

Polymorphismen in ausgewählten Genen der Immunantwort als Schnittstelle zwischen Parodontitis und rheumatoider Arthritis

Dissertation zur Erlangung des akademischen Grades

Doktor der Zahnmedizin (Dr. med. dent.)

für das Fachgebiet Zahn- Mund- und

Kieferheilkunde

vorgelegt

der Medizinischen Fakultät

der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg

von Pauline Zimmer

geboren am 21.12.1996 in Bautzen

Betreuer*in:

apl. Prof. Dr. rer. nat., rer. medic. habil. Susanne Schulz

apl. Prof. Dr. med. dent. habil. Stefan Reichert

Gutachter*innen:

Prof. Dr. Gernot Keyßer, Halle

Prof. Dr. Sigrun Eick, Bern

Datum der Verteidigung: 01.03.2023

Referat

Der Zusammenhang zwischen der chronisch entzündlichen Erkrankung Parodontitis (PA) und rheumatoider Arthritis (RA) ist bekannt. Eine mögliche Schnittstelle beider Erkrankungen könnte die Existenz gemeinsamer genetischer Risiko- oder Resistenzfaktoren sein. Hinsichtlich dieser Thematik existieren nur wenige Studien. In der vorliegenden Fall-Kontrollstudie sollte deshalb die Genotyp- und Allelverteilung ausgewählter Kandidatengene (PTPN22, PADI4, CTLA4), die eine Rolle in der Immunantwort und der Citrullinierung spielen, hinsichtlich einer möglichen Assoziation zu schweren Parodontitiden beziehungsweise rheumatoider Arthritis untersucht werden.

Dazu wurden insgesamt 367 Probanden*innen untersucht. 111 Probanden*innen litten an einer RA. Unter den RA-Probanden*innen waren 26 Studienteilnehmer*innen an schwerer und 85 an milder/keiner Parodontitis erkrankt. Zu der Kontrollgruppe zählten 161 Probanden*innen mit schwerer PA und 95 mit milder/keiner PA (Kontrollgruppe gesamt $n=256$). Die Bestimmung des Schweregrades der Parodontitis erfolgte in der Kontroll- und RA- Gruppe mithilfe der Klassifikation nach Tonetti und Claffey (Tonetti und Claffey 2005). Die genomische Untersuchung zur Bestimmung der Genotyp- und Allelverteilung der SNPs rs2476601 (PTPN22), rs2240340 (PADI4), rs3087243 (CTLA4) beinhaltete nach erfolgreicher Isolation und Amplifikation der DNA mittels PCR eine Evaluation mittels RFLP, Sequenzierung und abschließende statistische Auswertung (SPSS 25.0 package, Chicago, IL). Das T-Allel des SNP rs2476601 im PTPN22-Gen wurde als unabhängiger Risikofaktor für eine RA in bivariaten (Odds Ratio=OR=2,221; $p<0,001$) und multivariaten Tests (OR=2,179; $p=0,018$) identifiziert. Gleichzeitig war es in der RA-Gruppe mit einer höheren Anfälligkeit für schwere PA in bivariaten (OR=1,792 $p=0,043$) und multivariaten Analysen (OR=2,463; $p=0,024$) assoziiert und bestätigte sich somit als Marker für die Komorbidität von RA und PA (bivariat: OR=3,901; $p<0,001$, multivariat: OR=3,115; $p=0,028$). Das T-Allel des SNP rs2240340 im PADI4-Gen war mit dem Auftreten einer RA sowohl in der Gesamtgruppe (bivariat: OR=1,716; $p=0,006$, multivariat: OR=1,529; $p=0,070$) als auch in der RA-Gruppe ohne schwere PA (bivariat: OR=1,771; $p=0,006$, multivariat: OR=1,637; $p=0,044$) assoziiert. Die Studie bestätigte die Existenz genetischer Risikofaktoren als gemeinsame Schnittstelle beider Erkrankungen. Sie könnte eine patientenspezifische Risikoevaluation während der Routinediagnostik von RA- oder PA- Patienten*innen erlauben. Patienten*innen könnten somit frühzeitig, also vor der Manifestation der Erkrankung identifiziert werden.

Zimmer, Pauline: Polymorphismen in ausgewählten Genen der Immunantwort als Schnittstelle zwischen Parodontitis und rheumatoider Arthritis, Halle (Saale), Univ., Med. Fak., Diss., 63 Seiten, 2022

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	1
1.1	Einführung	1
1.2	Rheumatoide Arthritis	1
1.2.1	Epidemiologie.....	1
1.2.2	Ätiologie.....	2
1.2.3	Pathogenese	4
1.3	Parodontitis	5
1.3.1	Epidemiologie.....	5
1.3.2	Ätiologie.....	6
1.3.3	Pathogenese	8
1.4	Gemeinsamkeiten in Ätiologie und Pathogenese von rheumatoider Arthritis und Parodontitis	9
1.4.1	Die mikrobiologische Dysbiose	11
1.4.2	Die Entzündungsreaktion	12
1.4.3	Die genetische Prädisposition	12
2	Zielstellung	13
2.1	Hauptziele	13
2.2	Nebenziele	14
2.3	Arbeitshypothesen	14
3	Material und Methoden	15
3.1	Rekrutierung der Patienten*innen und Erhebung klinischer Daten	15
3.2	Ein- und Ausschlusskriterien	16
3.3	Zahnärztliche Untersuchung	18
3.4	Intraorale Probenentnahme für die mikrobiologische Untersuchung	19
3.5	Genomische Untersuchungen	20
3.5.1	DNA-Isolation	20
3.5.2	Polymerasekettenreaktion (PCR).....	20

3.5.3	Restriktionsfragmentlängenpolymorphismus (RFLP).....	23
3.6	Statistische Auswertung	24
4	Ergebnisse	25
4.1	Demografische und klinische Parameter	25
4.2	Assoziationen der untersuchten SNPs zur Präsenz einer RA	26
4.3	Assoziationen der untersuchten SNPs zur Präsenz einer schweren PA.....	30
4.4	Mögliche gleichzeitige Assoziationen der untersuchten SNPs zur Präsenz einer RA und schweren PA.....	32
4.5	Zusammenfassung der Ergebnisse	34
4.5.1	Vergleich der Genotyp- und Allelverteilung der untersuchten SNPs in der RA-Gruppe vs. RA-freien Kontrollgruppe unter Berücksichtigung des Schweregrades der PA	34
4.5.2	Vergleich der Allel- und Genotypverteilung der untersuchten SNPs innerhalb der RA-Gruppe: keine/milde PA vs. schwere PA	35
4.5.3	Vergleich der Genotyp- und Allelverteilung innerhalb der RA-Gruppe mit schwerer PA vs. RA-freie-Gruppe ohne schwere PA.....	35
4.5.4	Demografische und klinische Unterschiede: Vergleich RA-Gruppe und RA-freie Kontrollgruppe unter Berücksichtigung des Schweregrades der PA	36
5	Diskussion	37
5.1	Methode	37
5.1.1	Studiendesign/ Rekrutierung der Patienten*innen	37
5.1.2	Zahnärztliche Untersuchung	38
5.1.3	Intraorale Probenentnahme für die mikrobiologische Untersuchung	39
5.1.4	Genomische Untersuchungen.....	39
5.2	Diskussion der Ergebnisse	40
5.2.1	Demografische und klinische Parameter.....	40
5.2.2	Assoziationen der untersuchten SNPs zur Präsenz einer RA.....	40
5.2.3	Assoziationen der untersuchten SNPs zur Präsenz einer schweren PA ..	43
5.2.4	Mögliche gleichzeitige Assoziationen der untersuchten SNPs zur Präsenz einer RA und schweren PA	44
5.3	Studienlimitation	45

6 Zusammenfassung.....	46
7 Literaturverzeichnis	48
8 Thesen.....	63
Tabellen	VIII
Erklärungen	IX
Publikationen dieser Promotion.....	X
Danksagung	XI

Verzeichnis der Abkürzungen und Symbole

<i>A.a.</i>	<i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i>
ACPA	Anti-Citrullin-Protein-Antikörper
AGCT	Basen Adenin, Guanin, Cytosin, Thymin
ANRIL	<i>engl.:</i> antisense RNA in the inc locus (lange, nicht codierende RNA)
API	approximaler Plaqueindex (%)
BOP	<i>engl.:</i> bleeding on probing (Sondierblutung) (%)
bp	Basenpaare
bzw.	beziehungsweise
CAL	klinischer Attachmentverlust (<i>engl.:</i> clinical attachment loss) entspricht dem Abstand zwischen Schmelz-Zement-Grenze und apikalem Stopp der Sonde (mm)
CALmax	maximaler klinischer Attachmentverlust (<i>engl.:</i> clinical attachment loss) entspricht dem Abstand zwischen Schmelz-Zement-Grenze und apikalem Stopp der Sonde (mm)
CCP	Cyklisch citrulliniertes Peptid
CDC/AAP	<i>engl.:</i> center of disease control and prevention/ american academy of periodontology
<i>C. rectus</i>	<i>Campylobacter rectus</i>
CTLA4	Cytotoxisches T-Lymphozyten-assoziiertes Protein 4
DMS V	Fünfte Deutsche Mundgesundheitsstudie

