungsprävalenz, es zu einer zufälligen Verschiebung der Allelfrequenzen kommt, die nicht mit der Erkrankung in Verbindung steht. Aus solchen Populationen können positive Assoziationen entstehen, ohne dass ein tatsächlicher biologischer Zusammenhang zwischen den untersuchten Genmarkern und der Krankheit vorhanden ist [240, 283]. Um sicherzustellen, dass das Studienkollektiv in dieser Arbeit möglichst genetisch homogen und somit das Risiko der Stratifikation minimiert war, wurden die Probanden ausschließlich aus dem süddeutschen Raum mit Studienteilnehmern kaukasischer Herkunft zusammengestellt.

Die Genotypverteilung in der Kontrollgruppe sollte einem Hardy Weinberg Gleichgewicht entsprechen, um systematische Fehler (Stratifikation) bei der Zusammenstellung der Kontrollindividuen sowie Typisierungsfehler auszuschließen. In dieser Studie zeigte sich bei der Untersuchung des rs13294 eine signifikante Abweichung in der Kontrollgruppe. Diese Abweichung kann durch die erhöhte Ausfallrate (14%) und die kleine Population erklärt werden. Abweichungen vom HWE können auch durch Datenfehler bzw. Genotypisierungsfehler, der Gegenwart von Subpopulationen (Populationsstratifikation), Unterschiede in der Geschlechtsverteilung oder selektiver Paarung begründet werden [240]. Da die weiteren 7 Polymorphismen keine Abweichungen aufwiesen, erscheint ein prinzipieller systematischer Fehler in der Auswahl der Population aber eher unwahrscheinlich zu sein.

Direkte Assoziationsstudien benötigen eine hohe Fallanzahl, um eine starke Aussagekraft (power) zu haben. Da häufig der Effekt der gesuchten Genvariante gering ist, ist es schwer diesen in einer kleinen Population aufzuspüren. Gleichzeitig kann durch das Phänomen des sogenannten „jackpots“, welches die erste

Arbeitsgruppe ist, die eine signifikante Assoziation mit einem schwachen Locus publiziert, die Rolle der Genvariante überschätzt werden [283]. Die Überbewertung der Genvariante wird in Replikationsstudien gezeigt, die die zunächst beobachtete Assoziation nicht bestätigen.

Die Heterogenität des genetischen Hintergrunds einer Erkrankung erschwert ebenfalls das Aufspüren von Assoziationen bei kleinen Stichproben. Die genetische Heterogenität kennzeichnet einen klinisch nicht unterscheidbaren Phänotyp einer Krankheit, der durch mehrere Genkombinationen entstehen kann. Heutzutage besteht die Möglichkeit aussagekräftige Studienpopulationen zu erhalten, indem mehrere Populationen von verschiedenen Studiengruppen miteinander kombiniert werden [213]. In dieser Studie wurden 352 Patienten mit einer chronischen Parodontitis 587 Patienten aus der Kontrollgruppe gegenübergestellt, die Kontrollgruppe war somit fast doppelt so groß wie die Patientengruppe. Die Anzahl der Stichprobe von insgesamt 939 Individuen ist dennoch als kritisch anzusehen und die hier beschriebenen Ergebnisse sollten zunächst in Replikationsstudien verifiziert werden.

Patienten und Kontrollindividuen müssen anhand einheitlicher Kriterien in die Studie aufgenommen werden. In dieser Arbeit wurde zur Auswahl der Patienten mit dem Phänotyp einer chronischen Parodontitis die Klassifikation der American Association of Periodontology von 1999 genutzt [9]. Trotzdem stellt sich die Differenzierung der aggressiven und chronischen Parodontitis häufig als schwierig dar, wie *Mombelli et al.* betonten [393]. Die wichtigsten Merkmale, nach der Klassifikation der AAP, einer aggressiven Parodontitis sind die familiäre Häufung, der rapide Attachmentverlust und der schnelle Knochenschwund im Gegensatz zur chronischen Parodontitis die eher einen langsameren Verlauf aufweist [394]. Dennoch kann eine schwere Form einer chronischen Parodontitis oft nicht sicher von einer aggressiven Form unterschieden werden, da die klinischen Befunde einer subjektiven Beurteilung unterliegen. Es scheint aber, dass eine aggressive Form der Parodontitis eher in jüngeren Jahren auftritt was in Kombination mit der familiären Häufung bei der Differenzierung der zwei Krankheitsentitäten helfen kann [395]. Ein weiteres Problem in der Auswahl des Studienkollektivs ist die oft fälschliche Einteilung eines erkrankten Individuums in die Kontrollgruppe. Dies kann z.B. bei Patienten mit einer guten Mundhygiene vorkommen wodurch die klinische Manifestation einer chronischen Parodontitis unterdrückt wird oder wenn der Phänotyp erst in Kombination mit

Risikofaktoren wie z.B. Rauchen auftritt. Des Weiteren ist bekannt, dass eine chronische Parodontitis eher im fortgeschrittenen Alter auftritt und somit ein zunächst als „gesund“ eingestufte Patient zu einem späteren Zeitraum trotzdem noch erkranken kann [206].

Wünschenswert wäre eine ausgewogene Alters- und Geschlechtsverteilung zwischen der Patienten- und der Kontrollgruppe [396]. In dieser Studie betrug der Altersdurchschnitt in der Kontrollgruppe 47,1 Jahre, während in der Parodontitisgruppe der Altersdurchschnitt bei 52,4 Jahren lag. Die Differenz von ca. fünf Jahren muss bei der Interpretation der Daten berücksichtigt werden. Weiterhin war die Geschlechtsaufteilung in der Parodontitisgruppe ausgewogener als in der Kontrollgruppe und muss somit in den geschlechtsorientierten Verteilungen einbezogen werden.

8.1.2 Validität der verwendeten Genotypisierungsmethoden

Zum aktuellen Zeitpunkt gibt es mehrere Methoden für die Genotypisierung der SNPs. Für diese Studie wurde das MALDI TOF MS System (matrix assisted laser desorption/ionisation time of flight mass spectrometry) genutzt. Der große Vorteil der MALDI TOF Methode liegt in der Fähigkeit, eine Vielzahl von SNPs in einem einzelnen Experiment zu genotypisieren. Im Gegensatz zu anderen Methoden, wie z.B. einer Polymerasekettenreaktion (PCR) mit fluoreszierenden Sonden in Kombination mit einer Schmelzkurvenanalyse, basiert der Massenspektrometer auf der direkten Massenbestimmung von Produkten und nicht auf einer indirekten Analyse, bei der fluoreszenz- oder radioaktivmarkierte Sonden interpretiert werden. Dies bedeutet in der Praxis, dass bis zu 30.000 SNPs an einem Tag und mit reduzierten Kosten genotypisiert werden können [397].

Um die Qualität der DNA Proben sicherzustellen wurden diese standardmäßig auf Menge und Degradation überprüft und einer Polymerasekettenreaktion (PCR) unterzogen. 10% der PCR-Produkte werden auf Agarosegelen überprüft. Anschließend werden in den DNA Proben je 2% Negativ- und Positivkontrollen eingebaut und circa 10% der Proben werden doppelt genotypisiert und auf Fehler untersucht [384]. Diese Kontrollen im Arbeitsablauf erlauben es, von einer hohen Qualität der Ergebnisse auszugehen.

Trotzdem weist die Genotypisierung mittels MALDI TOF des Polymorphismus rs2476601 eine unbefriedigende Genotypisierungsquote von 50,8% auf. Die Ergebnisse des rs2476601 müssen daher mit Vorsicht interpretiert werden. Eine erneute Genotypisierung mittels einer anderen Methode, wie z.B. eine Schmelzkurvenanalyse mit Hybridisierungssonden und einer PCR Amplifikation, könnte die Ergebnisse für diesen Polymorphismus verifizieren. Hier ergibt sich die Möglichkeit die Primer in einer Reihe von vor-Tests auf ihre Spezifität zu testen und zu ermitteln. Diese Technik ist für die Analyse einzelner Polymorphismen besonders valide, ist aber gleichzeitig durch ihren hohen Aufwand teurer und zeitintensiver.

8.2 Vergleich der Frequenzen der Kontrollgruppen mit Kohorten der Literatur

Für verschiedene Loci können verschiedene Allel- und Genotypfrequenzen in unterschiedlichen geographischen Populationen beobachtet werden. Zugleich wird davon ausgegangen, dass sich Populationen mit ähnlichem ethnischen Hintergrund in den Allelfrequenzen gleichen [240].

Mit Hilfe von Referenzpopulationen konnte die Allel- und Genotypfrequenzen unserer Kontrollgruppe sowie der Minor- Allel- Frequenzen (MAF) den Populationen mit ähnlichem geografischem Hintergrund gegenübergestellt und verglichen werden.

Als erster Vergleich wurde die CEU-Population gewählt, die im Rahmen des HapMap-Projektes untersucht wurde (<http://hapmap.ncbi.nlm.nih.gov/hapmappopulations.html.en>). Bei der CEU-Population handelte es sich um 90 Personen aus Utah mit nord- und westeuropäischen Vorfahren (siehe Tabellen 38-39).

Eine weitere Kontrollgruppe wurde von der genomweiten Assoziationsstudie von *Barret et al.* [319] herangezogen. Hier handelte es sich um 4.829 Individuen mit europäischen Vorfahren. Diese Studie gab keine Genotyp- sondern nur Allel-Frequenzen an. Hier wurden 5 von 9 Polymorphismen beschrieben (Tabelle 38).

Die Kontrollgruppe dieser Studie wurde für den rs3737240 und den rs13294 der Kohorte von *Fischer et al.* [338], bei der 1465 (Panel 1) Individuen nordeuropäischer Abstammung untersucht wurden, gegenübergestellt. Auch in dieser Studie wurde nur die Frequenz der Minorallelen angegeben. Die Kontrollgruppe für den rs3024505

wurde mit der genomweiten Assoziationsstudie von *Franke et al.* [354] verglichen, bei der 15056 Individuen, alle europäischer Abstammung, untersucht worden sind. Auch hier wurde nur die Minor-Allel-Frequenz angegeben (Tabelle 38).

Betrachtet man die Tabelle 38, welche die Verteilung der Allelfrequenzen zwischen den verschiedenen Kohorten vergleicht, so erkennt man keine größeren Unterschiede zu den Allelfrequenzen und der Genotypverteilung in der Population der vorliegenden Studie. Auch die Genotypverteilungen zwischen der eigenen Kontrollgruppe und der CEU- Population stimmen mehrheitlich überein. Die Übereinstimmung der Daten dieser Studie mit vorhandenen Daten der Literatur deutet somit auf eine gleichmäßige Zusammenstellung der Kohorte und auf eine soweit fehlerfreie Genotypisierung hin.

Tabelle 38: Vergleich der Allelfrequenzen der eigenen Kontrollgruppe mit der CEU-Population, der *Barrett et al.* Kohorte, der *Fisher et al.* und der *Franke et al.* Kohorte.

MA: Minorallel

SNP	Allel	eigene Kontrollgruppe	CEU-Population	Barrett et. al Kohorte	Fisher et. al Kohorte	Franke et. al Kohorte
rs1158438 3	T	0,713	0,668	0,697	-	-
	MA:C	0,288	0,332	0,286	-	-
rs1146580 4	T	0,941	0,925	0,933	-	-
	MA:G	0,059	0,075	0,079	-	-
rs2274910	C	0,729	0,634	0,682	-	-
	MA:T	0,270	0,366	0,318	-	-
rs9286879	A	0,799	0,796	0,757	-	-
	MA:G	0,200	0,204	0,243	-	-
rs3737240	C	0,603	0,619	-	0,623	-
	MA:T	0,397	0,381	-	0,377	-
rs13294	G	0,614	0,619	-	0,615	-
	MA:A	0,386	0,381	-	0,385	-
rs2476601	G	0,933	0,883	0,899	-	-
	MA:A	0,067	0,117	0,086	-	-
rs3024505	C	0,850	0,819	-	-	0,843
	MA:T	0,150	0,181	-	-	0,157

Tabelle 39: Genotyp- Frequenzvergleich zwischen eigener Kontrollgruppe und der CEU-Population

SNP	Genotyp	eigene Kontrollgruppe	CEU- Population
rs11584383	TT	0,516	0,442
	TC	0,393	0,451
	CC	0,091	0,106
rs11465804	TT	0,886	0,911
	TG	0,114	0,089
	GG	0,002	0,001
rs2274910	CC	0,522	0,384
	CT	0,415	0,500
	TT	0,063	0,116
rs9286879	AA	0,637	0,628
	AG	0,325	0,336
	GG	0,038	0,035
rs3737240	CC	0,377	0,376
	CT	0,452	0,496
	TT	0,171	0,133
rs13294	GG	0,410	0,372
	GA	0,408	0,496
	AA	0,182	0,133
rs2476601	GG	0,877	0,775
	GA	0,112	0,216
	AA	0,010	0,009
rs3024505	CC	0,719	0,655
	CT	0,261	0,327
	TT	0,019	0,018

8.3 Interpretation der Ergebnisse

8.3.1 Interpretation der Ergebnisse für den rs2274910 und eventuelle Auswirkungen auf die Pathogenese der chronischen Parodontitis

Einen ersten Hinweis darauf, dass der rs2274910 eine Assoziation mit der Parodontitis haben könnte, stellt die signifikante Abweichung des Hardy-Weinberg-Gleichgewichts in der Parodontitisgruppe im Gegensatz zur Kontrollgruppe dar. Die Genotypverteilung vor und nach Korrektur der Population hinsichtlich der Risikofaktoren Alter, Geschlecht und Rauchen heben den rs2274910 als möglichen Risikofaktor für eine chronische Parodontitis hervor. Ähnlich signifikante Ergebnisse zeigten sich auch in der Genotypverteilung der Männer-, Frauen- und Nichtraucherpopulation, in denen der Genotyp TT in der Parodontitisgruppe häufiger anzutreffen war als in der Kontrollgruppe (Tabellen 28-30). Nach Korrektur der Daten für multiples Testen, konnte der rs2274910 als Risikofaktor in der Subpopulation der weiblichen Individuen identifiziert werden. Ein möglicher Einfluss des rs2274910 in der Pathogenese der Parodontitis wurde auch nach Anwendung einer multivariaten Analyse gezeigt. Diese Ergebnisse können unterschiedlich interpretiert werden: Der rs2274910 könnte auf eine Mutation deuten die einen wirklichen Risikofaktor für die chronische Parodontitis darstellt oder einfach nur einen Bereich gleichzeitig vererbter Loci repräsentieren, welche nur gemeinsam eine Rolle bei der Pathogenese der Parodontitis spielen könnten. Dies geht aus dieser Studie nicht eindeutig hervor und erfordert zukünftig weitere Untersuchungen.

Der rs2274910 befindet sich in der Intron Region vom proteinkodierenden Gen Intelektin1, auch als Omentin-1 bekannt. Beim Omentin-1 handelt es sich um ein Adipokin, das ausschließlich im viszeralen Anteil des weißen Fettgewebes produziert wird [325]. Omentin-1 scheint eine Rolle sowohl in der Regulation des Stoffwechsels, als auch in der Immunantwort zu spielen.

Das Fettgewebe wird heutzutage als endokrines Organ im Körper angesehen, welches Adipokine produziert und den Energiestoffwechsel reguliert. Omentin-1 kann durch Steigerung der AKT-Phosphorylierung die Glukoseaufnahme der Adipozyten erhöhen und ist außerdem für die Insulinsensibilität der Zellen zuständig [325]. Omentin-1 ist im Blut nachweisbar und seine Konzentrationen sind bei fettleibigen Patienten sowie bei Patienten mit Glukosetoleranz und Diabetes mellitus Typ2,

vermindert [326, 398]. Omentin-1-Konzentrationen steigen hingegen bei fettleibigen Patienten nach Gewichtverlust [399]. So werden Omentin-1-Konzentrationen mit Diabetes mellitus und Fettleibigkeit in Verbindung gebracht, beides chronische Erkrankungen, die mit einer chronischen Parodontitis assoziiert sind [130, 190, 191, 200]. Es wäre denkbar, dass Omentin-1 indirekt durch Exazerbation chronisch entzündlicher Krankheiten, die als Risikofaktor für eine chronische Parodontitis identifiziert wurden, eine chronische Parodontitis fördert. Eine erhöhte Konzentration von Omentin-1 wird in mehreren Studien bei Parasiteninfektionen [400, 401] sowie bakteriellen Infektionen [321, 402] und Asthma bronchiale [403] beschrieben. Weiterhin gilt Omentin-1 als ein kalziumabhängiges Adipokin, das sich spezifisch mit der Galaktofuranose bindet. Bei der Galaktofuranose handelt es sich um Bestandteile von Pathogenen, die aber nicht bei Säugetieren zu finden sind und als bakterienspezifisch gelten. Es wurde postuliert, dass Omentin-1 spezifische Pathogene und ihre bakteriellen Komponenten erkennt, die eine Schlüsselrolle im angeborenen immunologischen Abwehrmechanismus haben [323, 324, 404]. Die Erkennung und Exposition gegenüber bakteriellen Komponenten und ihre zentrale Rolle in der Aktivierung des Immunsystems ist in der Progression einer chronischen Parodontitis von großer Bedeutung. Aufgrund der vorliegenden Ergebnisse könnte angenommen werden, dass Veränderungen in der Expression von Omentin-1 auch in der Entwicklung einer Parodontitis mitwirken könnten.

Weitere Studien konnten zeigen, dass Omentin-1 anti-inflammatorisch auf endotheliale Zellen wirkt [405]. Ferner fanden *Zhong et al.* in ihrer Studie heraus, dass endotheliale Zellen, die mit Omentin-1 vorbehandelt und mit TNF- α stimuliert wurden, signifikant die Expression der Adhäsionsmoleküle VCAM-1 und ICAM-1 reduzieren [406]. VCAM-1 und ICAM-1 sind von außerordentlicher Bedeutung im frühen Stadium der Immunantwort und ermöglichen die Adhäsion von Leukozyten und deren Diffusion in vaskuläre endotheliale Zellen. Weiterhin wurde eine TNF- α angeregte Adhäsion von Monozyten auf endothelialen Zellen durch Omentin-1 inhibiert [406]. Beide Erkenntnisse deuten darauf hin, dass Omentin-1 bei der Abschwächung der vaskulären Entzündungsreaktion beteiligt ist [407]. So könnte vermutet werden, dass z.B. eine reduzierte Expression von Omentin-1 zu einer verstärkten oder gar unkontrollierten Entzündung führt und die Entstehung einer chronischen Parodontitis begünstigen kann.

Der rs2274910 wurde auch als Suszeptibilitäts-gen für Morbus Crohn, eine weitere chronisch-entzündliche Krankheit identifiziert [319]. Interessant dabei scheint die unterschiedliche Expression des Omentin-1 mRNAs, bei Patienten mit Morbus Crohn (hohe Expression bei 25% der Erkrankten, niedrige Expression bei 50% der Erkrankten, keine Expression bei 25% der Erkrankten), was die Rolle von Omentin-1 als potentiellen Kandidaten in chronisch entzündlichen Krankheiten bei Menschen hervorhebt [324, 404].

Es wurde schon früher postuliert, dass weitere Adipokine, zu denen auch Omentin-1 zugehört, wie Adiponektin und Visfatin, eine Rolle in der Entwicklung der Parodontitis spielen können. Adiponektin wirkt durch Suppression von TNF- α , IL-6 und der Stimulation von IL-1 Rezeptorantagonisten antiinflammatorisch und antidiabetisch. *Iwayama et al.* zeigten, dass Adiponektin eine positive Auswirkung für den Erhalt der Homöostase im parodontalen Gewebe, in der Verbesserung von parodontalen Läsionen und in der parodontalen Regeneration haben kann [408, 409]. Ferner berichteten *Yamaguchi et al.*, dass Adiponektin durch die beobachtete Verminderung seiner Rezeptoren (AdipoR1, AdipoR2) im oralen Gewebe bei einer chronischen Parodontitis seine Funktion nicht ausreichend nachgehen kann, was wiederum zu einer möglichen Verschlechterung der parodontalen Situation führen kann [409, 410]. Visfatin wurde in Entzündungszellen identifiziert und wird bei verschiedenen entzündlichen Entitäten, unter anderem auch der chronischen Parodontitis, verstärkt exprimiert [409]. In einer Studie von *Nogueira et al.* schienen orale Mikroorganismen die Visfatinsynthese zu stimulieren, was eine mögliche pathogenetische Rolle von Visfatin unterstreichen würde [411]. Eine weitere Studie konnte eine erhöhte Konzentration von Visfatin in der Sulkusflüssigkeit von Patienten, die an einer chronischen Parodontitis leiden, belegen. Die Autoren dieser Studie kamen zu dem Schluss, dass Visfatin als ein potentieller Marker sowie als potentieller Behandlungsansatz in der Therapie der Parodontalerkrankungen zukünftig genutzt werden könnte [409, 412, 413].

Wie genau sich das Omentin-1 auf die Entwicklung einer chronischen Parodontitis auswirkt und welcher Zusammenhang zwischen den verschiedenen Polymorphismen des rs2274910 und ihrer Auswirkung auf die Funktion von Omentin-1 besteht, müsste in zukünftigen Studien erforscht werden.

8.3.2 Interpretation der Ergebnisse für den rs9286879 und eventuelle Auswirkungen auf die Pathogenese der chronischen Parodontitis

In der Subpopulation der Frauen fand sich eine positive Assoziation mit der chronischen Parodontitis für den rs9286879, die allerdings nach Bonferroni-Korrektur, nicht erhalten blieb. Der rs9286879 ist ein Polymorphismus, der sich zwischen zwei Genen, FASLG und TNFSF18 befindet. Das Gen TNFSF18 spielt eine Rolle bei der Immunantwort von T-Zellen. Das Gen FASLG reguliert die Apoptose der T Zellen. Somit scheinen beide Gene in der Steuerung der Wirtsantwort beteiligt zu sein [307, 328, 329].

Die Apoptose ist der sogenannte programmierte Zelltod, der zur Elimination spezifischer Zellen führt, ohne die Gewebestruktur und -funktion des Organismus zu stören [414]. Der Komplex FAS-Rezeptor/FAS-Ligand ist einer der Pfade der Apoptose. Der FAS Rezeptor wird von unterschiedlichen Zellen, wie Fibroblasten und T-Zellen, exprimiert.

Die Apoptose stellt einen physiologischen Mechanismus dar und kann durch Anwesenheit parodontal pathogener Bakterien beschleunigt werden und z.B. dadurch eine Exazerbation einer marginalen Parodontitis fördern [415]. Eine Studie konnte, über eine durch *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* ausgelöste Parodontitis in Ratten, eine höhere Produktion von apoptosefördernden Faktoren, wie TNF- α und FASL, feststellen. Dieses Phänomen wurde mit erhöhtem Knochenverlust in Zusammenhang gebracht und führte zur Hypothese, dass die Regulation der Apoptose eine ätiopathogenetische Bedeutung für die Parodontitis haben könnte [416]. Ferner wurde der Komplex FAS-Rezeptor/FAS-Ligand mit der Entstehung einer chronischen Parodontitis in Zusammenhang gebracht [417]. Um den genaueren Mechanismus des FASLG im parodontalen Gewebe und die Auswirkung von rs9286879 in dessen Funktion zu verstehen, werden weitere Studien benötigt.

Das Protein, welches aus dem Gen TNFSF18 kodiert wird, ist ein Ligand für den Rezeptor TNFRSF18/AITR/GITR (auch bekannt als der *glucocorticoid-induced tumor necrosis factor-related receptor ligand* (GITR-L)) und in der Aktivierung der T-Zellen beteiligt. GITR-L aktiviert den Rezeptor GITR und wird von Makrophagen, dendritischen Zellen und B-Zellen exprimiert [418]. Die Aktivierung des GITR/ GITR-L

Weges führt als Co-Stimulator zu einer Proliferation der T-Zellen und einer Steigerung der Zytokinproduktion und veranlasst so eine Intensivierung der Immunantwort [328, 419-421]. Gleichzeitig bewirkt eine GITR/GITR-L-Stimulation an T-Gedächtniszellen eine Reduzierung oder sogar Inhibierung der T_{reg} Zellen- Effekte, da T_{reg} Zellen eine Immunsuppression einleiten und eine überschüssige Immunantwort kontrollieren können [419, 422, 423]. Es scheint, dass der GITR/GITR-L Weg eventuell ein Ansatz für die Manipulation der T-Zellenreaktion auf Pathogene darstellt [328]. Denkbar wäre beispielsweise, dass der GITR/GITR-L Weg in der Manipulation der T-Zellen als Behandlungsansatz bei der chronischen Parodontitis genutzt werden kann. Auch hier sind weitere Studien nötig, um einen genaueren Einblick in diesen Mechanismus zu bekommen und gleichzeitig herauszufinden, ob der Polymorphismus rs9286879 eine funktionelle Auswirkung auf das Gen und seine Produkte hat.

Der rs9286879 wurde auch als ein pathogenetisch häufiger Polymorphismus für entzündliche Darmerkrankungen, sowie Morbus Crohn identifiziert [319, 330].

8.3.3 Interpretation weiterer Ergebnisse

In dieser Studie konnte keine positive Assoziation zwischen einer chronischen Parodontitis und den Polymorphismen rs3737240 und rs13294 nachgewiesen werden. Beide Polymorphismen befinden sich am ECM1 Gen, welches wegen seiner Interaktion mit der Matrixmetalloproteinase 9 (MMP9) ein vielversprechender Kandidat bei der Forschung der Pathogenese der chronischen Parodontitis darstellen würde. Beim MMP9 handelt es sich um Typ-IV-Kollagenasen, die bei der Knochenresorption und im Geweberemodeling tätig sind [424, 425]. MMP9-Konzentrationen sind bei einer parodontalen Entzündung erhöht und reduzieren sich nach parodontaler Therapie [424, 426]. ECM1 ist wichtig bei der Kontrolle von MMP9, da es seine proteolytische Wirkung hemmt und so den Abbau parodontalen Gewebes verhindert [337]. Rs3737240 und rs13294 führen zu einer nichtsynonymen Mutation und somit zu einer Veränderung des Proteinprodukts des ECM1 Gens. Beim rs3737240 wurde der Verdacht geäußert, dass es sich um ein pathogenetisches SNP handeln könnte, welches zu einer exzessiven Kollagenproduktion führt [339]. Vorstellbar wäre, dass bei Patienten, die diese Mutationen tragen, eine chronische Parodontitis einen

schwereren Verlauf haben könnte, da die positive Wirkung des ECM1 nicht mehr gegeben wäre. Eventuell wäre eine Behandlung mit einem Ersatzprotein, welches das „defekte“ ECM1 Protein ersetzt, denkbar.

In dieser Studie konnte auch keine Verbindung zwischen dem rs11584383 und der Pathogenese der chronischen Parodontitis festgestellt werden. Die funktionelle Rolle dieses Polymorphismus ist insgesamt bis heute nicht abschließend geklärt. Das einzige Merkmal, dass bei dem Polymorphismus rs11584383 und allen in dieser Studie untersuchten Polymorphismen gleich war, war die Assoziation mit Morbus Crohn und weiteren entzündlichen Erkrankungen, wie Colitis ulcerosa und multipler Sklerose [295-297]. Eine Studie von *Glas et al.* konnte den IL-23 Rezeptor als Suszeptibilitätsgen für die chronische Parodontitis identifizieren. Der Polymorphismus rs10489629 konnte mit der Pathogenese der chronischen Parodontitis sowie aber auch des Morbus Crohn als Suszeptibilitätsgen in einer kaukasischen Population hervorgehoben werden und so Hinweise über die Bedeutung des IL-23 Rezeptors in der Pathogenese der Parodontitis liefern [252]. Der in unserer Studie untersuchte rs11465804 ist ein Polymorphismus, der sich in der Intron Region des IL-23 Rezeptor befindet. Dieser Rezeptor bindet mit dem IL-23 und führt zur weiteren Produktion proinflammatorischer Zytokine. Diese Zytokine bewirken die Rekrutierung von neutrophilen Granulozyten an die Seite der parodontalen Infektion und regulieren so die Immunantwort des Wirtes. Eine Dysfunktion dieses Rezeptors könnte die Entwicklung einer parodontalen Erkrankung stark beeinflussen [314]. Wie genau sich dieser Polymorphismus auf den IL-23 Rezeptor auswirkt, ist noch unbekannt. In dieser Studie konnte keine Verbindung des rs11465804 und der Pathogenese der chronischen Parodontitis festgestellt werden [318-320].

Ein weiterer Polymorphismus ist der rs2476601, der zu einer nichtsynonymen Mutation führt, indem er auf Aminosäureebene für Tryptophan statt für Arginin kodiert. Somit führt er zur Produktion einer stärker aktiven Phosphatase (sog. PTPN22) die noch effektiver die T-Zellen-Aktivierung inhibiert [342, 344]. Wie genau sich diese T-Zellen-Inhibierung auf die chronische Parodontitis auswirkt, ist nicht bekannt, aber der rs2476601 scheint aktiv eine Rolle in weiteren entzündlichen Krankheiten zu spielen, wie Diabetes mellitus Typ 1 und rheumatoide Arthritis, beides Krankheiten die stark mit Parodontalerkrankungen assoziiert werden [345, 349, 350]. Es wäre möglich, dass der rs2476601 gleichzeitig mehrere entzündliche Krankheiten

beeinflusst. In dieser Studie konnte keine Assoziation zwischen den rs2476601 und der chronischen Parodontitis belegt werden.

Der rs3024505 befindet sich am IL-10 Gen. Die Expression von IL-10 im parodontal geschädigten Gewebe wird mit einer antiinflammatorischen Wirkung und daraus resultierend mit einer Abschwächung des Attachmentverlusts verbunden [239]. So wurden weitere Polymorphismen im IL-10 Gen als Suszeptibilitätsgene für eine chronische Parodontitis beschrieben, wie z.B. der IL-10-592 SNP, der die Zytokinproduktion in Reaktion auf inflammatorische Stimuli verändern kann [239].

8.3.4 Interpretation der Ergebnisse der Haplotypanalyse

Eine tatsächliche Assoziation kann heutzutage durch einen einzelnen positiv assoziierten Polymorphismus, nicht ausreichend geklärt werden. Grund dafür ist, dass ein positiv assoziierter Polymorphismus kein Indiz eines pathogenetisch wirkenden SNP darstellen muss. Dieser SNP befindet sich möglicherweise nur im Kopplungsgleichgewicht mit dem tatsächlich kausalen SNP [427]. Darum werden Haplotypanalysen genutzt, um zu erforschen, ob bestimmte Allelfrequenzen häufiger bei erkrankten als bei gesunden Individuen auftreten. Da sich alle Polymorphismen am Chromosom 1 befinden, war es in dieser Studie möglich, eine Haplotypanalyse durchzuführen, um herauszufinden, ob bestimmte Allelkombinationen der Polymorphismen eher mit einer chronischen Parodontitis assoziiert sind. Auf dieser Weise konnte festgestellt werden, dass die Haplotypen 3 (T,T,T,A,C,G,C), 5 (T,T,CG,C,G,C), 11 (C,T,T,A,T,G,C) und 20 (C,T,T,G,C,G,C) mit einer höheren Wahrscheinlichkeit an einer chronischen Parodontitis zu erkranken, korrelieren. Die Haplotypen 3 (T,T,T,A,C,G,C), 11 (C,T,T,A,T,G,C) und 20 (C,T,T,G,C,G,C) enthalten das Minorallel T des schon in der Einzelanalyse signifikanten assoziierten Polymorphismus rs2274910. Nach Anpassung der Population hinsichtlich Alter, Geschlecht und Rauchen zeigten der Haplotyp T,T,C,A,T,G,C mit einem p-Wert von 0,035, sowie der Haplotyp T,T,T,A,C,G,C mit einem p-Wert von 0,014 der auch das signifikante T-Allel des rs2274910 in seiner Allelfrequenz trägt, weiterhin eine höhere Wahrscheinlichkeit an eine chronischen Parodontitis zu erkranken. Allerdings konnten diese signifikanten Assoziationen nach der Bonferroni-Korrektur nicht aufrecht erhalten bleiben. Dieses Resultat kann auf unterschiedlichen Arten interpretiert werden: Entweder haben diese Allelkombinationen keine wirkliche Auswirkung auf eine chronische Parodontitis oder die verschiedenen SNPs können sich

möglicherweise durch Gen-Gen Interaktionen oder sog. Epistase gegenseitig ausschalten [428].

8.4 Ausblick für die Zukunft

In den letzten Jahren nahm die Anzahl der Studien, die sich mit der Erbllichkeit von Erkrankungen beschäftigen, exponentiell zu. Die Anzahl der genomweiten Assoziationsstudien erstreckt sich auf mittlerweile 2111, wobei mehr als 2000 robuste Assoziationen für über 300 komplexe Krankheiten identifiziert werden konnten [429]. Addiert man die Studien, die andere Methoden zur Klärung der Erbllichkeit genutzt haben, wie z.B. direkte Assoziationen, wird das Ausmaß der generierten Daten verständlich. Die anfängliche Euphorie schwand durch die Erkenntnis, dass die identifizierten Loci häufig nur einen kleinen Teil der Erbllichkeit erklären können. Es stellte sich sogar die Frage, inwiefern diese Daten überhaupt in der Risikoeinschätzung oder in der klinischen Medizin verwendet werden können [241, 429-432]. Die Ungeduld der langsamen Umsetzung der genomischen Ergebnisse wird auch teils durch zu optimistische Szenarien für die klinische Anwendung dieser Ergebnisse und die steigende Anzahl neuer Studien angefacht [429, 433-436]. Fest aber steht, dass die meisten genomweiten Assoziationsstudien gerade erst 5 Jahre alt sind, die klinische Umsetzung wissenschaftlicher Entdeckungen jedoch geschätzte 17 Jahre bräuchte [429, 437].