DNA	<i>engl.:</i> deoxyribonucleic acid (Desoxyribonukleinsäure)
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
<i>E. nodatum</i>	<i>Eubacterium nodatum</i>
et al.	<i>lat.:</i> et alii (und andere)
FLS	Fibroblasten-ähnliche Synovialzellen
<i>F. nucleatum</i>	<i>Fusobacterium nucleatum</i>
g	Gramm
GLT6D1	<i>engl.:</i> glycosyltransferase 6 domain containing 1
h	Stunde
HLA	<i>engl.:</i> human leukocyte antigen (Humanes Leukozytenantigen)
IFN- γ	Interferon-gamma
IL-1, -2, ...	Interleukin 1, 2, ...
KCNQ1-Gen	codiert für einen spannungsabhängigen Kaliumkanal
LtxA	Leukotoxin A
MHC	<i>engl.:</i> major histocompatibility complex (Haupthistokompatibilitätskomplex)
min	Minute
mm	Millimeter
MMP	Matrix-Metalloprotease
mRNA	<i>engl.:</i> messenger ribonucleic acid (Botenribonukleinsäure)
NF-kB	nukleärer Faktor-kB

ng	nanogramm
NGS	<i>engl.</i> : next generation sequencing (Nukleinsäureanalytik)
NPY	Neuropeptid Y
PA	Parodontitis
PADI4	Peptidyl-Arginin-Deiminase Typ 4
PCR	<i>engl.</i> : polymerase chain reaction (Polymerasekettenreaktion)
PD	<i>engl.</i> : pocket depth (Sondierungstiefe)
PDmax	höchster Wert der Sondiertiefe
<i>P.g.</i>	<i>Porphyromonas gingivalis</i>
<i>P.i.</i>	<i>Prevotella intermedia</i>
<i>P. micros</i>	<i>Peptostreptococcus micros</i>
PMN	Polymorphkernige Neutrophile
PTPN22	Peptidyl-Tyrosin-Phosphatase Typ 22
p-Wert	Signifikanzwert
RA	Rheumatoide Arthritis/ Rheumatoidarthritis
RANK-Ligand	<i>engl.</i> : Receptor Activator of NF- κ b Ligand
RF	Rheumafaktor
RFLP	Restriktionsfragmentlängenpolymorphismus
RNA	<i>engl.</i> : ribonucleic acid (Ribonukleinsäure)
s	Sekunde
SH3	Thiolgruppe (funktionelle Gruppe)

SNP	<i>engl.:</i> single nucleotide polymorphism (Einzelnukleotid-Polymorphismus)
SRc-Kinase	Tyrosinkinase
TBE	Tris-Borat-EDTA ([Tris-(hydroxymethyl)-aminomethan)-Borat-Ethylendiamintetraessigsäure)
T.d.	<i>Treponema denticola</i>
<i>T.f.</i>	<i>Tannerella forsythia</i>
TLR	<i>engl.:</i> toll-like-receptor
TNF- α	Tumornekrosefaktor α
TRAF1	<i>engl.:</i> TNF-receptor associated factor 1
U	Units
UV	Ultraviolettstrahlung
μ l	Mikroliter
VAMP3	<i>engl.:</i> vesicle-associated membrane protein 3 (Vesikel-assoziiertes Membranprotein 3)

1 Einleitung

1.1 Einführung

Parodontitis (PA) ist eine chronisch-entzündliche Erkrankung, die unbehandelt zur Zerstörung des Zahnhalteapparates und damit zum Verlust der Zähne führen kann. In mehreren klinischen Studien wurde bereits der Zusammenhang zwischen Parodontitis und anderen systemischen Erkrankungen wie zum Beispiel Diabetes mellitus beschrieben (Arigbede et al. 2012). Den wechselseitigen Einfluss zwischen rheumatoider Arthritis (RA) und PA untersuchten unter anderem Tang et al., Smit et al. und Molon et al. (Smit et al. 2015; Tang et al. 2017; Molon et al. 2019). Beide Erkrankungen betreffen Bindegewebe und Knochen. Während die Parodontitis durch einen dysbiotischen Biofilm ausgelöst wird und der Abbau parodontalen Stützgewebes durch eine möglicherweise überschießende Immunreaktion erfolgt, könnte es bei der RA so sein, dass Mikroorganismen eine Autoimmunreaktion auslösen, die zur Zerstörung von Bindegewebe, Knorpel und Knochen an Gelenken führt (Reichert et al. 2013; Sudhakara et al. 2018). Für RA und Parodontitis ist außerdem bekannt, dass sie einige gemeinsame genetische Risikomarker teilen (Kobayashi et al. 2018; Ceccarelli et al. 2019; Schulz et al. 2019). Es gibt auch Hinweise darauf, dass eine antientzündliche Parodontalthherapie mit adjuvanter Antibiotikagabe bei Patienten*innen, die auch an einer RA litten, auch zur Verbesserung des Outcomes für RA führte (Kaur et al. 2014; Calderaro et al. 2017; Kurgan et al. 2017; McGowan et al. 2018). Diese angeführten Punkte und auch epidemiologische Daten sprechen für eine mögliche Wechselbeziehung zwischen Parodontitis und RA.

1.2 Rheumatoide Arthritis

1.2.1 Epidemiologie

Die rheumatoide Arthritis ist eine multifaktoriell bedingte chronisch entzündliche Autoimmunerkrankung, die sich durch eine Interaktion zwischen Zellen und Mediatoren der angeborenen und erworbenen Immunantwort auszeichnet (Petrelli et al. 2022). Die Pathogenese ist sehr komplex und noch nicht vollständig geklärt (Zamanpoor 2019).

Etwa 1 % der Weltbevölkerung ist an RA erkrankt (Rutger Persson 2012; Dev et al. 2013). Jährlich treten weltweit auf 100.000 Menschen 40 Neuerkrankungen auf (Silman und Pearson 2002; Helmick et al. 2008; McInnes und Schett 2011; Ruysen-Witrand et

al. 2012; Kourilovitch et al. 2014). Die Inzidenz bei Frauen ist zwei- bis dreimal höher als bei Männern (Viatte et al. 2013). Das mittlere Erkrankungsalter ist bei Frauen deutlich niedriger (Laivoranta-Nyman et al. 2001).

RA ist durch eine chronische Entzündung der Gelenkinnenhaut (Synovialmembran) charakterisiert. Betroffen sind sowohl kleine periphere als auch große Gelenke. Die Entzündung kann sich ausgehend von der Synovialmembran auf umliegende Strukturen wie die Gelenkkapsel, den umgebenden Knorpel und Knochen ausbreiten. Die Folge sind Deformierungen, Funktionsverlust, Steifheit und Schmerzen in den Gelenken bis hin zur völligen Zerstörung der Gelenke (Zamanpoor 2019). Die Erkrankung kann sich nicht nur artikulär, sondern auch extraartikulär manifestieren. Das Risiko für eine Herz-Kreislauf-Erkrankung und andere chronische Entzündungen steigt (Aviña-Zubieta et al. 2008). Wird die Erkrankung nicht rechtzeitig diagnostiziert und therapiert, kann die Lebensqualität und Lebenserwartung der Betroffenen stark reduziert sein (Aletaha et al. 2010).

Die Diagnose der RA erfolgt mithilfe der Klassifikation des American College of Rheumatology (Aletaha et al. 2010). Das Ziel ist es anhand der Klassifizierungskriterien die RA von anderen rheumatischen Erkrankungen abzugrenzen. Wenn vier der aufgeführten Kriterien für mindestens sechs Wochen persistieren, kann die Diagnose gesichert werden:

Morgensteifigkeit, Arthritis in ≥ 3 Gelenken, Arthritis in den Handgelenken, symmetrische Arthritis, Rheumaknoten, Rheumafaktor im Serum, Radiologische Veränderungen.

Der Anti-Citrullin-Protein-Antikörper (ACPA) ist neben dem Rheumafaktor (RF) ein wichtiger serologischer Marker für die RA (Mewar und Wilson 2006; Song und Kang 2010). ACPA kann bis zu 10 Jahre vor den ersten klinischen Symptomen und der Sicherstellung der Diagnose nachgewiesen werden (Helmick et al. 2008; Smolen et al. 2016; Nakken et al. 2017).

1.2.2 Ätiologie

Die Ätiologie der Erkrankung gilt noch nicht als vollständig verstanden. Es wird ein multifaktorielles Geschehen vermutet, welches durch genetische und nicht-genetische Risikofaktoren gekennzeichnet ist.

Der genetische Einfluss auf die Entstehung einer RA ist bereits durch viele Studien untersucht worden. Ein Verwandter/ eine Verwandte ersten Grades eines/einer an RA erkrankten Patienten/Patientin hat etwa das doppelte Risiko an RA zu erkranken (Viatte et al. 2013). Man vermutet, dass circa 50 % der Ätiologie genetischen Ursprungs sind (MacGregor et al. 2000; Scott et al. 2010; Viatte und Barton 2017).

Es wurden mehrere genetische Polymorphismen in *major histocompatibility complex*-Genen (MHC) mit RA assoziiert. Der *human leukocyte antigen*-DRB1-Locus (HLA) mit seinen Allelen HLA-DRB1*04 und HLA-DRB1*01 steht dabei im Vordergrund (Vetchinkina et al. 2021). Neben dieser bekannten Rolle der HLA-Kandidatengene gibt es auch eine Reihe von Nicht-HLA-Genen, die mit einer RA assoziiert werden können.