Die zum jetzigen Zeitpunkt aus 7 genomweiten Assoziationsstudien implementierten Genvarianten können nur einen geringen Anteil der Erbllichkeit der Parodontitis erklären. Weitere Studien mit einer deutlich höheren Anzahl (>10.000) an gesunden und erkrankten Individuen müssten systematisch untersucht werden, um das vollständige Spektrum der kausalen Risikoallelen erfassen zu können. Obwohl die technische Ausrüstung hierfür erst seit 2006 vorhanden ist, gilt für andere komplexe chronische Erkrankungen, wie z.B. die entzündlichen Darmerkrankungen, die Suche nach relevanten Genvarianten als bereits vollendet. Dies zeigt das mögliche Potential derartiger Studien [438]. Erst mit der Erfassung aller Risikoallele, sowie deren detaillierten Untersuchung, können in Zukunft Erkenntnisse über die Entstehung und Verlauf einer chronischen Parodontitis hervorbringen, sowie die komplizierten Interaktionen der kausalen Genvarianten untereinander als auch mit Parametern wie z.B. der Umwelt oder dem Lebensstil aufschlüsseln. Genau auf diesen Erwartungen

beruht auch die sog. „*personalisierte Medizin*“ eine maßgeschneiderte Therapie, basierend auf Interaktionen zwischen genetischen-, klinischen- und Umweltfaktoren die ein Individuum beeinflussen können [439, 440]. Eine Reihe hochentwickelter Technologien (SNP-Genotypisierung, NextGen Sequenzierung, Omics Techniken, humane orale Bakterien-Identifizierungstests) wird in der personalisierten Medizin eingesetzt, um genetische-, Protein- sowie Bakterienprofile zu generieren [440]. Diese Daten können in Bereichen wie der Prognose-Diagnose, der Pharmakogenomik und der Genterapie parodontalerkrankter Individuen eingesetzt werden. Die einfachste Anwendung genetischer Informationen ist die Entwicklung prognostischer Tests. Ein prognostischer Test, wie z.B. der bereits auf dem Markt eingeführte IL-1 Test, soll die Wahrscheinlichkeit eines Patienten an einer chronischen Parodontitis zu erkranken aufzeigen und ihr individuell rasches Voranschreiten vorhersagen. Ein positiver Test bedeutet aber nicht, dass der Träger definitiv an einer chronischen Parodontitis erkranken wird, da ein Teil der nicht erkrankten Individuen als „Genotyp positiv“ und ein Teil schwer Erkrankter als „Genotyp-negativ“ diagnostiziert werden können [222, 441]. Erst nach der Entschlüsselung der chronischen Parodontitis auf genetischer Ebene wird es möglich sein mit einem prognostischen Test Individuen vor dem Erkrankungsausbruch zu erkennen und entsprechend die Umweltfaktoren, die zu einer unerwünschten Aktivierung der problematischen Gene führen können, zu modifizieren oder gar auszuschalten [441, 442].

Der Einfluss systemischer Erkrankungen in der Entwicklung einer Parodontalerkrankung ist gut etabliert. Die Wirkung der Parodontalerkrankungen auf eine Anzahl systemischer Erkrankungen, wie z.B: Diabetes, kardiovaskuläre Erkrankungen, rheumatoide Arthritis und Osteoporose, gewinnt zunehmend an Bedeutung. Diese doppelseitige Verlinkung der chronischen Parodontitis mit weiteren systemischen Erkrankungen wird als „*parodontale Medizin*“ bezeichnet. Die parodontale Medizin könnte dabei von größter Relevanz sein, da parodontale Erkrankungen leichter vermeidbar und in vielen Bereichen einfacher und kostengünstiger behandelbar sind als eine Vielzahl systemischer Erkrankungen. [443]. Ein Beispiel in der parodontalen Medizin ist die Verbesserung der glykämischen Kontrolle bei Patienten mit Diabetes nach einer Parodontalbehandlung [444]. Die zweiseitige Verlinkung könnte durch das Teilen gleicher oder ähnlicher genetischer Hintergründe erklärt werden oder durch gemeinsame Risikofaktoren- ein

Phänomen bekannt auch als „*Pleiotropie*“ [443]. So wurden z.B. chromosomale Regionen des IL10, die zuerst für den Typ 1 Diabetes Mellitus [445] und entzündliche Darmerkrankungen [354, 446] beschrieben wurden, später auch für die chronische Parodontitis identifiziert [447, 448]. Die Rolle des IL-23R bei der Parodontitis und weiteren entzündlichen Erkrankungen wurde im Kapitel 8.3.3 erläutert. Aus GWAs werden heute generierte Daten zur Medikamentenentwicklung genutzt, um den Rezeptor IL-23R an Patienten mit entzündlicher Darmerkrankung zu inhibieren [250, 429]. Dieser Ansatz könnte möglicherweise auch bei einer chronischen Parodontitis erfolgreich sein. Ferner hat IL-23R mehrere Varianten, die teilweise protektiv oder risikosteigend wirken. Eine Identifizierung dieser Varianten in der Zukunft könnte eine Rolle bei der Entscheidung spielen, ob eine IL-23 spezifische Therapie sinnvoll wäre [429]. Es wäre vorstellbar, dass die Behandlung der chronischen Parodontitis mit solchen Ansätzen sich gleichzeitig positiv auf entzündliche Darmerkrankungen auswirken könnte. Die parodontale Medizin eröffnet somit neue Wege in der Prävention, sowie der Therapie vieler systemischer Erkrankungen.

Betrachtet man die oben genannten Beispiele so wird die Signifikanz der genetischen Forschung verständlich. Die Forschung des Erbguts bietet uns die Möglichkeit, in der Zukunft Krankheiten mit innovativeren Mittel zu bekämpfen oder sogar den Ausbruch dieser zu vermeiden.

9 Zusammenfassung

Die chronische Parodontitis und weitere chronisch entzündliche Erkrankungen, wie Morbus Crohn, stellen komplexe multifaktorielle Krankheiten dar. Obwohl pathogene Bakterien und verschiedene Umweltfaktoren bei der Pathogenese der Parodontitis mitwirken, können diese nur einen Teil der Variabilität innerhalb von definierten Populationen der Erkrankung erklären. So spielen genetische Faktoren eine wichtige Rolle bei der Entstehung einer chronischen Parodontitis.

In dieser Arbeit wurden die Polymorphismen rs11584383, rs11465804, rs2274910, rs9286879, rs3737240, rs13294, rs2476601 und rs3024505 ausgewählt, die alle auf dem Chromosom 1 liegen und zuvor als Suszeptibilitätsgene für Morbus Crohn und andere entzündliche chronische Krankheiten in genomweiten Assoziationsstudien identifiziert wurden. Die DNA von 352 Patienten mit einer chronischen Parodontitis und 587 gesunden Individuen, alle kaukasischer Herkunft, wurde untersucht. Die Genotypisierung erfolgte mittels der MALDI TOF MS Technik.

Für den Polymorphismus rs2274910 konnte eine signifikante Assoziation mit der chronischen Parodontitis festgestellt werden, die sich risikoverstärkend auf die Pathogenese einer chronischen Parodontitis auswirken könnte. Der rs2274910 befindet sich in der Intron Region vom proteinkodierenden Omentin-1-Gen. Bei Omentin-1 handelt es sich um ein Adipokin, welches eine entscheidende Rolle in der Immunantwort sowie in der Regulation des Stoffwechsels spielt. Omentin-1 wird mit Diabetes mellitus Typ 2 sowie Adipositas in Verbindung gebracht, beides Krankheiten die mit einer chronischen Parodontitis assoziiert sind.

Für die übrigen 7 Polymorphismen konnte keine Assoziation mit der chronischen Parodontitis nachgewiesen werden. In der Haplotypanalyse war ebenfalls keine Allelkombination mit der chronischen Parodontitis assoziiert.

10 Anhang

10.1 Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Entwicklung mittelschwerer und schwerer Parodontalerkrankungen bei 35- bis 44-jährigen erwachsenen Patienten in Deutschland von 1997 bis 2005 [15].. 5

Abbildung 2: Assoziationen zwischen den verschiedenen Keimen in den mikrobiellen Komplexen sowie zwischen den verschiedenen mikrobiellen Komplexen [38]..... 9

Abbildung 3: Schematische Darstellung eines MALDI TOF Massenspektrometers. Die Analyten (Quelle) werden durch Laserbeschuss ionisiert, in einem elektrischen Feld beschleunigt und ins Flugrohr überführt. Im Flugrohr werden die Analyten-Ionen abhängig von Masse-/Ladungsverhältniss (m/z) aufgetrennt. Ionen mit hohen m/z Werten treffen, im Gegensatz zu Ionen mit kleinen m/z Werten, langsamer am Detektor an. Der Detektor übermittelt dem Computer durch ein geeignetes Signal die Daten und so können die verschiedenen Genotypen zugeordnet werden. 46

10.2 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Klassifikation der Parodontalerkrankungen nach Armitage [9]. Gekürzte Version [14]	3
Tabelle 2: Merkmale der Studienpopulation	51
Tabelle 3: Exakter Test für Hardy-Weinberg-Gleichgewicht	52
Tabelle 4: Allelfrequenz des rs11584383 mit p-Wert und OR (CI=95%) in der Studienpopulation	53
Tabelle 5: Genotypverteilung des rs11584383 mit p-Wert (2x4 Felder Chi-Quadrat-Test)	53
Tabelle 6: Genotypfrequenz des rs11584383 mit den verschiedenen Vererbungsmodellen in der Studienpopulation	53
Tabelle 7: Allelfrequenz des rs11465804 mit p-Wert und OR (CI=95%) in der Studienpopulation	54
Tabelle 8: Genotypverteilung des rs11465804 mit p-Wert (2x4 Felder Chi-Quadrat-Test)	54
Tabelle 9: Genotypfrequenz des rs11465804 mit den verschiedenen Vererbungsmodellen in der Studienpopulation	55
Tabelle 10: Allelfrequenz des rs2274910 mit p-Wert und OR (CI=95%) in der Studienpopulation	56
Tabelle 11: Genotypverteilung des rs2274910 mit p-Wert (2x4 Felder Chi-Quadrat-Test)	56
Tabelle 12: Genotypfrequenz des rs2274910 mit den verschiedenen Vererbungsmodellen in der Studienpopulation	56
Tabelle 13: Allelfrequenz des rs9286879 mit p-Wert und OR (CI=95%) in der Studienpopulation	57
Tabelle 14: Genotypverteilung des rs9286879 mit p-Wert (2x4 Felder Chi-Quadrat-Test)	57
Tabelle 15: Genotypfrequenz des rs9286879 mit den verschiedenen Vererbungsmodellen in der Studienpopulation	58
Tabelle 16: Allelfrequenz des rs3737240 mit p-Wert und OR (CI=95%) in der Studienpopulation	58
Tabelle 17: Genotypverteilung des rs3737240 mit p-Wert (2x4 Felder Chi-Quadrat-Test)	59

Tabelle 18: Genotypfrequenz des rs3737240 mit den verschiedenen Vererbungsmodellen in der Studienpopulation	59
Tabelle 19: Allelfrequenz des rs13294 mit p-Wert und OR (CI=95%) in der Studienpopulation	60
Tabelle 20: Genotypverteilung des rs13294 mit p-Wert (2x4 Felder Chi-Quadrat-Test)	60
Tabelle 21: Genotypfrequenz des rs13294 mit den verschiedenen Vererbungsmodellen in der Studienpopulation	60
Tabelle 22: Allelfrequenz des rs2476601 mit p-Wert und OR (CI=95%) in der Studienpopulation	61
Tabelle 23: Genotypverteilung des rs2476601 mit p-Wert (2x4 Felder Chi-Quadrat-Test)	61
Tabelle 24: Genotypfrequenz des rs2476601 mit den verschiedenen Vererbungsmodellen in der Studienpopulation	62
Tabelle 25: Allelfrequenz des rs3024505 mit p-Wert und OR (CI=95%) in der Studienpopulation	62
Tabelle 26: Genotypverteilung des rs3024505 mit p-Wert (2x4 Felder Chi-Quadrat-Test)	63
Tabelle 27: Genotypfrequenz des rs3024505 mit den verschiedenen Vererbungsmodellen in der Studienpopulation	63
Tabelle 28: Genotypverteilung in der männlichen Subpopulation mit p-Wert (2x4 Felder Chi-Quadrat-Test).....	64
Tabelle 29: Genotypverteilung in der Frauenpopulation mit p-Wert (2x4 Felder Chi-Quadrat-Test)	66
Tabelle 30: Genotypverteilung in der Subpopulation der Nichtraucher mit p-Wert (2x4 Felder Chi-Quadrat-Test).....	67
Tabelle 31: Genotypverteilung in der Subpopulation der Raucher mit p-Wert (2x4 Felder Chi-Quadrat-Test).....	68
Tabelle 32: Likelihood-Quotienten-Tests.....	69
Tabelle 33: D´ Statistik für die Kopplungsungleichgewichtsanalyse der SNP	70
Tabelle 34: R Statistik für die Kopplungsungleichgewichtsanalyse der SNP	71
Tabelle 35: Haplotyp-Frequenz-Schätzung	73
Tabelle 36: Haplotypen in der Gesamtpopulation (n=924)	76

Tabelle 37: Haplotypassoziation in der adjustierten Population (Alter, Geschlecht und Raucher).....	79
Tabelle 38: Vergleich der Allelfrequenzen der eigenen Kontrollgruppe mit der CEU-Population ,der <i>Barrett et al.</i> Kohorte, der <i>Fisher et al.</i> und der <i>Franke et al.</i> Kohorte.	89
Tabelle 39: Genotyp- Frequenzvergleich zwischen eigener Kontrollgruppe und der CEU-Population.....	90

10.3 Abkürzungsverzeichnis

3HPA	3-Hydroxypicolinsäure
A	Adenin
A. actinomycetencomitans	Aggregatibacter actinomycetencomitans
Ad-PDGF	Ad-Blutplättchen freigesetzte Wachstumsfaktoren
AIC	Akaike Information Kriterion
AIDS	Aquired Immunodeficiency Syndrome
APC	Antigen-präsentierenden Zelle
ATP	Adenosintriphosphat
BOP	Bleeding on Probing
C	Cytosin
ca.	Zirka
CEU	Central European Utah Residents
CI	Konfidenzintervall
CMI	cell mediated immunity
D	Disequilibriumskoeffizienten
ddNTPs	Didesoxynukleosidtriphosphate
DMS	Deutsche Mundgesundheitsstudie
DNA	Deoxyribunucleic Acid
dNTPs	Desoxynukleosidtriphosphate
ECM1	extrazelulläres Protein 1
EDTA	Ethylendiamintetraacetat
ELAM	Endothel-Leukozyten Adhäsionsmolekül
EM-Algorithmus	Erwartung-Maximierungs-Algorithmus
EPS	extrazelluläre polymere Substanzen
et al.	et alii (und andere)
FASLG	Tumor-Nekrosen-Faktor-Superfamilien- Liganden Mitglied
FG	Freiheitsgrade
FR	Frequenz
G	Guanin

GITR-L	glucocorticoid- induced tumor necrosis factor-related receptor ligand
GTP	Guanosin-Triphosphat
GWAs	genomweite Assoziationsstudie
HIV	humane Immunschwächevirus
HLA	Human Leucocyte Antigen
HWE	Hardy-Weinberg-Gleichgewicht
ICAM	interzelluläres Adhäsionsmolekül
IDZ	Institut der deutschen Zahnärzte
IFN	Interferon
Ig	Immunglobulin
IL	Interleukin
IL-R	Interleukin Rezeptor
ITLN	Intelektin
ITP	Inosin-Triphosphat
JAK	Janus-Kinase
kB	kiloBasen
KIF	kinesin family member
Ko	Kontrollgruppe
KuFR	kumulative Frequenz
LAD	Leukozytenadhäsion-Defizienz-Syndrom
LD	Linkage Disequilibrium
LPS	Lipopolysaccharid
MA	Minoralell
MAF	Minorallelfrequenz
MALDI TOF MS	matrix assisted laser desorption/ionisation time of flight mass spectrometry
MHC	Haupthistokompatibilitätskomplex
MMP	Matrixmetalprotease
mRNA	Messenger Ribonucleic Acid
MROH3P	maestro heat-like repeat family member 3
NF-κB	Nuclear Factor kappa B
NK Zellen	natürliche Killerzellen
nl	Nanoliter

NUG	nekrotisierenden ulzerierenden Formen der Gingivitis
NUP	nekrotisierenden ulzerierenden Formen der Parodontitis
°C	Grad Celsius
OPG	Osteoprotegrin
OR	Odds Ratio
P. gingivalis	Porphyromonas gingivalis
Pa	Parodontitisgruppe
PA	Parodontitis
PCR	Polymerasen Ketten Reaktion
PGE ₂	Prostaglandin 2
PMN	Polymorphkernige Granylozyten
PTPN22	Protein-Tyrosin-Phosphatase, Nicht-Rezeptor Typ 22
r ²	Korrelationskoeffizient
RANK	Receptor Activator of Nuclear Factor κB
RANKL	RANK-Ligand
RANTES	regulated on activation, normal T-cell expressed and secreted
SAP	Shrimp Alkaline Phosphatase
SNP	Single Nucleotide Polymorphism
STAT	Signal Transducers and Activators of Transcription
T	Thymidin
TCR	T-Zell-Antigen-Rezeptor
TGF	transformierenden Wachstumsfaktor
Th-Zellen	T- Helfer-Zellen
TIMP	Tissue Inhibitor of Metalloprotease
TNF- α	Tumornekrosenfaktor Alpha
TNFSF	Tumor-Nekrosen-Faktor-Liganden-Superfamilien Mitglied
TREG	regulatorische T-Zellen
TST	Taschentiefen

u.a.	unter anderem
UTR	Untranslatierte Region
VCAM	vaskuläres Adhäsionsmolekül
z.B.	zum Beispiel
χ^2	Chi-Quadrat-Test

11 Literaturverzeichnis

1. Pihlstrom, B.L., B.S. Michalowicz, and N.W. Johnson, *Periodontal diseases*. Lancet, 2005. **366**(9499): p. 1809-20.
2. Albandar, J.M., *Epidemiology and risk factors of periodontal diseases*. Dent Clin North Am, 2005. **49**(3): p. 517-32, v-vi.
3. Darveau, R.P., A. Tanner, and R.C. Page, *The microbial challenge in periodontitis*. Periodontol 2000, 1997. **14**: p. 12-32.
4. Kornman, K.S., *Mapping the pathogenesis of periodontitis: a new look*. J Periodontol, 2008. **79**(8 Suppl): p. 1560-8.
5. Michalowicz, B.S., et al., *Periodontal findings in adult twins*. J Periodontol, 1991. **62**(5): p. 293-9.
6. Michalowicz, B.S., et al., *A twin study of genetic variation in proportional radiographic alveolar bone height*. J Dent Res, 1991. **70**(11): p. 1431-5.
7. Michalowicz, B.S., et al., *Evidence of a substantial genetic basis for risk of adult periodontitis*. J Periodontol, 2000. **71**(11): p. 1699-707.
8. Corey, L.A., et al., *Self-reported periodontal disease in a Virginia twin population*. J Periodontol, 1993. **64**(12): p. 1205-8.
9. Armitage, G.C., *Development of a classification system for periodontal diseases and conditions*. Ann Periodontol, 1999. **4**(1): p. 1-6.
10. DGP, *Klassifikationen der Parodontalerkrankungen*. 2002, Quintessenz Verlag-GMBH;bERLIN.
11. Papapanou, P.N., *Periodontal diseases: epidemiology*. Ann Periodontol, 1996. **1**(1): p. 1-36.