Darunter zählen genetische Varianten innerhalb der Gene Peptidyl-Arginin-Deiminase Typ 4 (PADI4) (Suzuki et al. 2003; Bax et al. 2011), Peptidyl-Tyrosin-Phosphatase Typ 22 (PTPN22) (Begovich et al. 2004; Simkins et al. 2005; Zoledziwska et al. 2008; Roycroft et al. 2009), Cytotoxisches T-Lymphozyten-assoziiertes Protein 4 (CTLA4) (Plenge et al. 2005), TNF-receptor associated factor 1-C5 (TRAF1-C5) (Suzuki et al. 2003; Plenge et al. 2007), Interleukin 2 (IL-2), IL-6 und nukleärer Faktor-κB (NF-κB) (Remmers et al. 2007; Zhernakova et al. 2007; Ferreira et al. 2013; Spurlock et al. 2015).

Das PADI4-Gen zählt neben dem HLA-DRB1-Locus zum zweitwichtigsten Risikofaktor für RA (Suzuki et al. 2003; Bax et al. 2011). Es beteiligt sich an der Citrullinierung von Arginin und damit an der Produktion von Anti-Cyklisch-Citrullinierten-Peptid-Antikörpern (Anti-CCP) (Bax et al. 2011). Die Protein-Tyrosin-Phosphatase (Nicht-Rezeptor-Typ 22, PTPN22) beeinflusst die T- und B-Zell-Signalübertragung (Klareskog et al. 2009). Das cytotoxische T-Lymphozyten-assoziierte Protein 4 spielt während der T-Zell-Aktivierung eine entscheidende Rolle (Kremer et al. 2003). Es reguliert die Interaktionen zwischen T-Zellen und antigenpräsentierenden Zellen (McInnes und Schett 2011).

Neben genetischen lassen sich auch eine Vielzahl nicht genetischer Faktoren mit der Ätiologie von RA in Verbindung bringen. Darunter zählen berufsbedingte (Schwermetalle, Lösungsmittel), infektiöse (bakteriell oder viral) und lebensstilbedingte Faktoren (Rauchen, Ernährung, Diät) (Gourley und Miller 2007).

Rauchen ist einer der relevantesten Risikofaktoren für RA und wird schätzungsweise für 30 % der ACPA-positiven RA verantwortlich gemacht (Wilson und Goldsmith 1999; Bang et al. 2010; Källberg et al. 2011; Hedström et al. 2018). Rauchen kann die Citrullinierung von Proteinen begünstigen (Ruysen-Witrand et al. 2012; Derksen et al. 2017). Es

erhöht das Risiko an RA zu erkranken erheblich, wenn eine genetische Prädisposition für RA vorliegt (Symmons et al. 1997; McInnes und Schett 2011).

Bakterielle und virale Infektionen wie das *Ebstein-Barr-Virus*, *Escheria coli* und der parodontopathogene Erreger *Porphyromonas gingivalis* (*P.g.*) zählen zu den mikrobiellen Umweltfaktoren (Newkirk et al. 1994; Balandraud et al. 2004; Ebringer und Rashid 2006; Farquharson et al. 2012; Vojdani 2014; Smolen et al. 2016). Neben der Präsenz pathogener Erreger wurde der Vitamin D-Mangel mit einem erhöhten Risiko für das Auftreten einer RA in Verbindung gebracht. Untersuchungen von Kerr et al. zeigten, dass 84 % der teilnehmenden RA-Probanden*innen nicht hinreichend mit Vitamin D versorgt waren. Die 25-Hydroxy Vitamin D-Konzentration betrug weniger als 20ng pro ml Blut. Vitamin D trägt zur Unterdrückung der Autoimmunität bei, indem es zum Beispiel die Freisetzung entzündungsfördernder Zytokine und Chemokine aus Makrophagen verhindert (Kerr et al. 2011).

1.2.3 Pathogenese

Die rheumatoide Arthritis beginnt in der Synovialmembran mit der Präsentation bislang noch unbekannter Antigene durch antigenpräsentierende Zellen gegenüber T-Zellen (vornehmlich CD4+-Zellen). Die Folge ist die Ausbildung eines synovialen Entzündungsgewebes. Ortsansässige myeloische und plasmazytoide dendritische Zellen produzieren die für die T-Zell-Aktivierung und Antigenpräsentation notwendigen Zytokine (IL-12, -15, -18 und -23), HLA-Klasse-II-Moleküle und kostimulatorische Moleküle (Schröder et al. 1996; Lebre et al. 2008). Von Makrophagen und dendritischen Zellen sezernierte Botenstoffe (IL-1, -6, -21) hemmen die Differenzierung regulatorischer T-Zellen und fördern gleichzeitig die Differenzierung der T-Helferzellen des Typs 17, welche nun vermehrt IL-17A, -21, -22 und den Tumornekrosefaktor- α (TNF- α) produzieren (Chabaud et al. 1998; Miossec et al. 2009). Der Kontakt zwischen T-Zell-Rezeptor und antigenpräsentierender Zelle fördert die Produktion von Interferon-gamma (IFN- γ) und damit die Aktivierung von Makrophagen. Es folgt eine Expression von Zytokinen wie zum Beispiel TNF- α , IL-1, -6, -12 und -15, welche in den Chondrozyten, Fibroblasten, Endothelzellen und Osteoklasten die Produktion weiterer Entzündungsmediatoren fördert (McInnes und Schett 2011). Mit der Sezernierung von Antikörpern wie dem Rheumafaktor (RF) und den Antikörpern gegen citrullinierte Peptide (ACPA) durch die Plasmazellen wird die Aktivierung des Komplementsystems und eine weitere Zytokinproduktion begünstigt (Bernhard und Villiger 2001). Die Bildung der

Antikörper resultiert aus einer gesteigerten Aktivität von Deiminasen. Darunter zählt vor allem die Peptidyl-Arginin-Deiminase. Arginin wird in Citrullin umgewandelt und vom Immunsystem nicht als körpereigen erkannt. ACPAs lassen sich bereits Jahre vor dem Auftreten erster Gelenkbeschwerden nachweisen (Nielen et al. 2004; van de Sande et al. 2011; Brink et al. 2013). Die rheumatoide Arthritis kann jedoch auch ohne Anwesenheit dieser Antikörper auftreten.

Polymorphkernige Neutrophile gelangen in den Gelenkspalt und sezernieren Prostaglandine, Proteasen und reaktiven Sauerstoff (Bradfield et al. 2003). Weitere Entzündungszellen gelangen in den Gelenkspalt.

Die Membranverdickung und der damit verbundene Verlust an Verankerung der Fibroblasten-ähnlichen Synovialzellen (FLS) begünstigt eine Expression krankheitsrelevanter Zytokine, Chemokine, Adhäsionsmoleküle und Matrix-Metalloproteasen (MMP). Es folgt die Umgestaltung der extrazellulären Matrix bis hin zur Zerstörung des Gelenkknorpels (MMPs) und Knochens durch TNF- α , IL-1, IL-6 und dem *Receptor-Activator-of-NF- κ B-Ligand* (Cascão et al. 2010).

1.3 Parodontitis

1.3.1 Epidemiologie

Unter Parodontitis versteht man eine chronisch entzündliche Erkrankung multifaktorieller Genese, die unbehandelt zum Verlust der Zähne führen kann. Initiiert wird diese Erkrankung durch die Akkumulation bakterieller Plaque auf der Zahnoberfläche und eine dysregulierte Immunantwort. Klinisch manifestiert sich eine PA durch subgingivale mineralisierte Zahnbeläge, Zahnlockerung, Attachment- und Knochenverlust. Die Erkrankung verläuft häufig still. Nicht immer ist die Parodontitis für den Patienten/ die Patientin selbst erkennbar. Die Folge ist eine zu späte Vorstellung in der Zahnarztpraxis. Nach der fünften deutschen Mundgesundheitsstudie (DMS V) aus dem Jahr 2014 stieg der Behandlungsbedarf bei der Parodontitis aufgrund der demografischen Entwicklung an. „Die schweren Parodontalerkrankungen haben sich bei den jüngeren Erwachsenen [zwischen dem 35. und 44. Lebensjahr] halbiert“ (DMS IV: 17,4 %; DMS V: 8,2 %) (Fünfte Deutsche Mundgesundheitsstudie (DMS V) 2016). „Bei den jüngeren Senioren [im Alter von 65 bis 74 Jahren] zeigte sich ein rückläufiger Trend der moderaten (DMS IV: 47,9 %; DMS V: 44,8 %) und schweren (DMS IV: 44,1 %; DMS V: 19,8 %) Form der Parodontitis trotz mehr erhaltener Zähne.“ (Fünfte Deutsche Mundgesundheitsstudie

(DMS V) 2016) „Dennoch ist jeder zweite jüngere Erwachsene (52 %) [...] und jüngere Senior (65 %) von einer [Parodontitis] betroffen.“ In der Altersgruppe der 75 bis 100-Jährigen ist jeder neunte von zehn Patienten*innen betroffen (Fünfte Deutsche Mundgesundheitsstudie (DMS V) 2016). Die Unterteilung der Parodontitis in milde/keine, moderate und schwere Form erfolgte nach der Center of Disease Control and Prevention/American Academy of Periodontology-Klassifikation (CDC/AAP) (Page und Eke 2007). Als klinische Parameter dienen der klinische Attachmentverlust und die Sondiertiefe. Eine schwere Form der PA lag bei mindestens zwei vorliegenden approximalen Zahnflächen mit einem klinischen Attachmentverlust (CAL) von mindestens 6mm und mindestens einer vorliegenden approximalen Fläche von mindestens 5mm Sondiertiefe vor. Wenn an mehr als einer approximalen Fläche der CAL mindestens 4mm betrug oder mehr als eine proximale Fläche eine Sondiertiefe von mindestens 5mm aufwies lag eine moderate Form der PA vor. Wurden weder die Kriterien der moderaten noch schweren Form der PA erfüllt, dann handelte es sich um eine milde/keine PA. (Page und Eke 2007)

1.3.2 Ätiologie

Die Ätiologie der Erkrankung konnte bis heute noch nicht abschließend geklärt werden (Abbildung 1). Die Parodontitis wird nicht allein durch die Anwesenheit und Konzentration bestimmter Bakterien bestimmt, sondern vielmehr durch eine Dysbiose des Biofilms geknüpft an eine Dysregulation der Wirts-Immunantwort (Darveau 2010). In der Mundhöhle eines/einer parodontal Gesunden befinden sich in Symbiose lebende Mikroorganismen (grampositive Aerobier), die bei intakter Immunantwort deutliche positive Auswirkungen auf die Gesundheit zur Folge haben. Darunter zählen zum Beispiel die antioxidantische Aktivität, der Erhalt eines gesunden Verdauungstraktes, antientzündliche Eigenschaften oder die Resistenz gegenüber der Kolonisierung durch pathogene Erreger (Kilian et al. 2016). Ein veränderter Lebensstil (Ernährung, Rauchen, schlechte Mundhygiene), hormonelle Veränderungen, Allgemeinerkrankungen, eine veränderte Immunantwort oder genetische Besonderheiten können dieses mikrobielle Gleichgewicht stören und das Auftreten einer PA begünstigen (Kilian et al. 2016). Nach der „ökologischen Plaquehypothese“ vermehren sich die Mikroorganismen am schnellsten, die am besten an den veränderten Umweltfaktor angepasst sind (Marsh 2003). Der Anteil der nun dominierenden parodontopathogenen Erreger wird jetzt klinisch relevant.

Eine ungestörte Vermehrung der dentalen Plaque und damit verbundenen Dominanz pathogener Erreger begünstigt eine lokale Entzündung im parodontalen Sulkus. Der sinkende pH-Wert, die erhöhte Sekretion von Sulkusflüssigkeit und eine Abwesenheit von Sauerstoff schaffen optimale Bedingungen für gram-negative Anaerobier wie zum Beispiel *P. gingivalis* (Hajishengallis 2014a; Hajishengallis 2014b). Es folgt ein Teufelskreis, der sich durch eine wachsende Dysbiose und unkontrollierte, überschießende Immunantwort des Wirtes kennzeichnet (Meyle und Chapple 2015; Kilian et al. 2016)

Während das veränderte Mikrobiom und die dysregulierte Immunantwort als Schlüsselfaktoren für die Entstehung der PA gelten, existieren weitere Modulatoren, die das Auftreten der Erkrankung begünstigen. Darunter zählen der Nikotin- und Alkoholkonsum (Genco und Borgnakke 2013), psychosozialer Stress (Nociti et al. 2015), alimentärer Mangel an Vitamin B12, C, D (Chapple et al. 2017; Hujoel und Lingström 2017) und systemische Erkrankungen wie unkontrollierter Diabetes mellitus (Lalla und Papapanou 2011).

Ähnlich wie bei der rheumatoiden Arthritis geht man davon aus, dass die Ätiologie der PA zu 50 % durch die Genetik bestimmt wird (Michalowicz et al. 2000). Es wird vermutet, dass besonders junge Patienten*innen mit fortgeschrittener PA von diesem genetischen Einfluss stark betroffen sind (Laine et al. 2014; Loos et al. 2015).

Veränderungen im Gen ANRIL (Antisense ribonucleic acid in the Inc Locus) (Bochenek et al. 2013; Schaefer et al. 2013), IL-10 (Nibali et al. 2017), VAMP3 (Vesikel-assoziiertes Membranprotein 3) (Divaris et al. 2012), Neuropeptid Y (NPY) (Lundy et al. 2009) und GLT6D1 (glycosyltransferase 6 domain containing 1) (Schaefer et al. 2010) zählen zu diesen genetischen Risikofaktoren.

1.3.3 Pathogenese

Die Parodontitis ist eine opportunistische Infektionserkrankung die mit einer Akkumulation bakterieller Plaque auf der Wurzeloberfläche einhergeht. Zu dem oralen Mikrobiom zählen eine Vielzahl von Erregern. Es ist sehr wahrscheinlich, dass nicht ein Erreger, sondern vielmehr ein Ungleichgewicht innerhalb des Biofilms zugunsten der pathogenen Mikroorganismen und eine fehlerhafte Immunreaktion des Wirtes für die Pathogenität verantwortlich gemacht werden kann (Hajishengallis und Lamont 2012; Kinane et al. 2007; Kinane und Hajishengallis 2009). Man weiß, dass die Besiedlung mit

Aggregatibacter actinomycetemcomitans (A.a.) (Haubek et al. 2008) und *Porphyromonas gingivalis* (P.g.) (Amaliya et al. 2015) eine aggressive und schnell voranschreitende Form der Parodontitis begünstigen kann.

Die Präsentation von Zellbestandteilen (Lipopolysaccharide gramnegativer Bakterien) und Stoffwechselprodukten der Mikroorganismen im parodontalen Spalt gegenüber Mastzellen, Makrophagen und dendritischen Zellen begünstigen eine erste unspezifische Immunreaktion. Es folgt eine Sekretion verschiedenster proinflammatorischer Botenstoffe wie zum Beispiel: Interleukin-1 β , -6, -8, -12, -17, Tumornekrosefaktor- α (TNF- α), Matrix-Metalloproteasen (MMP), Prostaglandine, Stickstoffmonoxid, Neuropeptid Substanz P, Histamin und *Receptor Activator of NF- κ B*-Liganden (RANK-Ligand). Eine lokale Entzündungsreaktion wird ausgelöst. Während zu Beginn nur Endothelzellen, Mastzellen, Makrophagen und polymorphkernige Neutrophile (PMN) beteiligt sind, gelangen jetzt auch Leukozyten und Monozyten zum Ort der Entzündung. Mit Präsenz der Lymphozyten dominiert nun eine spezifische Immunreaktion. Diese wird durch die Produktion pro- und antiinflammatorisch wirksamer Zytokine (TNF- α , IL-17), Immunglobuline, Leukotriene, MMPs und dem RANK-Liganden durch T-Zellen, Plasmazellen, aktivierte PMNs und Fibroblasten gekennzeichnet. Die Osteoklasten werden aktiviert. Die Parodontitis manifestiert sich infolge einer gesteigerten Wirtsreaktion und wird klinisch durch einen Attachment- und Knochenverlust erkennbar (Wolf et al. 2004; Molon et al. 2019).

1.4 Gemeinsamkeiten in Ätiologie und Pathogenese von rheumatoider Arthritis und Parodontitis

Sowohl die RA als auch die PA ist eine chronisch entzündliche Erkrankung multifaktorieller Genese die aufgrund einer dysregulierten Immunreaktion eine Gewebedestruktion zur Folge hat. Beide Erkrankungen zeigen gemeinsame pathologische und immunologische Merkmale (Abbildung 3). Darunter zählen: eine erhöhte Infiltration von Neutrophilen, Monozyten, B- und T-Zellen; die vermehrte Freisetzung von TNF, IL-1, IL-6, MMP; die verminderte Freisetzung von IL-10; die Aktivierung des RANK-Liganden und die Osteoklastendifferenzierung und -reifung (Feldmann et al. 1996a; Firestein 2003; Firestein und McInnes 2017; Molon et al. 2019). Sowohl nicht-genetische (Rauchen, Übergewicht) als auch genetische Faktoren beeinflussen beide Erkrankungen.

Es existieren viele Fall-Kontroll-Studien über den epidemiologischen Zusammenhang beider Erkrankungen. Kaur et al. berichteten in einer Metaanalyse über einen signifikanten Zusammenhang zwischen rheumatoider Arthritis und klinischem Attachment- und Zahnverlust (Kaur et al. 2013). Die Korrelation zwischen Schweregrad der PA und der Krankheitsaktivität der RA ist jedoch noch umstritten (González-Febles und Sanz 2021).

Der Einfluss der Parodontitis auf systemische Erkrankungen wie die rheumatoide Arthritis wird durch folgende biologische Prozesse erklärt: Die mikrobiologische Dysbiose, Entzündungsreaktion und genetische Prädisposition.