12. Beer R., B.M., Kielbassa A.M., *Taschenatlas der Endodontie*. Vol. 1. Auflage. 2004: Thieme Verlag.
13. Heidemann, *Parodontologie*. 2005: Elsevier, Urban&FischerVerlag.
14. Rateitschak K.H., W.H.F., *Farbatlant der Zahnmedizin 1, Parodontologie*. Vol. 3. Auflage. 2004: Thieme Verlag
15. (IDZ), *Vierte Deutsche Mundgesundheitsstudie (DMS IV) Kurzfassung*. 2006.
16. Corbet, E.F. and W.K. Leung, *Epidemiology of periodontitis in the Asia and Oceania regions*. *Periodontol 2000*, 2011. **56**(1): p. 25-64.
17. Albandar, J.M. and T.E. Rams, *Global epidemiology of periodontal diseases: an overview*. *Periodontol 2000*, 2002. **29**: p. 7-10.
18. Lindhe, J., S. Hamp, and H. Loe, *Experimental periodontitis in the beagle dog*. *J Periodontal Res*, 1973. **8**(1): p. 1-10.
19. Loe, H., E. Theilade, and S.B. Jensen, *Experimental Gingivitis in Man*. *J Periodontol*, 1965. **36**: p. 177-87.
20. Loesche, W.J., *Chemotherapy of dental plaque infections*. *Oral Sci Rev*, 1976. **9**: p. 65-107.
21. Slots, J., *The predominant cultivable organisms in juvenile periodontitis*. *Scand J Dent Res*, 1976. **84**(1): p. 1-10.
22. Slots, J., *The predominant cultivable microflora of advanced periodontitis*. *Scand J Dent Res*, 1977. **85**(2): p. 114-21.
23. Page, R.C. and H.E. Schroeder, *Pathogenesis of inflammatory periodontal disease. A summary of current work*. *Lab Invest*, 1976. **34**(3): p. 235-49.
24. Nisengard, R.J., *The role of immunology in periodontal disease*. *J Periodontol*, 1977. **48**(9): p. 505-16.

25. Seymour, G.J., R.N. Powell, and W.I. Davies, *Conversion of a stable T-cell lesion to a progressive B-cell lesion in the pathogenesis of chronic inflammatory periodontal disease: an hypothesis*. J Clin Periodontol, 1979. **6**(5): p. 267-77.
26. Page, R.C. and H.E. Schroeder, *Current status of the host response in chronic marginal periodontitis*. J Periodontol, 1981. **52**(9): p. 477-91.
27. Van Dyke, T.E., *Role of the neutrophil in oral disease: receptor deficiency in leukocytes from patients with juvenile periodontitis*. Rev Infect Dis, 1985. **7**(3): p. 419-25.
28. Seymour, G.J., *Possible mechanisms involved in the immunoregulation of chronic inflammatory periodontal disease*. J Dent Res, 1987. **66**(1): p. 2-9.
29. Ranney, R.R., *Immunologic mechanisms of pathogenesis in periodontal diseases: an assessment*. J Periodontal Res, 1991. **26**(3 Pt 2): p. 243-54.
30. Lindhe, J., S.E. Hamp, and H. Loe, *Plaque induced periodontal disease in beagle dogs. A 4-year clinical, roentgenographical and histometrical study*. J Periodontal Res, 1975. **10**(5): p. 243-55.
31. Loe, H., et al., *Natural history of periodontal disease in man. Rapid, moderate and no loss of attachment in Sri Lankan laborers 14 to 46 years of age*. J Clin Periodontol, 1986. **13**(5): p. 431-45.
32. Loe, H., et al., *The natural history of periodontal disease in man. The rate of periodontal destruction before 40 years of age*. J Periodontol, 1978. **49**(12): p. 607-20.
33. Preber, H. and J. Bergstrom, *Occurrence of gingival bleeding in smoker and non-smoker patients*. Acta Odontol Scand, 1985. **43**(5): p. 315-20.
34. Preber, H. and J. Bergstrom, *Cigarette smoking in patients referred for periodontal treatment*. Scand J Dent Res, 1986. **94**(2): p. 102-8.
35. Bergstrom, J., *Periodontitis and smoking: an evidence-based appraisal*. J Evid Based Dent Pract, 2006. **6**(1): p. 33-41.

36. Haber, J., et al., *Evidence for cigarette smoking as a major risk factor for periodontitis*. J Periodontol, 1993. **64**(1): p. 16-23.
37. Bissada, N.F., et al., *Neutrophil functional activity in juvenile and adult onset diabetic patients with mild and severe periodontitis*. J Periodontal Res, 1982. **17**(5): p. 500-2.
38. Socransky, S.S., et al., *Microbial complexes in subgingival plaque*. J Clin Periodontol, 1998. **25**(2): p. 134-44.
39. Gibbons, R.J., D.I. Hay, and D.H. Schlesinger, *Delineation of a segment of adsorbed salivary acidic proline-rich proteins which promotes adhesion of Streptococcus gordonii to apatitic surfaces*. Infect Immun, 1991. **59**(9): p. 2948-54.
40. Müller, H.-P., *Parodontologie*. 2001: Thieme Verlag.
41. Schatzle, M., et al., *Clinical course of chronic periodontitis. I. Role of gingivitis*. J Clin Periodontol, 2003. **30**(10): p. 887-901.
42. Marsh, P.D., *Microbial ecology of dental plaque and its significance in health and disease*. Adv Dent Res, 1994. **8**(2): p. 263-71.
43. Paster, B.J., et al., *Bacterial diversity in human subgingival plaque*. J Bacteriol, 2001. **183**(12): p. 3770-83.
44. Theilade, E., et al., *Experimental gingivitis in man. II. A longitudinal clinical and bacteriological investigation*. J Periodontal Res, 1966. **1**: p. 1-13.
45. Offenbacher, S., *Periodontal diseases: pathogenesis*. Ann Periodontol, 1996. **1**(1): p. 821-78.
46. Williams, R.C., *Understanding and managing periodontal diseases: a notable past, a promising future*. J Periodontol, 2008. **79**(8 Suppl): p. 1552-9.
47. Isogai, H., et al., *Specific inhibition of adherence of an oral strain of Bacteroides gingivalis 381 to epithelial cells by monoclonal antibodies against the bacterial fimbriae*. Arch Oral Biol, 1988. **33**(7): p. 479-85.

48. Feng, Z. and A. Weinberg, *Role of bacteria in health and disease of periodontal tissues*. *Periodontol 2000*, 2006. **40**: p. 50-76.
49. Naito, Y. and R.J. Gibbons, *Attachment of Bacteroides gingivalis to collagenous substrata*. *J Dent Res*, 1988. **67**(8): p. 1075-80.
50. Amano, A., et al., *Structural domains of Porphyromonas gingivalis recombinant fimbriin that mediate binding to salivary proline-rich protein and statherin*. *Infect Immun*, 1996. **64**(5): p. 1631-7.
51. Lamont, R.J. and H.F. Jenkinson, *Life below the gum line: pathogenic mechanisms of Porphyromonas gingivalis*. *Microbiol Mol Biol Rev*, 1998. **62**(4): p. 1244-63.
52. Holt, S.C., et al., *Virulence factors of Porphyromonas gingivalis*. *Periodontol 2000*, 1999. **20**: p. 168-238.
53. Jain, S. and R.P. Darveau, *Contribution of Porphyromonas gingivalis lipopolysaccharide to periodontitis*. *Periodontol 2000*, 2010. **54**(1): p. 53-70.
54. Slots, J., et al., *The occurrence of Actinobacillus actinomycetemcomitans, Bacteroides gingivalis and Bacteroides intermedius in destructive periodontal disease in adults*. *J Clin Periodontol*, 1986. **13**(6): p. 570-7.
55. Zambon, J.J., *Actinobacillus actinomycetemcomitans in human periodontal disease*. *J Clin Periodontol*, 1985. **12**(1): p. 1-20.
56. Fives-Taylor, P.M., et al., *Virulence factors of Actinobacillus actinomycetemcomitans*. *Periodontol 2000*, 1999. **20**: p. 136-67.
57. Finlay, B.B. and S. Falkow, *Comparison of the invasion strategies used by Salmonella cholerae-suis, Shigella flexneri and Yersinia enterocolitica to enter cultured animal cells: endosome acidification is not required for bacterial invasion or intracellular replication*. *Biochimie*, 1988. **70**(8): p. 1089-99.
58. Finlay, B.B. and S. Falkow, *Common themes in microbial pathogenicity revisited*. *Microbiol Mol Biol Rev*, 1997. **61**(2): p. 136-69.

59. Hammond, B.F., S.E. Lillard, and R.H. Stevens, *A bacteriocin of Actinobacillus actinomycetemcomitans*. Infect Immun, 1987. **55**(3): p. 686-91.
60. Stevens, R.H., S.E. Lillard, and B.F. Hammond, *Purification and biochemical properties of a bacteriocin from Actinobacillus actinomycetemcomitans*. Infect Immun, 1987. **55**(3): p. 692-7.
61. Iwase, M., et al., *Effects of cations and osmotic protectants on cytolytic activity of Actinobacillus actinomycetemcomitans leukotoxin*. Infect Immun, 1990. **58**(6): p. 1782-8.
62. Taichman, N.S., et al., *Comparative studies on the biology of Actinobacillus actinomycetemcomitans leukotoxin in primates*. Oral Microbiol Immunol, 1987. **2**(3): p. 97-104.
63. Karakelian, D., et al., *Characterization of Actinobacillus actinomycetemcomitans leukotoxin pore formation in HL60 cells*. Biochim Biophys Acta, 1998. **1406**(2): p. 175-87.
64. Fux, C.A., et al., *Survival strategies of infectious biofilms*. Trends Microbiol, 2005. **13**(1): p. 34-40.
65. Wimpenny, J., W. Manz, and U. Szewzyk, *Heterogeneity in biofilms*. FEMS Microbiol Rev, 2000. **24**(5): p. 661-71.
66. Stoodley, P., et al., *Biofilms as complex differentiated communities*. Annu Rev Microbiol, 2002. **56**: p. 187-209.
67. Anwar, H., J.L. Strap, and J.W. Costerton, *Establishment of aging biofilms: possible mechanism of bacterial resistance to antimicrobial therapy*. Antimicrob Agents Chemother, 1992. **36**(7): p. 1347-51.
68. Jensen, E.T., et al., *Human polymorphonuclear leukocyte response to Pseudomonas aeruginosa grown in biofilms*. Infect Immun, 1990. **58**(7): p. 2383-5.

69. Parsek, M.R. and E.P. Greenberg, *Acyl-homoserine lactone quorum sensing in gram-negative bacteria: a signaling mechanism involved in associations with higher organisms*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2000. **97**(16): p. 8789-93.
70. Davey, M.E. and A. O'Toole G, *Microbial biofilms: from ecology to molecular genetics*. Microbiol Mol Biol Rev, 2000. **64**(4): p. 847-67.
71. Page, R.C., et al., *Advances in the pathogenesis of periodontitis: summary of developments, clinical implications and future directions*. Periodontol 2000, 1997. **14**: p. 216-48.
72. Schiott, C.R. and H. Loe, *The origin and variation in number of leukocytes in the human saliva*. J Periodontal Res, 1970. **5**(1): p. 36-41.
73. Raeste, A.M., T. Tapanila, and R. Tupakka, *Leukocyte migration into the healthy dentulous mouth. A study in children, adolescents and adults*. J Periodontal Res, 1977. **12**(6): p. 444-9.
74. Konstantinidis, A.V., *Parodontology*, ed., , and 2003, Thessaloniki: Privately Published.
75. Schroeder, H.E. and M.A. Listgarten, *The gingival tissues: the architecture of periodontal protection*. Periodontol 2000, 1997. **13**: p. 91-120.
76. Socransky, S.S. and A.D. Haffajee, *Microbial mechanisms in the pathogenesis of destructive periodontal diseases: a critical assessment*. J Periodontal Res, 1991. **26**(3 Pt 2): p. 195-212.
77. Loesche, W.J., *Bacterial mediators in periodontal disease*. Clin Infect Dis, 1993. **16 Suppl 4**: p. S203-10.
78. Robert J. Genco, S.H., Thomas Lehner, Jerry Mc Ghee, Stephan Mergenhagen *Molecular Pathogenesis of Periodontal Disease*. Bacterial polysaccharides as microbial virulence factors, ed. R.E. Schifferle. Vol. 28. 1994, Washington: ASM Press pp.

79. Wilson, M., *Biological activities of lipopolysaccharides from oral bacteria and their relevance to the pathogenesis of chronic periodontitis*. Sci Prog, 1995. **78 (Pt 1)**: p. 19-34.
80. Schifferle, R.E., et al., *Activation of serum complement by polysaccharide-containing antigens of Porphyromonas gingivalis*. J Periodontal Res, 1993. **28(4)**: p. 248-54.
81. Kinane, D.F., et al., *Etiopathogenesis of periodontitis in children and adolescents*. Periodontol 2000, 2001. **26**: p. 54-91.
82. Roitt, I., Brostoff, J.& Male, D, *Immunology*. 1996, London: Mosby: Thieme Verlag.
83. Henry O. Towbridge, R.C.E., *Inflammation. A review of the Process*. 1997, Chigago: Quintessence Publishing Co.
84. Goldsby, R.A.K., T.J, Osborne, B.A., *Kuby Immunology*. 2000, New York: W.H. Freeman and Co.
85. Meyle, J., *Leukocyte adhesion deficiency and prepubertal periodontitis*. Periodontol 2000, 1994. **6**: p. 26-36.
86. Michalowicz, B.S., *Genetic and heritable risk factors in periodontal disease*. J Periodontol, 1994. **65(5 Suppl)**: p. 479-88.
87. Meyle, J. and J.R. Gonzales, *Influences of systemic diseases on periodontitis in children and adolescents*. Periodontol 2000, 2001. **26**: p. 92-112.
88. Richard A. Goldsby , T.J.K., Barbara A. Osborne, *Kuby Immunology*. 4th edition ed. 2000: W H Freeman & Co (Sd).
89. Dennison, D.K. and T.E. Van Dyke, *The acute inflammatory response and the role of phagocytic cells in periodontal health and disease*. Periodontol 2000, 1997. **14**: p. 54-78.
90. Miyasaki, K.T., *The neutrophil: mechanisms of controlling periodontal bacteria*. J Periodontol, 1991. **62(12)**: p. 761-74.

91. Kornman, K.S., R.C. Page, and M.S. Tonetti, *The host response to the microbial challenge in periodontitis: assembling the players*. *Periodontol 2000*, 1997. **14**: p. 33-53.
92. Page, R.C. and K.S. Kornman, *The pathogenesis of human periodontitis: an introduction*. *Periodontol 2000*, 1997. **14**: p. 9-11.
93. Manthey, C.L. and S.N. Vogel, *Interactions of lipopolysaccharide with macrophages*. *Immunol Ser*, 1994. **60**: p. 63-81.
94. Fultz, M.J., et al., *Induction of IFN-gamma in macrophages by lipopolysaccharide*. *Int Immunol*, 1993. **5**(11): p. 1383-92.
95. Carswell, E.A., et al., *An endotoxin-induced serum factor that causes necrosis of tumors*. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1975. **72**(9): p. 3666-70.
96. Khalil, N., et al., *Regulation of alveolar macrophage transforming growth factor-beta secretion by corticosteroids in bleomycin-induced pulmonary inflammation in the rat*. *J Clin Invest*, 1993. **92**(4): p. 1812-8.
97. Beuscher, H.U., et al., *Transition from interleukin 1 beta (IL-1 beta) to IL-1 alpha production during maturation of inflammatory macrophages in vivo*. *J Exp Med*, 1992. **175**(6): p. 1793-7.
98. Durum, S.K., J.A. Schmidt, and J.J. Oppenheim, *Interleukin 1: an immunological perspective*. *Annu Rev Immunol*, 1985. **3**: p. 263-87.
99. Temeles, D.S., et al., *Cytokine expression from bone marrow derived macrophages*. *Exp Hematol*, 1993. **21**(2): p. 388-93.
100. van Heeckeren, A.M., et al., *Tumor necrosis factor alpha, interleukin-1 alpha, interleukin-6, and prostaglandin E2 production in murine peritoneal macrophages infected with Ehrlichia risticii*. *Infect Immun*, 1993. **61**(10): p. 4333-7.
101. Benjamin, D., C.D. Park, and V. Sharma, *Human B cell interleukin 10*. *Leuk Lymphoma*, 1994. **12**(3-4): p. 205-10.