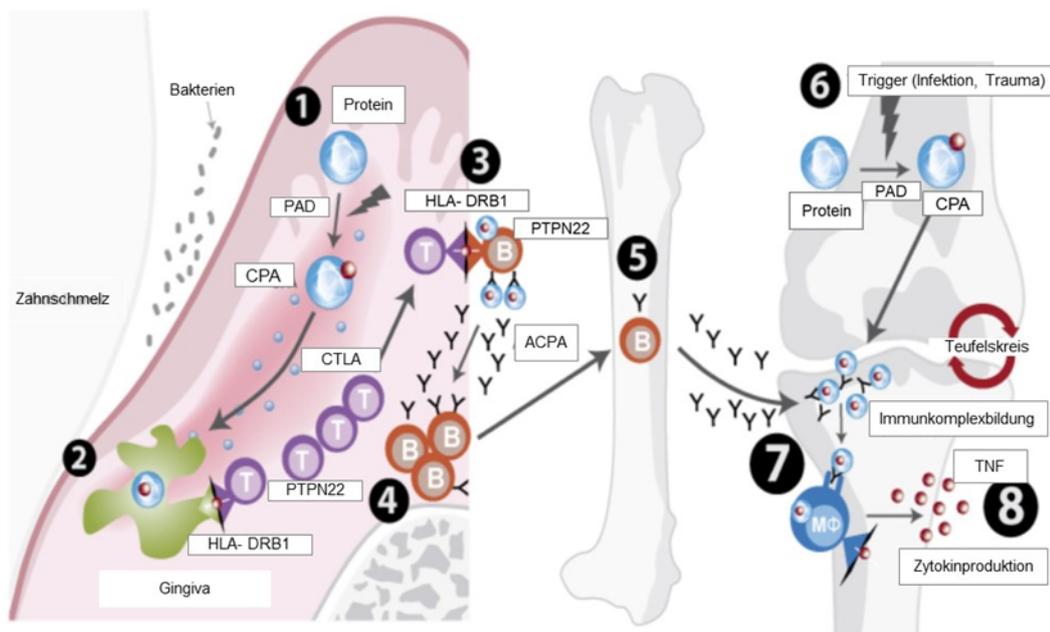


Abbildung 3: Gemeinsamkeiten der Pathogenese der RA und PA (Bartold und Lopez-Oliva 2020)

(1) initiale Entzündung, *P.g.*-Infektion, (2) Citrullinierung, (3-5) T-Zellregulation, Antikörperproduktion, (6) Citrullinierung im Gelenk, (7) Gelenkentzündung, (8) Verstärkung der Entzündung

ACPA= Anti-Citrullin-Protein-Antikörper; **B**= B-Zelle; **CTLA**= Cytotoxisches T-Lymphozyten-assoziiertes Protein; **CPA**= Citrullin-Protein-Antikörper; **HLA-DRB1**= Humanes Leukozytenantigen-DRB1; **MΦ**= Makrophage; **PAD**= Peptidyl-Arginin-Deiminase; **PTPN22**= Peptidyl-Tyrosin-Phosphatase Typ 22; **RA**= Rheumatoide Arthritis; **T**=T-Zelle; **TNF**= Tumornekrosefaktor, **Y**= Antikörper

1.4.1 Die mikrobiologische Dysbiose

Die Veränderung der Zusammensetzung der mikrobiellen Plaque wurde als Schlüsselfaktor für die Entstehung einer Parodontitis beschrieben (Sudhakara et al. 2018). Schwere Symptome im Rahmen einer RA-Erkrankung wurden mit Veränderungen im oralen Mikrobiom in Verbindung gebracht (Corrêa et al. 2019). Eine gemeinsame Schnittstelle könnte dabei die posttranslationale Modifikation der Aminosäure Arginin in Citrullin im Sinne einer Citrullinierung sein (Olsen et al. 2018).

In der Synovia von RA-Probanden*innen konnte die Desoxyribonukleinsäure (DNA) folgender parodontopathogener Erreger nachgewiesen werden: *P.g.*, *Prevotella intermedia*, *Prevotella melaninogenica*, *Tannerella forsythia* und *A.a.* (Okada et al. 2011; Mikuls et al. 2012; Témoïn et al. 2012; Reichert et al. 2013). *P.g.* und *A.a.* sind an der Bildung von Antikörpern gegen citrullinierte humane Proteine und Peptide (ACPAs) beteiligt und bestimmen somit die Pathogenese beider Erkrankungen. Die Bestimmung des serologischen Markers ACPA spielt eine wichtige Rolle bei der Früherkennung und Diagnosesicherung der RA (Hajishengallis 2015; König et al. 2016).

A.a. aktiviert ein humanes citrullinierendes Enzym (PADI4) und bewirkt damit eine Hypercitrullinierung in neutrophilen Granulozyten (König et al. 2016). Vermittelt wird dieser Vorgang durch einen wichtigen Virulenzfaktor von *A.a.*, das porenbildende Toxin Leukotoxin A (LtxA). Die Folge sind Membranschäden und eine unkontrollierte Aktivierung von Citrullinierungsenzymen (König et al. 2016).

P.g. besitzt als einzig bekanntes parodontopathogenes Bakterium die Fähigkeit eine eigene Peptidylarginin-Deiminase zu exprimieren, die die Eigenschaft besitzt körpereigene und bakterielle Peptide am c-terminalen Arginin zu citrullinieren (Perricone et al. 2019; Bartold und Lopez-Oliva 2020). Diese weist jedoch keine Ähnlichkeit zum menschlichen PADI-Enzym auf (McGraw et al. 1999). Es existieren fünf bekannte Isoformen des menschlichen PADI-Enzyms mit unterschiedlicher physiologischer Funktion (Alghamdi et al. 2019). PADI4 wird im Zellkern kodiert. Dieser Isoform wird eine wichtige Rolle bei der Entstehung von Autoimmunerkrankungen wie zum Beispiel RA zugeschrieben. PADI4 wurde unter anderem in T- und B-Lymphozyten, neutrophilen Granulozyten, eosinophilen Granulozyten, Monozyten, natürlichen Killerzellen (NK) und Makrophagen der Synovia nachgewiesen (Routsias et al. 2011). Die Enzymaktivierung erfolgt bei oxidativem Stress oder Apoptose (Routsias et al. 2011). Experimentelle und klinische Studien zeigten bei PA-Probanden*innen, dass die vermehrte Freisetzung der für RA charakteristischen Autoantikörper sowohl aus der Aktivierung der bakteriellen und

menschlichen Peptidylarginin-Deiminase (PADI) und damit verbundenen Citrullinierung körpereigener Proteine resultieren (Mikuls et al. 2012; Gabarrini et al. 2015; Mankia et al. 2019). Die aus der Parodontitis resultierende gesteigerte lokale Citrullinierung scheint somit eine entscheidende Rolle in der Ätiologie der RA einzunehmen (Engström et al. 2018).

1.4.2 Die Entzündungsreaktion

Ein zweiter gemeinsamer Mechanismus beider Erkrankungen ist die Entzündungsreaktion, welche zur wechselseitigen Beeinflussung führen und eine Interferenz mit anderen entzündlichen Erkrankungen möglich machen kann (Araújo et al. 2015; Molon et al. 2019). Entzündungsmediatoren begünstigen die Infiltration von aktivierten T- und B-Lymphozyten, neutrophilen Granulozyten, Monozyten und Makrophagen am Ort des entzündeten Synovial- und Parodontalgewebes (Agnihotri und Gaur 2014). Die B-Zell- und T-Zellregulation wird unter anderem durch das Enzym PTPN22 aber auch das Antigen CTLA4 beeinflusst (Begovich et al. 2004; Bottini et al. 2004; Elshazli und Settin 2015). Das cytotoxische T-Lymphozyten-assoziierte Antigen 4 wird von aktivierten T-Zellen exprimiert und hemmt weitere T-Zellen. Die immunologischen Homöostase wird aufrechterhalten (Magistrelli et al. 1999).

Beiden Erkrankungen ist eine Dysregulation, also ein Ungleichgewicht zwischen pro- und antiinflammatorischen Zytokinen gemeinsam (Furst und Emery 2014). In Studien wurde bestätigt, dass PTPN22 mit einer Zunahme der entzündungsfördernden Zytokine IL-6, IFN- γ , TNF- α und einer Abnahme der entzündungshemmenden Zytokine IL-4 und IL-10 assoziiert werden kann (Begovich et al. 2004; Bottini et al. 2004; Ghorban et al. 2019). All diese Mechanismen begünstigen sowohl die Pathogenese einer PA als auch einer RA.

1.4.3 Die genetische Prädisposition

Die genetischen Komponenten der Pathogenese der RA (Okada et al. 2014; Ding und Orozco 2019; Zamanpoor 2019) und PA (Masumoto et al. 2019; Munz et al. 2019) wurden in zahlreichen Studien untersucht. Die Genetik ist zu etwa 50 % an der Entwicklung einer RA (Scott et al. 2010) oder PA beteiligt (Michalowicz et al. 2000). MHC

Klasse II-HLA-DRB1-Allele wurden im Zusammenhang mit dem Auftreten einer RA und PA vermutet (Machulla et al. 2002; Koziel et al. 2014; Ceccarelli et al. 2019). Weitere Studien zeigten eine gemeinsame Abhängigkeit beider Krankheiten von genetischen Varianten im Gen KCNQ1 (codiert für einen spannungsabhängigen Kaliumkanal) (Kobayashi et al. 2018), IFN- γ (Schulz et al. 2019), IL-1 und IL-10 (Feldmann et al. 1996b; Domínguez-Pérez et al. 2017).

Es gibt bereits Studien die das Auftreten einer RA mit genetischen Veränderungen in den Genen CTLA4 (Plenge et al. 2005), PADI4 (Suzuki et al. 2003) und PTPN22 (Begovich et al. 2004) in Verbindung brachten, jedoch keine, die das Auftreten einer PA belegten.

2 Zielstellung

Es existieren bereits viele Studien über die Bedeutung genetischer Risikofaktoren für das Auftreten einer PA oder RA. Aufgrund von Ähnlichkeiten in der Pathogenese beider Erkrankungen ist zu vermuten, dass auch gemeinsame genetische Risiko- oder Resistenzfaktoren als Bindeglied beider Erkrankungen vorhanden sind. Zu dieser Thematik existieren jedoch nur wenige Studien (Klareskog et al. 2009; Ceccarelli et al. 2019; Molon et al. 2019; Klareskog et al. 2020).