102. Moore, K.W., et al., *Interleukin-10*. *Annu Rev Immunol*, 1993. **11**: p. 165-90.
103. Heinzl, F.P., et al., *Interleukin 12 is produced in vivo during endotoxemia and stimulates synthesis of gamma interferon*. *Infect Immun*, 1994. **62**(10): p. 4244-9.
104. Wolf, S.F., et al., *Cloning of cDNA for natural killer cell stimulatory factor, a heterodimeric cytokine with multiple biologic effects on T and natural killer cells*. *J Immunol*, 1991. **146**(9): p. 3074-81.
105. Grabstein, K.H., et al., *Cloning of a T cell growth factor that interacts with the beta chain of the interleukin-2 receptor*. *Science*, 1994. **264**(5161): p. 965-8.
106. Yu, X. and D.T. Graves, *Fibroblasts, mononuclear phagocytes, and endothelial cells express monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1) in inflamed human gingiva*. *J Periodontol*, 1995. **66**(1): p. 80-8.
107. Alvares, O., et al., *Growth factor effects on the expression of collagenase and TIMP-1 in periodontal ligament cells*. *J Periodontol*, 1995. **66**(7): p. 552-8.
108. Ohshima, M., K. Otsuka, and K. Suzuki, *Interleukin-1 beta stimulates collagenase production by cultured human periodontal ligament fibroblasts*. *J Periodontal Res*, 1994. **29**(6): p. 421-9.
109. Irwin, C.R., S.L. Schor, and M.W. Ferguson, *Effects of cytokines on gingival fibroblasts in vitro are modulated by the extracellular matrix*. *J Periodontal Res*, 1994. **29**(5): p. 309-17.
110. Okamoto, Y., et al., *Interleukin-1 alpha produced in human gingival fibroblasts induces several activities related to the progression of periodontitis by direct contact*. *J Periodontal Res*, 1996. **31**(5): p. 355-64.
111. Arai, H., et al., *Response of human gingival fibroblasts to prostaglandins*. *J Periodontal Res*, 1995. **30**(5): p. 303-11.

112. Mosmann, T.R., et al., *Two types of murine helper T cell clone. I. Definition according to profiles of lymphokine activities and secreted proteins.* J Immunol, 1986. **136**(7): p. 2348-57.
113. Gaffen, S.L. and G. Hajishengallis, *A new inflammatory cytokine on the block: re-thinking periodontal disease and the Th1/Th2 paradigm in the context of Th17 cells and IL-17.* J Dent Res, 2008. **87**(9): p. 817-28.
114. Gemmell, E., R.I. Marshall, and G.J. Seymour, *Cytokines and prostaglandins in immune homeostasis and tissue destruction in periodontal disease.* Periodontol 2000, 1997. **14**: p. 112-43.
115. Gemmell, E., K. Yamazaki, and G.J. Seymour, *Destructive periodontitis lesions are determined by the nature of the lymphocytic response.* Crit Rev Oral Biol Med, 2002. **13**(1): p. 17-34.
116. Weaver, C.T., et al., *IL-17 family cytokines and the expanding diversity of effector T cell lineages.* Annu Rev Immunol, 2007. **25**: p. 821-52.
117. Ghilardi, N. and W. Ouyang, *Targeting the development and effector functions of TH17 cells.* Semin Immunol, 2007. **19**(6): p. 383-93.
118. Kolls, J.K. and A. Linden, *Interleukin-17 family members and inflammation.* Immunity, 2004. **21**(4): p. 467-76.
119. Gaffen, S.L., et al., *The IL-17 cytokine family.* Vitam Horm, 2006. **74**: p. 255-82.
120. Kramer, J.M. and S.L. Gaffen, *Interleukin-17: a new paradigm in inflammation, autoimmunity, and therapy.* J Periodontol, 2007. **78**(6): p. 1083-93.
121. Graves, D.T. and D. Cochran, *The contribution of interleukin-1 and tumor necrosis factor to periodontal tissue destruction.* J Periodontol, 2003. **74**(3): p. 391-401.
122. Cochran, D.L., *Inflammation and bone loss in periodontal disease.* J Periodontol, 2008. **79**(8 Suppl): p. 1569-76.

123. Lerner, U.H., *Inflammation-induced bone remodeling in periodontal disease and the influence of post-menopausal osteoporosis*. J Dent Res, 2006. **85**(7): p. 596-607.
124. Boyle, W.J., W.S. Simonet, and D.L. Lacey, *Osteoclast differentiation and activation*. Nature, 2003. **423**(6937): p. 337-42.
125. Mizuno, A., et al., *Transgenic mice overexpressing soluble osteoclast differentiation factor (sODF) exhibit severe osteoporosis*. J Bone Miner Metab, 2002. **20**(6): p. 337-44.
126. Nakashima, T., et al., *Protein expression and functional difference of membrane-bound and soluble receptor activator of NF-kappaB ligand: modulation of the expression by osteotropic factors and cytokines*. Biochem Biophys Res Commun, 2000. **275**(3): p. 768-75.
127. Clohisy, J.C., et al., *Direct inhibition of NF-kappa B blocks bone erosion associated with inflammatory arthritis*. J Immunol, 2003. **171**(10): p. 5547-53.
128. Belibasakis, G.N. and N. Bostanci, *The RANKL-OPG system in clinical periodontology*. J Clin Periodontol, 2012. **39**(3): p. 239-48.
129. Kinane, D.F., *Periodontitis modified by systemic factors*. Ann Periodontol, 1999. **4**(1): p. 54-64.
130. Nunn, M.E., *Understanding the etiology of periodontitis: an overview of periodontal risk factors*. Periodontol 2000, 2003. **32**: p. 11-23.
131. Salvi, G.E., et al., *Influence of risk factors on the pathogenesis of periodontitis*. Periodontol 2000, 1997. **14**: p. 173-201.
132. Bissada, N.F. and R.G. Abdelmalek, *Incidence of cervical enamel projections and its relationship to furcation involvement in Egyptian skulls*. J Periodontol, 1973. **44**(9): p. 583-5.
133. Hou, G.L. and C.C. Tsai, *Relationship between periodontal furcation involvement and molar cervical enamel projections*. J Periodontol, 1987. **58**(10): p. 715-21.

134. Croft, L.K., *Periodontal abscess from enamel pearl*. Oral Surg Oral Med Oral Pathol, 1971. **32**(1): p. 154.
135. Goldstein, A.R., *Enamel pearls as contributing factor in periodontal breakdown*. J Am Dent Assoc, 1979. **99**(2): p. 210-1.
136. Shiloah, J. and R.A. Kopczyk, *Developmental variations of tooth morphology and periodontal disease*. J Am Dent Assoc, 1979. **99**(4): p. 627-30.
137. Vincent, J.W., *Developmental anomalies in the etiology and treatment of periodontal disease*. Gen Dent, 1979. **27**(2): p. 24-9.
138. Withers, J.A., et al., *The relationship of palato-gingival grooves to localized periodontal disease*. J Periodontol, 1981. **52**(1): p. 41-4.
139. Leknes, K.N., T. Lie, and K.A. Selvig, *Root grooves: a risk factor in periodontal attachment loss*. J Periodontol, 1994. **65**(9): p. 859-63.
140. Ainamo, J., *Relationship between malalignment of the teeth and periodontal disease*. Scand J Dent Res, 1972. **80**(2): p. 104-10.
141. Eismann, D. and R. Prusas, *Periodontal findings before and after orthodontic therapy in cases of incisor cross-bite*. Eur J Orthod, 1990. **12**(3): p. 281-3.
142. El-Mangoury, N.H., S.M. Gaafar, and Y.A. Mostafa, *Mandibular anterior crowding and periodontal disease*. Angle Orthod, 1987. **57**(1): p. 33-8.
143. al-Jasser, N. and H. Hashim, *Periodontal findings in cases of incisor cross-bite*. J Clin Pediatr Dent, 1995. **19**(4): p. 285-7.
144. Jensen, B.L. and B. Solow, *Alveolar bone loss and crowding in adult periodontal patients*. Community Dent Oral Epidemiol, 1989. **17**(1): p. 47-51.
145. Nunn, M.E. and S.K. Harrel, *The effect of occlusal discrepancies on periodontitis. I. Relationship of initial occlusal discrepancies to initial clinical parameters*. J Periodontol, 2001. **72**(4): p. 485-94.

146. Jernberg, G.R., M.B. Bakdash, and K.M. Keenan, *Relationship between proximal tooth open contacts and periodontal disease*. J Periodontol, 1983. **54**(9): p. 529-33.
147. Bjorn, A.L., H. Bjorn, and B. Grkovic, *Marginal fit of restorations and its relation to periodontal bone level. I. Metal fillings*. Odontol Revy, 1969. **20**(3): p. 311-21.
148. Bjorn, A.L., H. Bjorn, and B. Grkovic, *Marginal fit of restorations and its relation to periodontal bone level. II. Crowns*. Odontol Revy, 1970. **21**(3): p. 337-46.
149. Lang, N.P., R.A. Kiel, and K. Anderhalden, *Clinical and microbiological effects of subgingival restorations with overhanging or clinically perfect margins*. J Clin Periodontol, 1983. **10**(6): p. 563-78.
150. Sorensen, S.E., I.B. Larsen, and K.D. Jorgensen, *Gingival and alveolar bone reaction to marginal fit of subgingival crown margins*. Scand J Dent Res, 1986. **94**(2): p. 109-14.
151. Diamanti-Kipiotti, A., F.A. Gusberti, and N.P. Lang, *Clinical and microbiological effects of fixed orthodontic appliances*. J Clin Periodontol, 1987. **14**(6): p. 326-33.
152. Pindborg, J.J., *Tobacco and gingivitis: statistical examination of the significance of tobacco in the development of ulceromembranous gingivitis and in the formation of calculus*. J Dent Res, 1947. **26**(3): p. 261-4.
153. Kinane, D.F. and I.G. Chestnutt, *Smoking and periodontal disease*. Crit Rev Oral Biol Med, 2000. **11**(3): p. 356-65.
154. Bergstrom, J. and S. Eliasson, *Cigarette smoking and alveolar bone height in subjects with a high standard of oral hygiene*. J Clin Periodontol, 1987. **14**(8): p. 466-9.
155. Stoltenberg, J.L., et al., *Association between cigarette smoking, bacterial pathogens, and periodontal status*. J Periodontol, 1993. **64**(12): p. 1225-30.
156. McGuire, M.K. and M.E. Nunn, *Prognosis versus actual outcome. III. The effectiveness of clinical parameters in accurately predicting tooth survival*. J Periodontol, 1996. **67**(7): p. 666-74.

157. McGuire, M.K. and M.E. Nunn, *Prognosis versus actual outcome. IV. The effectiveness of clinical parameters and IL-1 genotype in accurately predicting prognoses and tooth survival.* J Periodontol, 1999. **70**(1): p. 49-56.
158. Grossi, S.G., et al., *Assessment of risk for periodontal disease. I. Risk indicators for attachment loss.* J Periodontol, 1994. **65**(3): p. 260-7.
159. Haber, J., *Cigarette smoking: a major risk factor for periodontitis.* Compendium, 1994. **15**(8): p. 1002, 1004-8 passim; quiz 1014.
160. Clarke, N.G., B.C. Shephard, and R.S. Hirsch, *The effects of intra-arterial epinephrine and nicotine on gingival circulation.* Oral Surg Oral Med Oral Pathol, 1981. **52**(6): p. 577-82.
161. Kinane, D.F. and M. Radvar, *The effect of smoking on mechanical and antimicrobial periodontal therapy.* J Periodontol, 1997. **68**(5): p. 467-72.
162. Cuff, M.J., et al., *The presence of nicotine on root surfaces of periodontally diseased teeth in smokers.* J Periodontol, 1989. **60**(10): p. 564-9.
163. Johnson, G.K. and C.C. Organ, *Prostaglandin E2 and interleukin-1 concentrations in nicotine-exposed oral keratinocyte cultures.* J Periodontal Res, 1997. **32**(5): p. 447-54.
164. Raulin, L.A., et al., *The effect of nicotine on the attachment of human fibroblasts to glass and human root surfaces in vitro.* J Periodontol, 1988. **59**(5): p. 318-25.
165. Hanes, P.J., G.S. Schuster, and S. Lubas, *Binding, uptake, and release of nicotine by human gingival fibroblasts.* J Periodontol, 1991. **62**(2): p. 147-52.
166. AAP, A.A.o.P., *Position paper: tobacco use and the periodontal patient.* Journal of Periodontology, 1996. **67**: p. 51-56.
167. Noble, R.C. and B.B. Penny, *Comparison of leukocyte count and function in smoking and nonsmoking young men.* Infect Immun, 1975. **12**(3): p. 550-5.
168. Kenney, E.B., et al., *The effect of cigarette smoke on human oral polymorphonuclear leukocytes.* J Periodontal Res, 1977. **12**(4): p. 227-34.

169. Corberand, J., et al., *In vitro effect of tobacco smoke components on the functions of normal human polymorphonuclear leukocytes*. *Infect Immun*, 1980. **30**(3): p. 649-55.
170. MacFarlane, G.D., et al., *Refractory periodontitis associated with abnormal polymorphonuclear leukocyte phagocytosis and cigarette smoking*. *J Periodontol*, 1992. **63**(11): p. 908-13.
171. Numabe, Y., et al., *Phagocytic function of salivary PMN after smoking or secondary smoking*. *Ann Periodontol*, 1998. **3**(1): p. 102-7.
172. Haber, J., Brinnell, C.&Crowley, M., *Antibodies to periodontal Pathogens in cigarette smoking*. *Journal of Dental Research* 1993α((special issue)): p. Abstract 1126.
173. Tew, J.G., Zhang, J-B., Quinn, S. et al., *Antibody of the IGg2 subclass, Actinobacillus actinomycetemcomitans, and early-onset periodontitis*. *Journal of Periodontology*, 1996. **67**((Suppl)): p. 317-322.
174. Ah, M.K., et al., *The effect of smoking on the response to periodontal therapy*. *J Clin Periodontol*, 1994. **21**(2): p. 91-7.
175. Preber, H. and J. Bergstrom, *Effect of cigarette smoking on periodontal healing following surgical therapy*. *J Clin Periodontol*, 1990. **17**(5): p. 324-8.
176. Genco, R.J., et al., *Models to evaluate the role of stress in periodontal disease*. *Ann Periodontol*, 1998. **3**(1): p. 288-302.
177. Moss, M.E., et al., *Exploratory case-control analysis of psychosocial factors and adult periodontitis*. *J Periodontol*, 1996. **67**(10 Suppl): p. 1060-9.
178. Croucher, R., et al., *The relationship between life-events and periodontitis. A case-control study*. *J Clin Periodontol*, 1997. **24**(1): p. 39-43.
179. Russell, A.L., *Periodontal diseases in well- and malnourished populations. A preliminary report*. *Arch Environ Health*, 1962. **5**: p. 153-7.
180. Ramfjord, S.P., et al., *Epidemiological studies of periodontal diseases*. *Parodontol Acad Rev*, 1968. **2**(3): p. 109-22.

181. Armitage, G.C., et al., *Low prevalence of a periodontitis-associated interleukin-1 composite genotype in individuals of Chinese heritage*. J Periodontol, 2000. **71**(2): p. 164-71.
182. Waerhaug, J., *Prevalence of periodontal disease in Ceylon. Association with age, sex, oral hygiene, socio-economic factors, vitamin deficiencies, malnutrition, betel and tobacco consumption and ethnic group. Final report*. Acta Odontol Scand, 1967. **25**(2): p. 205-31.
183. Genco, R.J., *Current view of risk factors for periodontal diseases*. J Periodontol, 1996. **67**(10 Suppl): p. 1041-9.
184. Grossi, S.G., et al., *Assessment of risk for periodontal disease. II. Risk indicators for alveolar bone loss*. J Periodontol, 1995. **66**(1): p. 23-9.
185. Streckfus, C.F., et al., *Relationship between oral alveolar bone loss and aging among African-American and Caucasian individuals*. Gerontology, 1999. **45**(2): p. 110-4.
186. Johnson, B.D., et al., *Aging or disease? Periodontal changes and treatment considerations in the older dental patient*. Gerodontology, 1989. **8**(4): p. 109-18.
187. Van der Velden, U., *Effect of age on the periodontium*. J Clin Periodontol, 1984. **11**(5): p. 281-94.
188. Norderyd, O.M., et al., *Periodontal status of women taking postmenopausal estrogen supplementation*. J Periodontol, 1993. **64**(10): p. 957-62.
189. Reinhardt, R.A., et al., *Influence of estrogen and osteopenia/osteoporosis on clinical periodontitis in postmenopausal women*. J Periodontol, 1999. **70**(8): p. 823-8.
190. Kinane, D.F. and I.G. Chestnutt, *Relationship of diabetes to periodontitis*. Curr Opin Periodontol, 1997. **4**: p. 29-34.
191. Rees, T.D., *The diabetic dental patient*. Dent Clin North Am, 1994. **38**(3): p. 447-63.
192. Tervonen, T. and R.C. Oliver, *Long-term control of diabetes mellitus and periodontitis*. J Clin Periodontol, 1993. **20**(6): p. 431-5.