Ziel dieser Studie war die Bestimmung der Genotyp- und Allelverteilung der Kandidatengene PTPN22 (rs2476601), PADI4 (rs2240340), CTLA4 (rs3087243) in einer Kohorte mit RA im Vergleich zu Kontrollprobanden*innen ohne RA. Gleichzeitig wurde berücksichtigt, ob die Patienten*innen mit RA oder die Kontrollprobanden*innen eine schwere Parodontitis aufwiesen oder nicht. Dadurch sollte die Frage beantwortet werden, ob die drei Genpolymorphismen nur zur RA, nur zur PA, zu beiden Erkrankungen oder zu keiner Erkrankung assoziiert waren.

2.1 Hauptziele

Es sollte geklärt werden, ob es eine Assoziation zwischen der Genotyp- und Allelverteilung ausgewählter Kandidatengene (PTPN22, PADI4, CTLA4) und dem Auftreten einer RA und/ oder schweren Parodontitis gibt. Zur Untersuchung diene der Vergleich:

- (1) zwischen der RA-Gruppe und RA-freien Kontrollgruppe in Abhängigkeit des Schweregrades der PA.
- (2) innerhalb der RA-Gruppe in Abhängigkeit des Schweregrades der PA.
- (3) zwischen RA-Probanden*innen mit schwerer PA und RA-freien Probanden*innen ohne schwere PA.

2.2 Nebenziele

Die Nebenziele wurden wie folgt formuliert:

- (4) Gibt es demografische und klinische Unterschiede (approximaler Plaqueindex (API), Sondierblutung (BOP), fehlende Zähne) zwischen der RA- und RA-freien Kontrollgruppe?
- (5) Gibt es demografische und klinische Unterschiede (API, BOP, fehlende Zähne) innerhalb der RA-Gruppe in Abhängigkeit des Schweregrades der PA?

2.3 Arbeitshypothesen

Die Studie diente der Überprüfung folgender Arbeitshypothesen. Die Tabelle 1 präsentiert die durchgeführten Vergleiche:

1. Die Gruppe der RA und RA-freien Probanden*innen unterscheiden sich hinsichtlich ihrer genetischen Variationen (RA-Gruppe vs. RA-freie Gruppe; innerhalb der RA-Gruppe: milde/keine PA vs. schwere PA; RA mit schwerer PA vs. RA-frei ohne schwere PA) (Tabelle1).
2. Es existiert eine Assoziation zwischen der Genotyp- und Allelverteilung ausgewählter Kandidatengene und dem Auftreten einer PA und/ oder RA unter Berücksichtigung des Schweregrades der PA (Tabelle 1).
3. Es existiert eine Assoziation zwischen der Genotyp- und Allelverteilung ausgewählter Kandidatengene zur gleichzeitigen Präsenz einer RA und schweren PA (Tabelle 1).
4. Es existieren demografische und klinische Unterschiede zwischen der RA und RA-freien Kontrollgruppe (Tabelle1).

5. Es existieren demografische und klinische Unterschiede innerhalb der RA-Gruppe in Abhängigkeit des Schweregrades der PA. (Tabelle 1)

Tabelle 1: Übersicht der durchgeführten Gruppenvergleiche hinsichtlich der Beurteilung der Genotyp- und Allelverteilung ausgewählter Kandidatengene und der demografischen/ klinischen Parameter zum Auftreten einer RA, PA, RA und PA

Kontrollgruppe		RA-Gruppe			
keine/milde PA	schwere PA	alle	keine/milde PA	schwere PA	
x		x			Prävalenz von RA
x			x		
	x			x	
			x	x	Prävalenz von PA
x	x				
x				x	Komorbidity

Identifiziert die Studie die Allel- und Genotypverteilung ausgewählter Kandidatengene als Risikofaktoren für das gleichzeitige Auftreten einer RA und schweren PA, so könnte darüber nachgedacht werden, ob ein genomischer Nachweis bei parodontal erkrankten, jedoch RA-gesunden Patienten*innen Bestandteil der (zahn)ärztlichen Routinediagnostik wird, um das Risiko an einer RA zu erkranken zu bestimmen.

3 Material und Methoden

3.1 Rekrutierung der Patienten*innen und Erhebung klinischer Daten

In die vorliegende Fall-Kontroll-Studie wurden 367 Probanden*innen aufgenommen. Unter ihnen befanden sich 111 Patienten*innen mit RA und 256 Probanden*innen ohne RA, die auch an keiner weiteren Erkrankung litten, für die eine Assoziation zur Parodontitis bekannt ist. Die Genehmigung der Untersuchungen erfolgte durch die Ethikkommission der Martin-Luther-Universität. Die Rekrutierung der RA-Patienten*innen und Erhebung klinischer Daten nahmen unter anderem Frau Dr. Elisa Juranz (Reichert et al. 2020), Herr Dr. Maximilian Haffner (Reichert et al. 2013) und die der Kontrollgruppe Frau Dr. Lisa Anne Waltraud Hezel (geb. Hierse) (Schulz et al. 2010) im Rahmen ihrer Dissertationen vor. Die Untersuchung beinhaltete nach ausführlicher Aufklärung und schriftlicher Einwilligung der Probanden*innen in die Studie eine

gründliche anamnestische Befragung, eine zahnärztliche Befundung mit anschließender Erhebung eines Parodontalstatus. Die klinisch-parodontologische Untersuchung, die Probenentnahme für den mikrobiologischen Test und die Blutabnahme bei den Kontrollprobanden*innen erfolgte persönlich oder unter Aufsicht von Herrn apl. Prof. Dr. S. Reichert. Frau Dr. Natalie Alexandra Pütz analysierte die subgingivale Plaque hinsichtlich des Vorkommens von fünf parodontopathogenen Keimen in der Kontroll- und RA-Gruppe. Frau Dr. Elisa Jurianz untersuchte das Blut der Probanden*innen der Kontroll- und RA-Gruppe auf das Vorliegen von Antikörpern gegen citrullinierte Peptide. Die Bestimmung der Genotyp- und Allelverteilung ausgewählter Kandidatengene bei Patienten*innen mit Rheumatoidarthritis und Probanden*innen ohne RA erfolgte im Rahmen der vorliegenden Studie. Alle Daten wurden zum Vergleich in den Tabellen 12-19 zusammengefasst. Die Durchführung der Studie erfolgte nach der Vorschrift der Deklaration von Helsinki (Oktober 2000) und der Empfehlung von „good label laboratory practice“ (OECD, 1999) bzw. „good clinical practice“ (FDA, 2003).

3.2 Ein- und Ausschlusskriterien

Es handelte sich ausschließlich um nicht verwandte Probanden*innen kaukasischer Herkunft, die das 18. Lebensjahr vollendet hatten. Sowohl die RA-Probanden*innen als auch die Kontrollgruppe ohne RA ließen sich in zwei weitere Gruppen unterteilen. Die Unterteilung in milde/keine Parodontitis und schwere Parodontitis erfolgte mithilfe der Klassifikation nach Tonetti und Claffey (Tonetti und Claffey 2005) anhand des approximalen klinischen Attachmentverlustes (CAL) (Tabelle 2).

Tabelle 2: Klassifikation nach Tonetti und Claffey (Tonetti und Claffey 2005)

Parodontitis ja	Parodontitis ja, schwer
Approximaler CAL \geq 3mm an mindestens 2 nicht benachbarten Zähnen	Approximaler CAL \geq 5mm bei \geq 30 % der Zähne

CAL, klinischer Attachmentverlust

Ein approximaler klinischer Attachmentverlust von mehr als 3,5mm wurde bei dem Vorliegen einer falschen Putztechnik im Sinne eines horizontalen Bürstens, bei primär endodontischen Läsionen, überkonturierten subgingivalen Restaurationen,

Pseudotaschen an den letzten Molaren und nach erfolgter kieferorthopädischer Therapie nicht als Parodontitisfall gewertet.

Unter den RA-Probanden*innen (n= 111) befanden sich 26 mit einer schweren und 85 mit einer milden bzw. keiner Parodontitis und unter der Kontrollgruppe (n= 256) 161 mit schwerer PA und 95 mit milder/keiner PA (Abbildung 4).

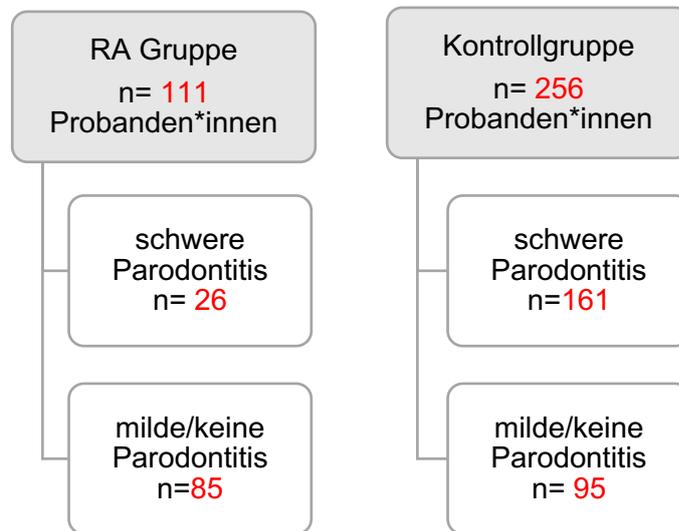


Abbildung 4: Verteilung der Probanden*innen

Zur Realisierung der Vergleichbarkeit unter den Gruppen wurden Ein- und Ausschlusskriterien bestimmt, die in den nachstehenden Tabellen (Tabellen 3 und 4) präsentiert werden.