193. Thorstensson, H., *Periodontal disease in adult insulin-dependent diabetics*. Swed Dent J Suppl, 1995. **107**: p. 1-68.
194. Taylor, G.W., *Bidirectional interrelationships between diabetes and periodontal diseases: an epidemiologic perspective*. Ann Periodontol, 2001. **6**(1): p. 99-112.
195. Murray, P.A., *Periodontal diseases in patients infected by human immunodeficiency virus*. Periodontol 2000, 1994. **6**: p. 50-67.
196. Glick, M., et al., *Oral manifestations associated with HIV-related disease as markers for immune suppression and AIDS*. Oral Surg Oral Med Oral Pathol, 1994. **77**(4): p. 344-9.
197. Robertson, P.B., et al., *Periodontal status of patients with abnormalities of the immune system. II. Observations over a 2-year period*. J Periodontol, 1980. **51**(2): p. 70-3.
198. Stashenko, P., et al., *Helper and suppressor T cells in periodontal disease*. J Periodontal Res, 1985. **20**(5): p. 515-21.
199. Steidley, K.E., et al., *A comparison of T4:T8 lymphocyte ratio in the periodontal lesion of healthy and HIV-positive patients*. J Periodontol, 1992. **63**(9): p. 753-6.
200. Bezerra, S., *Obesity and Periodontal disease: why suggest such relationship? An overview*. Braz. J. Oral. Science, 2007. **6**(23): p. 1420-1422.
201. Nishimura, F. and Y. Murayama, *Periodontal inflammation and insulin resistance--lessons from obesity*. J Dent Res, 2001. **80**(8): p. 1690-4.
202. Saito, T., et al., *Relationship between obesity, glucose tolerance, and periodontal disease in Japanese women: the Hisayama study*. J Periodontal Res, 2005. **40**(4): p. 346-53.
203. Laine, M.L., B.G. Loos, and W. Crielaard, *Gene polymorphisms in chronic periodontitis*. Int J Dent, 2010. **2010**: p. 324719.
204. Newman, T., Klokkevold, Carranza, *Genetic Factors Associated with Periodontal Disease*, in *Carranza's Clinical periodontology*. 2006, Saunders.

205. Parra, G., et al., *Comparative gene prediction in human and mouse*. *Genome Res*, 2003. **13**(1): p. 108-17.
206. Kinane, D.F. and T.C. Hart, *Genes and gene polymorphisms associated with periodontal disease*. *Crit Rev Oral Biol Med*, 2003. **14**(6): p. 430-49.
207. Ye, S., et al., *An efficient procedure for genotyping single nucleotide polymorphisms*. *Nucleic Acids Res*, 2001. **29**(17): p. E88-8.
208. Nielsen, R., *Population genetic analysis of ascertained SNP data*. *Hum Genomics*, 2004. **1**(3): p. 218-24.
209. Takashiba, S. and K. Naruishi, *Gene polymorphisms in periodontal health and disease*. *Periodontol 2000*, 2006. **40**: p. 94-106.
210. Strachan T, R.A., *Instability of the human genome:mutatin and DNA repair*, in *Human Molecular Genetics*. 1999, Wiley-Liss: New York.
211. Propping, P. and S. Aretz, *[The genetic revolution-impact on therapy and prevention]*. *Internist (Berl)*, 2004. **45 Suppl 1**: p. S6-14.
212. Sven Cichon, J.F., Peter Propping, Markus M. Nöthen, *Variabilität im menschlichen Genom*. *Deutsches Ärzteblatt*, 2002(46): p. 3091-3101.
213. Folwaczny, M., *Aspekte der Genetik in der Pathogenese der Parodontitis*. *Parodontologie*, 2012. **23**(1): p. 65-81.
214. Knippers, R., *Eine kurze Geschichte der Genetik*. 2012: Springer.
215. Redon, R., et al., *Global variation in copy number in the human genome*. *Nature*, 2006. **444**(7118): p. 444-54.
216. Iafrate, A.J., et al., *Detection of large-scale variation in the human genome*. *Nat Genet*, 2004. **36**(9): p. 949-51.
217. Kinane, D.F., H. Shiba, and T.C. Hart, *The genetic basis of periodontitis*. *Periodontol 2000*, 2005. **39**: p. 91-117.

218. Tabor, H.K., N.J. Risch, and R.M. Myers, *Candidate-gene approaches for studying complex genetic traits: practical considerations*. Nat Rev Genet, 2002. **3**(5): p. 391-7.
219. Eichner, J.E., et al., *Apolipoprotein E polymorphism and cardiovascular disease: a HuGE review*. Am J Epidemiol, 2002. **155**(6): p. 487-95.
220. Stashenko, P., et al., *Levels of interleukin 1 beta in tissue from sites of active periodontal disease*. J Clin Periodontol, 1991. **18**(7): p. 548-54.
221. Ishihara, Y., et al., *Gingival crevicular interleukin-1 and interleukin-1 receptor antagonist levels in periodontally healthy and diseased sites*. J Periodontal Res, 1997. **32**(6): p. 524-9.
222. Kornman, K.S., et al., *The interleukin-1 genotype as a severity factor in adult periodontal disease*. J Clin Periodontol, 1997. **24**(1): p. 72-7.
223. McDevitt, M.J., et al., *Interleukin-1 genetic association with periodontitis in clinical practice*. J Periodontol, 2000. **71**(2): p. 156-63.
224. Laine, M.L., et al., *Polymorphisms of the interleukin-1 gene family, oral microbial pathogens, and smoking in adult periodontitis*. J Dent Res, 2001. **80**(8): p. 1695-9.
225. Gore, E.A., et al., *Interleukin-1beta+3953 allele 2: association with disease status in adult periodontitis*. J Clin Periodontol, 1998. **25**(10): p. 781-5.
226. Meisel, P., et al., *Smoking and polymorphisms of the interleukin-1 gene cluster (IL-1alpha, IL-1beta, and IL-1RN) in patients with periodontal disease*. J Periodontol, 2002. **73**(1): p. 27-32.
227. Papapanou, P.N., et al., *Interleukin-1 gene polymorphism and periodontal status. A case-control study*. J Clin Periodontol, 2001. **28**(5): p. 389-96.
228. Rogers, M.A., et al., *Do interleukin-1 polymorphisms predict the development of periodontitis or the success of dental implants?* J Periodontal Res, 2002. **37**(1): p. 37-41.

229. Kobayashi, T., et al., *The interleukin-1 and Fcγ receptor gene polymorphisms in Japanese patients with rheumatoid arthritis and periodontitis*. J Periodontol, 2007. **78**(12): p. 2311-8.
230. Sakellari, D., et al., *No correlation of five gene polymorphisms with periodontal conditions in a Greek population*. J Clin Periodontol, 2006. **33**(11): p. 765-70.
231. Anusaksathien, O., et al., *Distribution of interleukin-1β(+3954) and IL-1α(-889) genetic variations in a Thai population group*. J Periodontol, 2003. **74**(12): p. 1796-802.
232. Mundy, G.R., *Cytokines and growth factors in the regulation of bone remodeling*. J Bone Miner Res, 1993. **8 Suppl 2**: p. S505-10.
233. Fassmann, A., et al., *Polymorphisms in the +252(A/G) lymphotoxin-α and the -308(A/G) tumor necrosis factor-α genes and susceptibility to chronic periodontitis in a Czech population*. J Periodontal Res, 2003. **38**(4): p. 394-9.
234. Soga, Y., et al., *Tumor necrosis factor-α gene (TNF-α) -1031/-863, -857 single-nucleotide polymorphisms (SNPs) are associated with severe adult periodontitis in Japanese*. J Clin Periodontol, 2003. **30**(6): p. 524-31.
235. Craandijk, J., et al., *Tumor necrosis factor-α gene polymorphisms in relation to periodontitis*. J Clin Periodontol, 2002. **29**(1): p. 28-34.
236. Galbraith, G.M., et al., *Tumor necrosis factor α production by oral leukocytes: influence of tumor necrosis factor genotype*. J Periodontol, 1998. **69**(4): p. 428-33.
237. Scarel-Caminaga, R.M., et al., *Interleukin 10 gene promoter polymorphisms are associated with chronic periodontitis*. J Clin Periodontol, 2004. **31**(6): p. 443-8.
238. Sumer, A.P., et al., *Association of interleukin-10 gene polymorphisms with severe generalized chronic periodontitis*. J Periodontol, 2007. **78**(3): p. 493-7.

239. Claudino, M., et al., *The broad effects of the functional IL-10 promoter-592 polymorphism: modulation of IL-10, TIMP-3, and OPG expression and their association with periodontal disease outcome.* J Leukoc Biol, 2008. **84**(6): p. 1565-73.
240. H. Bickeböllner, C.F., *Einführung in die Genetische Epidemiologie*, ed. S. Verlag. 2007.
241. Manolio, T.A., *Genomewide association studies and assessment of the risk of disease.* N Engl J Med, 2010. **363**(2): p. 166-76.
242. Teumer, A., et al., *Genome-wide association study of chronic periodontitis in a general German population.* J Clin Periodontol, 2013.
243. Bendtzen, K., et al., *Association between HLA-DR2 and production of tumour necrosis factor alpha and interleukin 1 by mononuclear cells activated by lipopolysaccharide.* Scand J Immunol, 1988. **28**(5): p. 599-606.
244. Pociot, F., et al., *Association of tumor necrosis factor (TNF) and class II major histocompatibility complex alleles with the secretion of TNF-alpha and TNF-beta by human mononuclear cells: a possible link to insulin-dependent diabetes mellitus.* Eur J Immunol, 1993. **23**(1): p. 224-31.
245. Mercado, F.B., R.I. Marshall, and P.M. Bartold, *Inter-relationships between rheumatoid arthritis and periodontal disease. A review.* J Clin Periodontol, 2003. **30**(9): p. 761-72.
246. Ollier, W. and W. Thomson, *Population genetics of rheumatoid arthritis.* Rheum Dis Clin North Am, 1992. **18**(4): p. 741-59.
247. Garrison, S.W. and F.C. Nichols, *LPS-elicited secretory responses in monocytes: altered release of PGE2 but not IL-1 beta in patients with adult periodontitis.* J Periodontal Res, 1989. **24**(2): p. 88-95.
248. Consortium, T.W.T.C.C., *Genome-wide association study of 14,000 cases of seven common diseases and 3,000 shared controls.* Nature, 2007. **447**(7145): p. 661-78.

249. Tatakis, D.N., P. Guglielmoni, and H.M. Fletcher, *Accelerated alveolar bone loss in HLA-b27 transgenic rats: an adult onset condition*. J Rheumatol, 2002. **29**(6): p. 1244-51.
250. Duerr, R.H., et al., *A genome-wide association study identifies IL23R as an inflammatory bowel disease gene*. Science, 2006. **314**(5804): p. 1461-3.
251. Cargill, M., et al., *A large-scale genetic association study confirms IL12B and leads to the identification of IL23R as psoriasis-risk genes*. Am J Hum Genet, 2007. **80**(2): p. 273-90.
252. Glas, J., et al., *rs1004819 is the main disease-associated IL23R variant in German Crohn's disease patients: combined analysis of IL23R, CARD15, and OCTN1/2 variants*. PLoS One, 2007. **2**(9): p. e819.
253. Schaefer, A.S., et al., *A genome-wide association study identifies GLT6D1 as a susceptibility locus for periodontitis*. Hum Mol Genet, 2010. **19**(3): p. 553-62.
254. Divaris, K., et al., *Exploring the genetic basis of chronic periodontitis: a genome-wide association study*. Hum Mol Genet, 2013. **22**(11): p. 2312-24.
255. Divaris, K., et al., *Genome-wide association study of periodontal pathogen colonization*. J Dent Res, 2012. **91**(7 Suppl): p. 21S-28S.
256. Rhodin, K., et al., *Chronic periodontitis genome-wide association studies: gene-centric and gene set enrichment analyses*. J Dent Res, 2014. **93**(9): p. 882-90.
257. Granzow, M., *Untersuchung der parodontalen Manifestation von Morbus Crohn unter Berücksichtigung des NOD2(CARD15)-Genotyps und der Mikrobiologie*. 2007, Medizinischen Fakultät der Rheinisch-Westfälischen Technischen Hochschule Aachen.
258. Indriolo, A., et al., *What can we learn about biofilm/host interactions from the study of inflammatory bowel disease*. J Clin Periodontol, 2011. **38** Suppl 11: p. 36-43.

259. Bernstein, M.L. and J.S. McDonald, *Oral lesions in Crohn's disease: report of two cases and update of the literature*. Oral Surg Oral Med Oral Pathol, 1978. **46**(2): p. 234-45.
260. Bouma, G. and W. Strober, *The immunological and genetic basis of inflammatory bowel disease*. Nat Rev Immunol, 2003. **3**(7): p. 521-33.
261. Kinane, D.F. and P.M. Bartold, *Clinical relevance of the host responses of periodontitis*. Periodontol 2000, 2007. **43**: p. 278-93.
262. Pallone, F. and G. Monteleone, *Mechanisms of tissue damage in inflammatory bowel disease*. Curr Opin Gastroenterol, 2001. **17**(4): p. 307-12.
263. Brandtzaeg, P., *Inflammatory bowel disease: clinics and pathology. Do inflammatory bowel disease and periodontal disease have similar immunopathogeneses?* Acta Odontol Scand, 2001. **59**(4): p. 235-43.
264. Habashneh, R.A., et al., *The association between inflammatory bowel disease and periodontitis among Jordanians: a case-control study*. J Periodontal Res, 2012. **47**(3): p. 293-8.
265. Brandtzaeg P. , T.K., *Immunoglobulin systems of the gingiva*, in *The Borderline Between Caries and Periodontal Disease II*, G.C. T. Lehner, Editor. 1977, Academic Press: London.
266. Schonfeld, S.E. and J.M. Kagan, *Specificity of gingival plasma cells for bacterial somatic antigens*. J Periodontal Res, 1982. **17**(1): p. 60-9.
267. Smith, D.J., et al., *Gingival crevicular fluid antibody to oral microorganisms. III. Association of gingival homogenate and gingival crevicular fluid antibody levels*. J Periodontal Res, 1985. **20**(4): p. 357-67.
268. Macpherson, A., et al., *Mucosal antibodies in inflammatory bowel disease are directed against intestinal bacteria*. Gut, 1996. **38**(3): p. 365-75.

269. Brandtzaeg, P., G. Haraldsen, and J. Rugtveit, *Immunopathology of human inflammatory bowel disease*. Springer Semin Immunopathol, 1997. **18**(4): p. 555-89.
270. Seymour, G.J., R.N. Powell, and W.I. Davies, *The immunopathogenesis of progressive chronic inflammatory periodontal disease*. J Oral Pathol, 1979. **8**(5): p. 249-65.
271. Brandtzaeg P, H.G., Helgeland L, Nilsen EM, Rugtveit J, *New insights into the immunopathology of human inflammatory bowel disease*. Drugs Today, 1999(Suppl A): p. 33-70.
272. Wilson, M., K. Reddi, and B. Henderson, *Cytokine-inducing components of periodontopathogenic bacteria*. J Periodontal Res, 1996. **31**(6): p. 393-407.
273. Baumgart, D.C. and W.J. Sandborn, *Crohn's disease*. Lancet, 2012. **380**(9853): p. 1590-605.
274. Raßhofer, R., *Gefahr erkannt - Gefahr gebannt*. Dentalhygiene Journal, 2010(4).
275. Korzenik, J.R. and B.K. Dieckgraefe, *Is Crohn's disease an immunodeficiency? A hypothesis suggesting possible early events in the pathogenesis of Crohn's disease*. Dig Dis Sci, 2000. **45**(6): p. 1121-9.
276. Hart, T.C., L. Shapira, and T.E. Van Dyke, *Neutrophil defects as risk factors for periodontal diseases*. J Periodontol, 1994. **65**(5 Suppl): p. 521-9.
277. Van Dyke, T.E. and J. Vaikuntam, *Neutrophil function and dysfunction in periodontal disease*. Curr Opin Periodontol, 1994: p. 19-27.
278. Van Dyke, T.E., et al., *Refractory periodontitis: mixed infection with Bacteroides gingivalis and other unusual Bacteroides species. A case report*. J Periodontol, 1988. **59**(3): p. 184-9.
279. Van Dyke, T.E., et al., *Potential role of microorganisms isolated from periodontal lesions in the pathogenesis of inflammatory bowel disease*. Infect Immun, 1986. **53**(3): p. 671-7.