Tabelle 3: Ein-/ Ausschlusskriterien der Kontrollgruppe

Einschluss-	Ausschlusskriterien
≥ 30 Jahre ≥ 4 Zähne	<ul style="list-style-type: none"> - systemische Antibiose in den letzten drei Monaten - subgingivale Instrumentierung in den letzten sechs Monaten <ul style="list-style-type: none"> - Schwangerschaft - Allgemeinerkrankungen mit bekannter Assoziation zur Parodontitis (Diabetes mellitus Typ I oder II, Morbus Crohn, koronare Herzkrankheit, Lupus erythematodes, Morbus Behçet, oraler Pemphigus oder Pemphigoid) - Einnahme von Gingivahyperplasie verursachenden Medikamenten (Antiepileptika, Kalziumkanalblocker, Cyclosporin)

Tabelle 4: Ein-/ Ausschlusskriterien der RA-Gruppe

Einschluss-	Ausschlusskriterien
≥ 18 Jahre ≥ 4 Zähne Rheumatoide Arthritis	<ul style="list-style-type: none">- systemische Antibiose in den letzten drei Monaten- subgingivale Instrumentierung in den letzten sechs Monaten<ul style="list-style-type: none">- Schwangerschaft- Allgemeinerkrankungen mit bekannter Assoziation zur Parodontitis (Diabetes mellitus Typ I oder II, Morbus Crohn, koronare Herzkrankheit, Lupus erythematodes, Morbus Behçet, oraler Pemphigus oder Pemphigoid;- Einnahme von Gingivahyperplasie verursachenden Medikamenten

Die Diagnosesicherung der RA-Patienten*innen erfolgte durch die Klinik für Innere Medizin 2 des Universitätsklinikums Halle/Saale (Arbeitsbereich Rheumatologie Prof. G. Keyßer, Dr. C. Schäfer), das Rheumahaus Potsdam (Berufsausübungsgemeinschaft Dr. M. Bohl-Bühler, Dr. S. Reckert) und drei rheumatologische Arztpraxen aus Halle/Saale (Dr. A. Liebhaber, Dr. Th. Linde, Dr. R. Schoebeß) und Magdeburg (Dr. C. Weimann) nach aktuellen Kriterien zur Klassifizierung der rheumatoiden Arthritis (Aletaha et al. 2010), wenn mindestens vier der sieben aufgeführten Kriterien erfüllt wurden: Morgensteifigkeit > 6 Wochen, Arthritis in ≥3 Gelenken für > 6 Wochen, Arthritis an der Hand > 6 Wochen, Symmetrische Arthritis > 6 Wochen, Rheumaknoten, Rheumafaktor im Serum, Radiologische Veränderungen.

3.3 Zahnärztliche Untersuchung

Die anamnestische Befragung und anschließende Befundung erfolgten bei jedem Probanden/ jeder Probandin nach gleichem Prinzip und beinhalteten folgende Schwerpunkte:

- Angaben zur Person: Name, Vorname, Geschlecht, Größe, Gewicht, Geburtsdatum, ethnische Zugehörigkeit, Telefonnummer, Adresse, Herkunftsland

- Allgemeine Ein-/ und Ausschlusskriterien (siehe Kapitel 3.2 Tabellen 2, 3 und 4)
- Eigenanamnese: Herz-Kreislauf-/ Stoffwechsel-/ Infektionserkrankungen, Allergien, Schwangerschaft
- Spezielle Anamnese: systemische Antibiotikatherapie innerhalb der letzten drei Monate, subgingivale Therapie innerhalb der letzten sechs Monate
- Medikamentenanamnese (z.B. Hydantoin, Kalciumkanalblocker, Cyclosporin A)
- Raucheranamnese:
 - a) Ehemaliger Raucher*innen: ≥ 12 Monate rauchfrei (Zeit in Jahren seit letztem Nikotinkonsum)
 - b) aktive Raucher*innen (Anzahl der Zigaretten/Tag)
 - c) Nichtraucher*innen
- Familienanamnese: frühzeitiger Zahnverlust durch Zahnlockerung bei Eltern oder Geschwistern

Der zahnärztliche Befund beinhaltete folgende klinische Daten:

fehlende Zähne (exklusive Weisheitszähne), Summe der höchsten Werte der Sondiertiefe pro Zahn nach Sechspunktmessung (PDmax in mm)/ Gesamtanzahl der Zähne, Summe höchster Wert des klinischen Attachmentverlustes pro Zahn nach Sechspunktmessung (CALmax in mm)/ Gesamtanzahl der Zähne, prozentualer Anteil der Zähne mit PD <4mm /4-6mm />6mm, prozentualer Anteil der Zähne mit CAL <4mm /4-6mm />6mm, Sondierblutung (BOP, zahnbezogen/zahnflächenbezogen, %), Approximaler-Plaueindex (API, %) (Lange et al. 1977)

Die parodontale Untersuchung der Kontroll-Gruppe erfolgt zu einem früheren Zeitpunkt mit einer nicht druckkalibrierten (PCPUNC156, Hu Friedy) und die der RA-Gruppe mit einer druckkalibrierten Sonde (VICACARE TPS PERIODONTAL PROBE Schaan, Liechtenstein oder DB764R Aesculap AG & Co. KG, Tuttlingen, Deutschland).

3.4 Intraorale Probenentnahme für die mikrobiologische Untersuchung

Zum genomischen Nachweis parodontopathogener Markerkeime erfolgte nach supragingivaler Reinigung eine Probenentnahme mittels einer sterilen Papierspitze aus der tiefsten Parodontaltasche jedes Quadranten für 20 Sekunden (Micro-Ident-Test der Firma Hain, Hain Diagnostica, Nehren).

Die Analyse der Proben erfolgte innerhalb einer Woche nach Entnahme im Labor der Universitätsklinik für Zahnerhaltungskunde und Parodontologie. Die Isolation der bakteriellen DNA erfolgte mithilfe des QIAamp®-DNA-Mini-Kit gemäß der Anleitung des Herstellers (Qiagen, Hilden, Deutschland). Die anschließende Untersuchung auf das subgingivale Vorkommen von *A.a.*, *P.g.*, *Prevotella intermedia (P.i.)*, *Tannerella forsythia (T.f.)* und *Treponema denticola (T.d.)* wurde mithilfe des micro-Ident®-test von HAIN-Diagnostik (Nehren, Deutschland) gemäß Herstellerprotokoll durchgeführt. (Schulz et al. 2008)

3.5 Genomische Untersuchungen

3.5.1 DNA-Isolation

Für die genetische Analyse wurde den Probanden*innen im Rahmen der klinischen Untersuchung nach Venenpunktion mit einer EDTA-haltigen Monovette Blut entnommen. Die DNA-Isolation erfolgte durch Frau apl. Prof. Dr. Susanne Schulz im Labor der Universitätspoliklinik für Zahnerhaltungskunde und Parodontologie mithilfe des QIAamp®-DNA-Blood-Kits gemäß Herstellerangaben (Qiagen, Hilden, Deutschland).

3.5.2 Polymerasekettenreaktion (PCR)

Zur Vervielfältigung der DNA wurden in Abhängigkeit des zu bestimmenden Genabschnittes (Tabelle 5) unterschiedliche PCR-Ansätze (Tabellen 6, 7 und 8) in eine 96-well-Platte der Universität Heidelberg pipettiert und anschließend in den Mastercycler®-Gradient der Firma Eppendorf (Hamburg, Deutschland) gegeben.

Tabelle 5: Übersicht verwendeter Primer und Restriktionsenzyme

SNP	PCR-Primer 5'3'	Fragment-länge	Restriktions-enzym
PADI4: rs2240340	upper GCG CAC AAG GAG ATT TCT GAA ATC CCA TCG	131bp	Taq α1
	lower TCA CAC TAT GGG TGC ACA CAG TC		
CTLA4: rs3087243	upper CTG GAA ACA AAC TGA AAA ACC	253bp	NlaIII
	lower GCC TGT GAT AGT TGA GCT GAG		
PTPN22: rs2476601	upper CTC AAG GCT CAC ACA TCA GC	337bp	RsaI
	lower TTG AAT GAA CAA GTG TCA AC		

bp= Basenpaare; AGCT= Basen Adenin, Guanin, Cytosin, Thymin A

Tabelle 6: PCR Protokoll PADI4

PCR-Ansatz	PCR-Programm	
10,5 µl Wasser	95°C → 2min	
12,5 µl Mastermix (Promega, Mannheim)	92°C → 30s	
0,5 µl PADI4 upper Primer (New England BioLabs @Inc., Frankfurt, Deutschland)	65°C → 30s	9 Zyklen
	72°C → 30s	
0,5 µl PADI4 lower primer (New England BioLabs @Inc.)	92°C → 30s	
1 µl DNA	60°C → 30s	24 Zyklen
	72°C → 30s	
	72°C → 5min	

Tabelle 7: PCR Protokoll CTLA4

PCR-Ansatz	PCR-Programm
10,5 µl Wasser	95°C → 2min
12,5 µl Mastermix	92°C → 30s
0,5 µl CTLA4 upper primer (New England BioLabs ®Inc.)	57°C → 30s
	72°C → 30s
	9 Zyklen
0,5 µl CTLA4 lower primer (New England BioLabs ®Inc.)	92°C → 30s
	53°C → 30s
	72°C → 30s
	24 Zyklen
1 µl DNA	72°C → 5min

Tabelle 8: PCR Protokoll PTPN22

PCR-Ansatz	PCR-Programm
10,25 µl Wasser	95°C → 2min
12,5 µl Mastermix	92°C → 30s
0,5 µl PTPN22 upper primer (New England BioLabs ®Inc.)	50°C → 30s
	72°C → 30s
	11 Zyklen
0,5 µl PTPN22 lower primer (New England BioLabs ®Inc.)	92°C → 30s
	45°C → 30s
	72°C → 30s
	22 Zyklen
0,25 µl Formamid	72°C → 5min
1 µl DNA	