280. Wilton, J.M., T.J. Hurst, and E.E. Scott, *Inhibition of polymorphonuclear leucocyte phagocytosis by Porphyromonas gingivalis culture products in patients with adult periodontitis*. Arch Oral Biol, 1993. **38**(4): p. 285-9.
281. Ohta, H., et al., *Leukotoxic activity in Actinobacillus (Haemophilus) actinomycetemcomitans isolated from periodontal disease patients*. Microbiol Immunol, 1987. **31**(4): p. 313-25.
282. Scragg, M.A., et al., *Effects of Porphyromonas gingivalis culture products on the morphology of peripheral blood polymorphonuclear leucocytes from periodontitis patients and healthy subjects*. J Clin Periodontol, 1995. **22**(8): p. 585-90.
283. Hirschhorn, J.N., et al., *A comprehensive review of genetic association studies*. Genet Med, 2002. **4**(2): p. 45-61.
284. Huang, Q.Y., R.R. Recker, and H.W. Deng, *Searching for osteoporosis genes in the post-genome era: progress and challenges*. Osteoporos Int, 2003. **14**(9): p. 701-15.
285. Hodge, S.E., *Linkage analysis versus association analysis: distinguishing between two models that explain disease-marker associations*. Am J Hum Genet, 1993. **53**(2): p. 367-84.
286. Hirschhorn, J.N. and M.J. Daly, *Genome-wide association studies for common diseases and complex traits*. Nat Rev Genet, 2005. **6**(2): p. 95-108.
287. Patel, R.K., et al., *Prognostic value of cardiovascular screening in potential renal transplant recipients: a single-center prospective observational study*. Am J Transplant, 2008. **8**(8): p. 1673-83.
288. Kingsmore, S.F., et al., *Genome-wide association studies: progress and potential for drug discovery and development*. Nat Rev Drug Discov, 2008. **7**(3): p. 221-30.
289. Folling, S., et al., *Direct observation of second-order atom tunnelling*. Nature, 2007. **448**(7157): p. 1029-32.

290. International HapMap, C., et al., *A second generation human haplotype map of over 3.1 million SNPs*. *Nature*, 2007. **449**(7164): p. 851-61.
291. Johnson, G.C., et al., *Haplotype tagging for the identification of common disease genes*. *Nat Genet*, 2001. **29**(2): p. 233-7.
292. Wurm, S., et al., *Plasma levels of leptin, omentin, collagenous repeat-containing sequence of 26-kDa protein (CORS-26) and adiponectin before and after oral glucose uptake in slim adults*. *Cardiovasc Diabetol*, 2007. **6**: p. 7.
293. Gualillo, O., J.R. Gonzalez-Juanatey, and F. Lago, *The emerging role of adipokines as mediators of cardiovascular function: physiologic and clinical perspectives*. *Trends Cardiovasc Med*, 2007. **17**(8): p. 275-83.
294. Danoy, P., et al., *Association of variants at Iq32 and STAT3 with ankylosing spondylitis suggests genetic overlap with Crohn's disease*. *PLoS Genet*, 2010. **6**(12): p. e1001195.
295. International Multiple Sclerosis Genetics, C., *Comprehensive follow-up of the first genome-wide association study of multiple sclerosis identifies KIF21B and TMEM39A as susceptibility loci*. *Hum Mol Genet*, 2010. **19**(5): p. 953-62.
296. Puntel, M., et al., *Herpes simplex virus type 1 thymidine kinase sequence fused to the lacZ gene increases levels of {beta}-galactosidase activity per genome of high-capacity but not first-generation adenoviral vectors in vitro and in vivo*. *J Virol*, 2009. **83**(4): p. 2004-10.
297. Cooper, J.D., et al., *Meta-analysis of genome-wide association study data identifies additional type 1 diabetes risk loci*. *Nat Genet*, 2008. **40**(12): p. 1399-401.
298. Chard, L.S., et al., *Full genome sequences of two virulent strains of peste-des-petits ruminants virus, the Cote d'Ivoire 1989 and Nigeria 1976 strains*. *Virus Res*, 2008. **136**(1-2): p. 192-7.

299. Denou, E., et al., *The role of prophage for genome diversification within a clonal lineage of Lactobacillus johnsonii: characterization of the defective prophage LJ771*. J Bacteriol, 2008. **190**(17): p. 5806-13.
300. Johnson, M.R., et al., *Characterization of the human extracellular matrix protein 1 gene on chromosome 1q21*. Matrix Biol, 1997. **16**(5): p. 289-92.
301. Deckers, M.M., et al., *Recombinant human extracellular matrix protein 1 inhibits alkaline phosphatase activity and mineralization of mouse embryonic metatarsals in vitro*. Bone, 2001. **28**(1): p. 14-20.
302. Sekiya, I., et al., *In vitro cartilage formation by human adult stem cells from bone marrow stroma defines the sequence of cellular and molecular events during chondrogenesis*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2002. **99**(7): p. 4397-402.
303. Flasinski, S., et al., *Structure-based rationale for the rescue of systemic movement of brome mosaic virus by spontaneous second-site mutations in the coat protein gene*. J Virol, 1997. **71**(3): p. 2500-4.
304. Cho, B.K., et al., *Genome-wide analysis of Fis binding in Escherichia coli indicates a causative role for A-/AT-tracts*. Genome Res, 2008. **18**(6): p. 900-10.
305. Evans, D.M., J.C. Barrett, and L.R. Cardon, *To what extent do scans of non-synonymous SNPs complement denser genome-wide association studies?* Eur J Hum Genet, 2008. **16**(6): p. 718-23.
306. Banyard, A.C., et al., *Sequence of the nucleocapsid gene and genome and antigenome promoters for an isolate of porpoise morbillivirus*. Virus Res, 2008. **132**(1-2): p. 213-9.
307. Tuyaerts, S., et al., *Expression of human GITRL on myeloid dendritic cells enhances their immunostimulatory function but does not abrogate the suppressive effect of CD4+CD25+ regulatory T cells*. J Leukoc Biol, 2007. **82**(1): p. 93-105.

308. Aerts-Toegaert, C., et al., *CD83 expression on dendritic cells and T cells: correlation with effective immune responses*. Eur J Immunol, 2007. **37**(3): p. 686-95.
309. Chan, I., et al., *The molecular basis of lipoid proteinosis: mutations in extracellular matrix protein 1*. Exp Dermatol, 2007. **16**(11): p. 881-90.
310. Lin, W., et al., *Molecular basis for thermal properties of Streptomyces thermovulgaris fumarase C hinge at hydrophilic amino acids R163, E170 and S347*. Appl Microbiol Biotechnol, 2007. **75**(2): p. 329-35.
311. Chandel, N.S. and G.R. Budinger, *The cellular basis for diverse responses to oxygen*. Free Radic Biol Med, 2007. **42**(2): p. 165-74.
312. Hansen, T.R., K.J. Austin, and G.A. Johnson, *Transient ubiquitin cross-reactive protein gene expression in the bovine endometrium*. Endocrinology, 1997. **138**(11): p. 5079-82.
313. Johnson, C.M., et al., *Calcium controls gene expression via three distinct pathways that can function independently of the Ras/mitogen-activated protein kinases (ERKs) signaling cascade*. J Neurosci, 1997. **17**(16): p. 6189-202.
314. Han, Z., et al., *Extracellular matrix protein 1 (ECM1) has angiogenic properties and is expressed by breast tumor cells*. FASEB J, 2001. **15**(6): p. 988-94.
315. Goncalves, V., P. Matos, and P. Jordan, *The beta-catenin/TCF4 pathway modifies alternative splicing through modulation of SRp20 expression*. RNA, 2008. **14**(12): p. 2538-49.
316. Kamiya, R.U., J.F. Hofling, and R.B. Goncalves, *Frequency and expression of mutacin biosynthesis genes in isolates of Streptococcus mutans with different mutacin-producing phenotypes*. J Med Microbiol, 2008. **57**(Pt 5): p. 626-35.
317. Lery, L.M., et al., *Protein expression profile of Gluconacetobacter diazotrophicus PAL5, a sugarcane endophytic plant growth-promoting bacterium*. Proteomics, 2008. **8**(8): p. 1631-44.

318. Goncalves, A.M., et al., *Expression, purification, crystallization and preliminary X-ray characterization of two crystal forms of stationary-phase survival E protein from Campylobacter jejuni*. Acta Crystallogr Sect F Struct Biol Cryst Commun, 2008. **64**(Pt 3): p. 213-6.
319. Barrett, J.C., et al., *Genome-wide association defines more than 30 distinct susceptibility loci for Crohn's disease*. Nat Genet, 2008. **40**(8): p. 955-62.
320. Kyogoku, C., et al., *Genetic association of the R620W polymorphism of protein tyrosine phosphatase PTPN22 with human SLE*. Am J Hum Genet, 2004. **75**(3): p. 504-7.
321. Tsuji, S., et al., *Human intelectin is a novel soluble lectin that recognizes galactofuranose in carbohydrate chains of bacterial cell wall*. J Biol Chem, 2001. **276**(26): p. 23456-63.
322. Schaffler, A., et al., *Frequency and significance of the novel single nucleotide missense polymorphism Val109Asp in the human gene encoding omentin in Caucasian patients with type 2 diabetes mellitus or chronic inflammatory bowel diseases*. Cardiovasc Diabetol, 2007. **6**: p. 3.
323. Gerwick, L., G. Corley-Smith, and C.J. Bayne, *Gene transcript changes in individual rainbow trout livers following an inflammatory stimulus*. Fish Shellfish Immunol, 2007. **22**(3): p. 157-71.
324. Lago, F., et al., *Adipokines as emerging mediators of immune response and inflammation*. Nat Clin Pract Rheumatol, 2007. **3**(12): p. 716-24.
325. Yang, R.Z., et al., *Identification of omentin as a novel depot-specific adipokine in human adipose tissue: possible role in modulating insulin action*. Am J Physiol Endocrinol Metab, 2006. **290**(6): p. E1253-61.
326. de Souza Batista, C.M., et al., *Omentin plasma levels and gene expression are decreased in obesity*. Diabetes, 2007. **56**(6): p. 1655-61.

327. Duraes, C., et al., *Phenotype-genotype profiles in Crohn's disease predicted by genetic markers in autophagy-related genes (GOIA study II)*. *Inflamm Bowel Dis*, 2013. **19**(2): p. 230-9.
328. Chattopadhyay, K., et al., *Assembly and structural properties of glucocorticoid-induced TNF receptor ligand: Implications for function*. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2007. **104**(49): p. 19452-7.
329. Kirkin, V., et al., *The Fas ligand intracellular domain is released by ADAM10 and SPPL2a cleavage in T-cells*. *Cell Death Differ*, 2007. **14**(9): p. 1678-87.
330. Jostins, L., et al., *Host-microbe interactions have shaped the genetic architecture of inflammatory bowel disease*. *Nature*, 2012. **491**(7422): p. 119-24.
331. Aiba, T., et al., *Matrix metalloproteinases-1 and -8 and TIMP-1 mRNA levels in normal and diseased human gingivae*. *Eur J Oral Sci*, 1996. **104**(5-6): p. 562-9.
332. Dahan, M., et al., *Expression of matrix metalloproteinases in healthy and diseased human gingiva*. *J Clin Periodontol*, 2001. **28**(2): p. 128-36.
333. Smith, P.C., et al., *In situ detection of matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) in gingival epithelium in human periodontal disease*. *J Periodontal Res*, 2004. **39**(2): p. 87-92.
334. Fujimoto, K., K. Nakajima, and Y. Yaoita, *One of the duplicated matrix metalloproteinase-9 genes is expressed in regressing tail during anuran metamorphosis*. *Dev Growth Differ*, 2006. **48**(4): p. 223-41.
335. Garlet, G.P., et al., *Matrix metalloproteinases, their physiological inhibitors and osteoclast factors are differentially regulated by the cytokine profile in human periodontal disease*. *J Clin Periodontol*, 2004. **31**(8): p. 671-9.
336. Kubota, T., et al., *Expression of mRNA for matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases in periodontitis-affected human gingival tissue*. *Arch Oral Biol*, 1996. **41**(3): p. 253-62.

337. Goncalves, L.D., et al., *Expression of metalloproteinases and their tissue inhibitors in inflamed gingival biopsies*. J Periodontal Res, 2008. **43**(5): p. 570-7.
338. Fisher, S.A., et al., *Genetic determinants of ulcerative colitis include the ECM1 locus and five loci implicated in Crohn's disease*. Nat Genet, 2008. **40**(6): p. 710-2.
339. Noritaka Oyama, J.M., *The Extracellular Matrix Protein 1 (ECM1) in Skin Biology: An Update for the Pleiotropic Action*. The Open Dermatology Journal, 2013. **7**: p. 29-41.
340. Wu, J., et al., *Identification of substrates of human protein-tyrosine phosphatase PTPN22*. J Biol Chem, 2006. **281**(16): p. 11002-10.
341. Field, S.F., et al., *Analysis of the type 2 diabetes gene, TCF7L2, in 13,795 type 1 diabetes cases and control subjects*. Diabetologia, 2007. **50**(1): p. 212-3.
342. Bartold, P.M., R.I. Marshall, and D.R. Haynes, *Periodontitis and rheumatoid arthritis: a review*. J Periodontol, 2005. **76**(11 Suppl): p. 2066-74.
343. de Pablo, P., et al., *Periodontitis in systemic rheumatic diseases*. Nat Rev Rheumatol, 2009. **5**(4): p. 218-24.
344. Fischer, A., et al., *Association of inflammatory bowel disease risk loci with sarcoidosis, and its acute and chronic subphenotypes*. Eur Respir J, 2011. **37**(3): p. 610-6.
345. Bottini, N., et al., *A functional variant of lymphoid tyrosine phosphatase is associated with type I diabetes*. Nat Genet, 2004. **36**(4): p. 337-8.
346. Salmelin, A., et al., *Fetal monitoring with computerized ST analysis during labor: a systematic review and meta-analysis*. Acta Obstet Gynecol Scand, 2013. **92**(1): p. 28-39.
347. Stahl, E.A., et al., *Genome-wide association study meta-analysis identifies seven new rheumatoid arthritis risk loci*. Nat Genet, 2010. **42**(6): p. 508-14.

348. Gregersen, P.K., et al., *REL, encoding a member of the NF-kappaB family of transcription factors, is a newly defined risk locus for rheumatoid arthritis*. Nat Genet, 2009. **41**(7): p. 820-3.
349. Plenge, R.M., et al., *TRAF1-C5 as a risk locus for rheumatoid arthritis--a genomewide study*. N Engl J Med, 2007. **357**(12): p. 1199-209.
350. Plagnol, V., et al., *Genome-wide association analysis of autoantibody positivity in type 1 diabetes cases*. PLoS Genet, 2011. **7**(8): p. e1002216.
351. Barrett, J.C., et al., *Genome-wide association study and meta-analysis find that over 40 loci affect risk of type 1 diabetes*. Nat Genet, 2009. **41**(6): p. 703-7.
352. Hakonarson, H., et al., *A genome-wide association study identifies KIAA0350 as a type 1 diabetes gene*. Nature, 2007. **448**(7153): p. 591-4.
353. Todd, J.A., et al., *Robust associations of four new chromosome regions from genome-wide analyses of type 1 diabetes*. Nat Genet, 2007. **39**(7): p. 857-64.
354. Franke, A., et al., *Genome-wide meta-analysis increases to 71 the number of confirmed Crohn's disease susceptibility loci*. Nat Genet, 2010. **42**(12): p. 1118-25.
355. Gregersen, P.K., et al., *Risk for myasthenia gravis maps to a (151) Pro-->Ala change in TNIP1 and to human leukocyte antigen-B*08*. Ann Neurol, 2012. **72**(6): p. 927-35.
356. Detert, J., et al., *The association between rheumatoid arthritis and periodontal disease*. Arthritis Res Ther, 2010. **12**(5): p. 218.
357. Kaur, S., S. White, and P.M. Bartold, *Periodontal disease and rheumatoid arthritis: a systematic review*. J Dent Res, 2013. **92**(5): p. 399-408.
358. de Smit, M.J., et al., *Rheumatoid arthritis and periodontitis; a possible link via citrullination*. Anaerobe, 2011. **17**(4): p. 196-200.
359. Franke, A., et al., *Sequence variants in IL10, ARPC2 and multiple other loci contribute to ulcerative colitis susceptibility*. Nat Genet, 2008. **40**(11): p. 1319-23.

360. Loos, B.G., R.P. John, and M.L. Laine, *Identification of genetic risk factors for periodontitis and possible mechanisms of action*. J Clin Periodontol, 2005. **32 Suppl 6**: p. 159-79.
361. Rousset, F., et al., *Interleukin 10 is a potent growth and differentiation factor for activated human B lymphocytes*. Proc Natl Acad Sci U S A, 1992. **89**(5): p. 1890-3.
362. de Waal Malefyt, R., H. Yssel, and J.E. de Vries, *Direct effects of IL-10 on subsets of human CD4+ T cell clones and resting T cells. Specific inhibition of IL-2 production and proliferation*. J Immunol, 1993. **150**(11): p. 4754-65.
363. Mosmann, T.R., *Properties and functions of interleukin-10*. Adv Immunol, 1994. **56**: p. 1-26.
364. Lalani, I., K. Bhol, and A.R. Ahmed, *Interleukin-10: biology, role in inflammation and autoimmunity*. Ann Allergy Asthma Immunol, 1997. **79**(6): p. 469-83.
365. Afar, B., D. Engel, and E.A. Clark, *Activated lymphocyte subsets in adult periodontitis*. J Periodontal Res, 1992. **27**(2): p. 126-33.
366. Berglundh, T., et al., *The presence of local and circulating autoreactive B cells in patients with advanced periodontitis*. J Clin Periodontol, 2002. **29**(4): p. 281-6.
367. Lappin, D.F., et al., *Anti-inflammatory cytokine IL-10 and T cell cytokine profile in periodontitis granulation tissue*. Clin Exp Immunol, 2001. **123**(2): p. 294-300.
368. Zhang, X. and Y.T. Teng, *Interleukin-10 inhibits gram-negative-microbe-specific human receptor activator of NF-kappaB ligand-positive CD4+-Th1-cell-associated alveolar bone loss in vivo*. Infect Immun, 2006. **74**(8): p. 4927-31.
369. Baker, A.H., D.R. Edwards, and G. Murphy, *Metalloproteinase inhibitors: biological actions and therapeutic opportunities*. J Cell Sci, 2002. **115**(Pt 19): p. 3719-27.
370. Silva, T.A., et al., *Chemokines in oral inflammatory diseases: apical periodontitis and periodontal disease*. J Dent Res, 2007. **86**(4): p. 306-19.

371. Katagiri, T. and N. Takahashi, *Regulatory mechanisms of osteoblast and osteoclast differentiation*. Oral Dis, 2002. **8**(3): p. 147-59.
372. Pestka, S., et al., *Interleukin-10 and related cytokines and receptors*. Annu Rev Immunol, 2004. **22**: p. 929-79.
373. Reuss, E., et al., *Differential regulation of interleukin-10 production by genetic and environmental factors--a twin study*. Genes Immun, 2002. **3**(7): p. 407-13.
374. Yilmaz, V., S.P. Yentur, and G. Saruhan-Direskeneli, *IL-12 and IL-10 polymorphisms and their effects on cytokine production*. Cytokine, 2005. **30**(4): p. 188-94.
375. Capasso, M., et al., *Cytokine gene polymorphisms in Italian preterm infants: association between interleukin-10 -1082 G/A polymorphism and respiratory distress syndrome*. Pediatr Res, 2007. **61**(3): p. 313-7.
376. Lowe, P.R., et al., *Influence of interleukin-10 polymorphisms on interleukin-10 expression and survival in critically ill patients*. Crit Care Med, 2003. **31**(1): p. 34-8.
377. Crawley, E., et al., *Polymorphic haplotypes of the interleukin-10 5' flanking region determine variable interleukin-10 transcription and are associated with particular phenotypes of juvenile rheumatoid arthritis*. Arthritis Rheum, 1999. **42**(6): p. 1101-8.
378. Garlet, G.P., et al., *Cytokine pattern determines the progression of experimental periodontal disease induced by Actinobacillus actinomycetemcomitans through the modulation of MMPs, RANKL, and their physiological inhibitors*. Oral Microbiol Immunol, 2006. **21**(1): p. 12-20.
379. Andersen, V., et al., *The polymorphism rs3024505 proximal to IL-10 is associated with risk of ulcerative colitis and Crohns disease in a Danish case-control study*. BMC Med Genet, 2010. **11**: p. 82.
380. Anderson, C.A., et al., *Meta-analysis identifies 29 additional ulcerative colitis risk loci, increasing the number of confirmed associations to 47*. Nat Genet, 2011. **43**(3): p. 246-52.

381. McGovern, D.P., et al., *Genome-wide association identifies multiple ulcerative colitis susceptibility loci*. Nat Genet, 2010. **42**(4): p. 332-7.
382. Hamp, S.E., S. Nyman, and J. Lindhe, *Periodontal treatment of multirrooted teeth. Results after 5 years*. J Clin Periodontol, 1975. **2**(3): p. 126-35.
383. Miller, S.A., D.D. Dykes, and H.F. Polesky, *A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells*. Nucleic Acids Res, 1988. **16**(3): p. 1215.
384. Thomas Illig, C.V., Henning Gohlke, Norman Klopp, *Hochdurchsatz SNP Genotypisierung mit MALDI TOF MS* Biospektrum, 2004. **05**: p. 670-675.
385. Tost, J. and I.G. Gut, *Genotyping single nucleotide polymorphisms by MALDI mass spectrometry in clinical applications*. Clin Biochem, 2005. **38**(4): p. 335-50.
386. Ragoussis, J., et al., *Matrix-assisted laser desorption/ionisation, time-of-flight mass spectrometry in genomics research*. PLoS Genet, 2006. **2**(7): p. e100.
387. E. Aichinger, T.G., *100 Jahre Hardy-Weinberg-Gleichgewicht*. Medizinische Genetik, 2008. **3**(20): p. 276-281.
388. Sole, X., et al., *SNPStats: a web tool for the analysis of association studies*. Bioinformatics, 2006. **22**(15): p. 1928-9.
389. Beitman, R.G., S.S. Frost, and J.L. Roth, *Oral manifestations of gastrointestinal disease*. Dig Dis Sci, 1981. **26**(8): p. 741-7.
390. Flemmig, T.F., F. Shanahan, and K.T. Miyasaki, *Prevalence and severity of periodontal disease in patients with inflammatory bowel disease*. J Clin Periodontol, 1991. **18**(9): p. 690-7.
391. Hindorff, L.A., et al., *Potential etiologic and functional implications of genome-wide association loci for human diseases and traits*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2009. **106**(23): p. 9362-7.

392. Beckmann, J.S., X. Estivill, and S.E. Antonarakis, *Copy number variants and genetic traits: closer to the resolution of phenotypic to genotypic variability*. Nat Rev Genet, 2007. **8**(8): p. 639-46.
393. Mombelli, A., F. Casagni, and P.N. Madianos, *Can presence or absence of periodontal pathogens distinguish between subjects with chronic and aggressive periodontitis? A systematic review*. J Clin Periodontol, 2002. **29 Suppl 3**: p. 10-21; discussion 37-8.
394. N. Lang, P.B., M Cullinan, M., Jeffcoat, M., Mombelli, A., Murakami, R. Page, P. Papapanou, M. Tonetti, t. Van Dyke, *Consensus Report: Aggressive Periodontitis*. Annals of Periodontology, 1999. **4**(1): p. 53-53.
395. Armitage, G.C. and M.P. Cullinan, *Comparison of the clinical features of chronic and aggressive periodontitis*. Periodontol 2000, 2010. **53**: p. 12-27.
396. Vandembroucke, J.P., et al., *Strengthening the Reporting of Observational Studies in Epidemiology (STROBE): explanation and elaboration*. Epidemiology, 2007. **18**(6): p. 805-35.
397. Gut, I.G., *DNA analysis by MALDI-TOF mass spectrometry*. Hum Mutat, 2004. **23**(5): p. 437-41.
398. Tan, B.K., et al., *Omentin-1, a novel adipokine, is decreased in overweight insulin-resistant women with polycystic ovary syndrome: ex vivo and in vivo regulation of omentin-1 by insulin and glucose*. Diabetes, 2008. **57**(4): p. 801-8.
399. Moreno-Navarrete, J.M., et al., *Circulating omentin concentration increases after weight loss*. Nutr Metab (Lond), 2010. **7**: p. 27.
400. Pemberton, A.D., et al., *Innate BALB/c enteric epithelial responses to Trichinella spiralis: inducible expression of a novel goblet cell lectin, intelectin-2, and its natural deletion in C57BL/10 mice*. J Immunol, 2004. **173**(3): p. 1894-901.

401. Voehringer, D., et al., *Nippostrongylus brasiliensis: identification of intelectin-1 and -2 as Stat6-dependent genes expressed in lung and intestine during infection*. Exp Parasitol, 2007. **116**(4): p. 458-66.
402. Chang, M.X. and P. Nie, *Intelectin gene from the grass carp Ctenopharyngodon idella: cDNA cloning, tissue expression, and immunohistochemical localization*. Fish Shellfish Immunol, 2007. **23**(1): p. 128-40.
403. Kuperman, D.A., et al., *Dissecting asthma using focused transgenic modeling and functional genomics*. J Allergy Clin Immunol, 2005. **116**(2): p. 305-11.
404. Schaffler, A., et al., *Genomic structure of human omentin, a new adipocytokine expressed in omental adipose tissue*. Biochim Biophys Acta, 2005. **1732**(1-3): p. 96-102.
405. Yamawaki, H., et al., *Omentin, a novel adipocytokine inhibits TNF-induced vascular inflammation in human endothelial cells*. Biochem Biophys Res Commun, 2011. **408**(2): p. 339-43.
406. Zhong, X., et al., *Omentin inhibits TNF-alpha-induced expression of adhesion molecules in endothelial cells via ERK/NF-kappaB pathway*. Biochem Biophys Res Commun, 2012. **425**(2): p. 401-6.
407. Ohashi, K., et al., *Role of anti-inflammatory adipokines in obesity-related diseases*. Trends Endocrinol Metab, 2014. **25**(7): p. 348-55.
408. Iwayama, T., et al., *Adiponectin regulates functions of gingival fibroblasts and periodontal ligament cells*. J Periodontal Res, 2012. **47**(5): p. 563-71.
409. Suresh, S. and J. Mahendra, *Multifactorial relationship of obesity and periodontal disease*. J Clin Diagn Res, 2014. **8**(4): p. ZE01-3.
410. Yamaguchi, N., et al., *Expression levels of adiponectin receptors and periodontitis*. J Periodontal Res, 2010. **45**(2): p. 296-300.

411. Nogueira, A.V., et al., *Regulation of visfatin by microbial and biomechanical signals in PDL cells*. Clin Oral Investig, 2014. **18**(1): p. 171-8.
412. Pradeep, A.R., et al., *Gingival crevicular fluid and serum visfatin concentration: their relationship in periodontal health and disease*. J Periodontol, 2011. **82**(9): p. 1314-9.
413. Raghavendra, N.M., et al., *Effect of non surgical periodontal therapy on gingival crevicular fluid and serum visfatin concentration in periodontal health and disease*. Dis Markers, 2012. **32**(6): p. 383-8.
414. Tonetti, M.S., D. Cortellini, and N.P. Lang, *In situ detection of apoptosis at sites of chronic bacterially induced inflammation in human gingiva*. Infect Immun, 1998. **66**(11): p. 5190-5.
415. Abuhussein, H., et al., *The role of factors associated with apoptosis in assessing periodontal disease status*. J Periodontol, 2014. **85**(8): p. 1086-95.
416. Li, Y., et al., *Adaptive immune response in osteoclastic bone resorption induced by orally administered Aggregatibacter actinomycetemcomitans in a rat model of periodontal disease*. Mol Oral Microbiol, 2010. **25**(4): p. 275-92.
417. Bantel, H., et al., *Caspase activation is involved in chronic periodontitis*. FEBS Lett, 2005. **579**(25): p. 5559-64.
418. Ephrem, A., et al., *Modulation of Treg cells/T effector function by GITR signaling is context-dependent*. Eur J Immunol, 2013. **43**(9): p. 2421-9.
419. Stephens, G.L., et al., *Engagement of glucocorticoid-induced TNFR family-related receptor on effector T cells by its ligand mediates resistance to suppression by CD4⁺CD25⁺ T cells*. J Immunol, 2004. **173**(8): p. 5008-20.
420. Ronchetti, S., et al., *GITR, a member of the TNF receptor superfamily, is costimulatory to mouse T lymphocyte subpopulations*. Eur J Immunol, 2004. **34**(3): p. 613-22.

421. Tone, M., et al., *Mouse glucocorticoid-induced tumor necrosis factor receptor ligand is costimulatory for T cells*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2003. **100**(25): p. 15059-64.
422. McHugh, R.S., et al., *CD4(+)CD25(+) immunoregulatory T cells: gene expression analysis reveals a functional role for the glucocorticoid-induced TNF receptor*. Immunity, 2002. **16**(2): p. 311-23.
423. Ji, H.B., et al., *Cutting edge: the natural ligand for glucocorticoid-induced TNF receptor-related protein abrogates regulatory T cell suppression*. J Immunol, 2004. **172**(10): p. 5823-7.
424. Koromantzos, P.A., et al., *Effect of non-surgical periodontal therapy on C-reactive protein, oxidative stress, and matrix metalloproteinase (MMP)-9 and MMP-2 levels in patients with type 2 diabetes: a randomized controlled study*. J Periodontol, 2012. **83**(1): p. 3-10.
425. WV., G., *Host-response therapeutics for periodontal diseases*. J. Periodontology, 2008. **79**((Suppl. 8)): p. 1592-1600.
426. Marcaccini, A.M., et al., *Circulating matrix metalloproteinase-8 (MMP-8) and MMP-9 are increased in chronic periodontal disease and decrease after non-surgical periodontal therapy*. Clin Chim Acta, 2009. **409**(1-2): p. 117-22.
427. MR. Hoehe, B.T., H. Lehrach, *Haplotypen und die systematische Analyse genetischer Variation: Krankheitsgene,,Drug Targets "und Pharmakogenomik*. Proteomics & Drug Development, 2002. **8**: p. 478-485.
428. Marian, A.J., *Elements of 'missing heritability'*. Curr Opin Cardiol, 2012. **27**(3): p. 197-201.
429. Manolio, T.A., *Bringing genome-wide association findings into clinical use*. Nat Rev Genet, 2013. **14**(8): p. 549-58.
430. Goldstein, D.B., *Common genetic variation and human traits*. N Engl J Med, 2009. **360**(17): p. 1696-8.

431. Manolio, T.A., et al., *Finding the missing heritability of complex diseases*. Nature, 2009. **461**(7265): p. 747-53.
432. Lopes, M.C., E. Zeggini, and K. Panoutsopoulou, *Do genome-wide association scans have potential for translation?* Clin Chem Lab Med, 2012. **50**(2): p. 255-60.
433. Evans, J.P., et al., *Genomics. Deflating the genomic bubble*. Science, 2011. **331**(6019): p. 861-2.
434. Varmus, H., *Ten years on--the human genome and medicine*. N Engl J Med, 2010. **362**(21): p. 2028-9.
435. Dulbecco, R., *A turning point in cancer research: sequencing the human genome*. Science, 1986. **231**(4742): p. 1055-6.
436. Collins, F.S., *Shattuck lecture--medical and societal consequences of the Human Genome Project*. N Engl J Med, 1999. **341**(1): p. 28-37.
437. Leavitt, M., *Medscape's response to the Institute of Medicine Report: Crossing the quality chasm: a new health system for the 21st century*. MedGenMed, 2001. **3**(2): p. 2.
438. A. Schäfer, H.D., S. Jepsen, *Parodontitis: Gene als Risikofaktor*. ZM online, 2015(10).
439. Chen, R., et al., *Personal omics profiling reveals dynamic molecular and medical phenotypes*. Cell, 2012. **148**(6): p. 1293-307.
440. Razzouk, S. and O. Termechi, *Host genome, epigenome, and oral microbiome interactions: toward personalized periodontal therapy*. J Periodontol, 2013. **84**(9): p. 1266-71.
441. Schenkein, H.A., *Finding genetic risk factors for periodontal diseases: is the climb worth the view?* Periodontol 2000, 2002. **30**: p. 79-90.
442. B. Singh, A.G., N. Nayyar, A. Sharma, *Genetics and Periodontium: A Review*. Dental Journal of Advance Studies, 2013. **1**(II): p. 67-72.

443. Gulati, M., et al., *Essentials of periodontal medicine in preventive medicine*. Int J Prev Med, 2013. **4**(9): p. 988-94.
444. Teeuw, W.J., V.E. Gerdes, and B.G. Loos, *Effect of periodontal treatment on glycemic control of diabetic patients: a systematic review and meta-analysis*. Diabetes Care, 2010. **33**(2): p. 421-7.
445. Plagnol, V., et al., *Genome-wide association analysis of autoantibody positivity in type 1 diabetes cases*. PLoS Genet, 2011. **7**(8): p. e1002216.
446. Franke, A., et al., *Sequence variants in IL10, ARPC2 and multiple other loci contribute to ulcerative colitis susceptibility*. Nat Genet, 2008. **40**(11): p. 1319-23.
447. Vaithilingam, R.D., et al., *Moving into a new era of periodontal genetic studies: relevance of large case-control samples using severe phenotypes for genome-wide association studies*. J Periodontal Res, 2014. **49**(6): p. 683-95.
448. Schaefer, A.S., et al., *Validation of reported genetic risk factors for periodontitis in a large-scale replication study*. J Clin Periodontol, 2013. **40**(6): p. 563-72.

12 Danksagung

Herrn Prof. Dr. Dr. Matthias Folwaczny danke ich für die freundliche Überlassung des Dissertationsthemas sowie für die fachliche Betreuung und engagierte Unterstützung.

Ein herzliches Dankeschön gebührt Frau Brigitte Hackl und Frau Dr. Christina Ern für die Einweisung in die Arbeit im Zellkulturlabor sowie für die positive Motivation.

Mein besonderer Dank gilt Frau Dr. Senka Grünwald für die Durchsicht dieser Arbeit und die moralische Unterstützung.

Danken möchte ich auch Frau Dr. Katrin Heck für Ihre Hilfestellung bei jeglichen computertechnischen Problemen.

Weiterhin möchte ich mich bei meiner Kollegin Frau Laura Stocker für die gute Zusammenarbeit und Motivation bedanken.

Abschließend möchte ich mich von ganzem Herzen bei meinen Eltern bedanken, ohne deren Zuspruch, Liebe und Unterstützung das Studium der Zahnmedizin sowie die Entstehung dieser Doktorarbeit nicht möglich gewesen wäre. Auch bei meinen Schwestern möchte ich mich für Ihre stetige Unterstützung bedanken. Zuletzt bedanke ich mich bei meinen Verlobten, Dr. Christian Diegritz, für die Geduld und die stetige moralische Unterstützung, mit der er mir während dieser Zeit zur Seite stand.

13 Lebenslauf