Die Darstellung der Amplifikate erfolgte mittels Agarosegelelektrophorese. Hierfür wurden 0,6 g Sekam-Agarose (Biozym, Scientific GmbH, Hessisch Oldendorf, Deutschland) in 50 ml 0,5x Tris-Borat-Ethylendiamintetraessigsäure (TBE)-Puffer gelöst (1,2 %ig), ein bis zwei Minuten in der Mikrowelle bei 700 Watt homogenisiert, mit 25 µl Midori Green Advance DNA-Farbstoff (Biozym, Scientific GmbH, Hessisch Oldendorf, Deutschland) vermengt und anschließend in einen Träger gegossen. Nach Erstarrung des Gels wurden die Kämme gezogen, die Elektrophoresekammer (Bioplex® Strehlau und Kruse GmbH, Freiburg, Deutschland) mit 0,5x TBE-Puffer gefüllt, 1µl Ladepuffer mit 10 µl amplifizierter DNA vermengt und in eine Geltasche gegeben. In die erste Geltasche wurden 5µl 100bp-Leiter (Gibco BRL, Eggenstein, Deutschland) gegeben. Die Elektrophorese erfolgte bei 300 Volt und sollte eine Zeit von mehr als 10 Minuten nicht überschreiten. Die Identifizierung erfolgte anschließend auf einem Ultraviolett (UV)-

Transilluminator (AGS, Heidelberg, Deutschland) bei einer Wellenlänge von 320nm. Das Ergebnis wurde notiert und fotografisch archiviert (Abbildung 5).

3.5.3 Restriktionsfragmentlängenpolymorphismus (RFLP)

Nach Herstellung und Inkubation der in den Tabellen 9, 10 und 11 aufgeführten Verdauansätze erfolgte zur Genotypisierung ein Gelauftrag (3 %ig; 1,5g Agarose, 50ml 0,5xTBE Puffer, 25 µl Midori Green Advance DNA-Farbstoff, 10µl Verdauprodukt).

Tabelle 9: Verdau PADI4

Verdau-Ansatz	Verdau-Programm
2,75 µl Wasser 2 µl Cut Smart (New England BioLabs ®Inc.) 0,25 µl 5U Taq α1 (New England BioLabs ®Inc.) 15 µl DNA	65°C → 1h 80°C → 20min

Tabelle 10: Verdau CTLA4

Verdau-Ansatz	Verdau-Programm
2,5µl Wasser 2 µl Cut Smart (New England BioLabs ®Inc.) 0,5 µl 5U NlaIII (New England BioLabs ®Inc.) 15 µl DNA	37°C → 1h 65°C → 20min

Tabelle 11: Verdau PTPN22

Verdau-Ansatz	Verdau-Programm
2,25 µl Wasser 2 µl Cut Smart (New England BioLabs ®Inc.) 0,75 µl 7,5U RSAI (New England BioLabs ®Inc.) 15 µl DNA	37°C → 1h 65°C → 20min

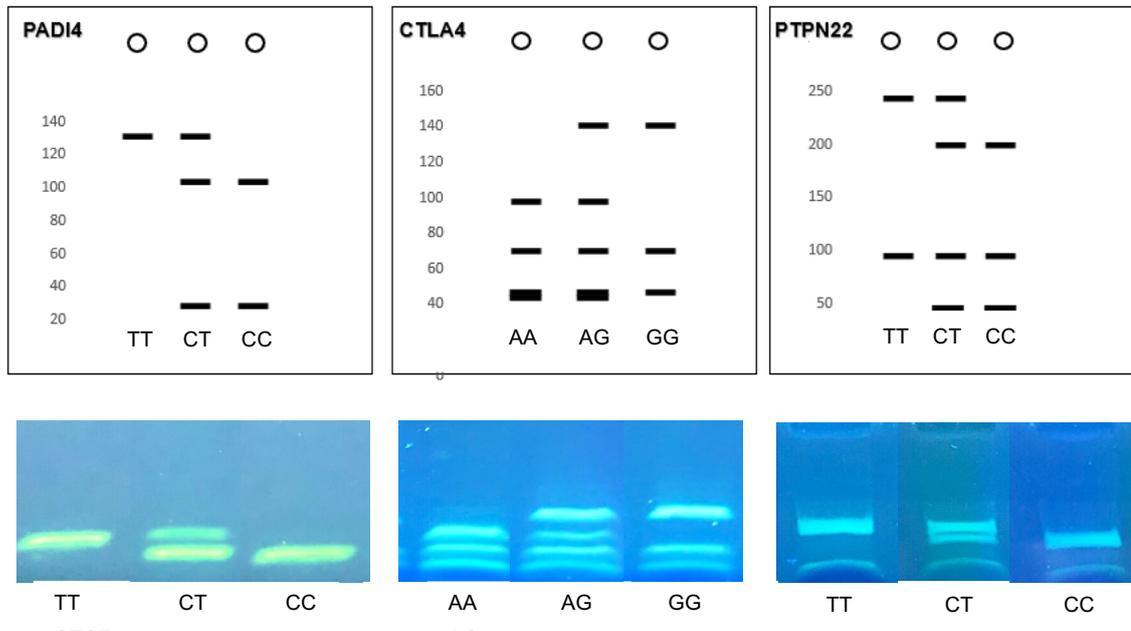


Abbildung 5: Agarosegelelektrophorese schematisch und fotografisch dargestellt

3.6 Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung erfolgte unter Annahme eines Signifikanzniveaus $p \leq 0,05$ mithilfe von IBM SPSS Statistics 25 (SPSS 25.0 package, Chicago, IL). Anhand des Kolmogorov-Smirnov- und Shapiro-Wilk Test bestätigte sich, dass alle metrischen Variablen nicht normalverteilt waren und deshalb die Mediane und 25/75 Interquartile in die Berechnungen einbezogen wurden. Für die statistischen Vergleiche metrischer Variablen wurden der Mann-Whitney-U-Test und Kruskal-Wallis Test herangezogen. Kategoriale Variablen wurden in Kontingenztabelle dargestellt und mittels Chi²-Test und Yates-Korrektur evaluiert. Der Fishers Exakt-Test kam zum Einsatz, wenn die erwarteten Häufigkeiten in einer Zelle der Vierfeldertafel < 5 waren. Das Verfahren der binären logistischen Regression wurde genutzt, um den gleichzeitigen Einfluss mehrerer Faktoren bezüglich des Auftretens von PA-, RA- und PA/RA- Komorbiditäten zu untersuchen.

4 Ergebnisse

Das Ziel dieser Fall-Kontrollstudie war die Untersuchung ausgewählter RA-assoziierten Kandidatengene hinsichtlich des Auftretens von RA, PA und RA/PA-Komorbidität. Die Genotyp- und Allelverteilung folgender SNPs wurde beschrieben: rs2476601 (PTPN22), rs2240340 (PAID4) und rs3087243 (CTLA4).

4.1 Demografische und klinische Parameter

Die Probandengruppe zählte 367 Patienten*innen (111 mit RA und 256 ohne RA). Eine weitere Unterteilung erfolgte anhand des parodontalen Status. Die Tabelle 12 zeigt demografische und parodontale Merkmale in Abhängigkeit von RA und PA. Die Probanden*innen mit RA (n=111) waren älter ($p<0,001$), häufiger weiblichen Geschlechts ($p=0,001$) und rauchten häufiger ($p=0,003$) als die Kontrollgruppe ohne RA und schwerer PA (n=95). RA-Patienten*innen hatten erhöhte Sondierungstiefen ($p<0,001$), erhöhten approximalen CAL ($p<0,001$) und berichteten häufiger über Zahnverlust ($p<0,001$).

RA-Probanden*innen mit schwerer Parodontitis waren häufiger männlich ($p=0,048$) und Raucher*innen ($p=0,034$).

Tabelle 12: Demografische und Klinische Parameter in Abhängigkeit einer RA und PA

Variablen	Kontrollgruppe		RA-Gruppe			p-Wert**
	keine/milde PA n=95	schwere PA* n=161	gesamt n=111	keine/milde PA n=85	schwere PA* n=26	
Demografische Parameter						
Alter, Median in Jahre; (25 %/75 % Perzentile)	43,0 (38,0/51,0)	45,0 (38,0/52,0)	56,0 (48,0/63)	56,0 (47,0/63,0)	56,5 (50,0/64,5)	<0,001
Geschlecht männlich (%)	51,6	37,3	28,8	23,5	46,2	0,001
derzeitige Rauchende (%)	21,1	29,4	23,4	18,8	38,5	0,003
Klinische Parameter, (25 %/75 % Perzentile)						
API, Median in %	39,0 (28,6/59,3)	57,0 (38,0/82,0)	35,7 (11,5/66,7)	27,0 (7,25/58,55)	64,1 (37,6/84,1)	0,176
BOP/ Zahn, Median in %	42,0 (23,1/63,0)	82,5 (56,0/100,0)	36,4 (18,2/69,6)	32,0 (16,7/63,25)	58,6 (32,4/89,8)	0,941
PD, Median in mm	2,52 (2,27/2,76)	5,29 (4,52/6,4)	3,0 (2,7/3,7)	2,8 (2,6/3,2)	4,3 (3,78/4,96)	<0,001
CAL, Median in mm	2,8 (2,55/3,14)	6,1 (5,27/7,16)	3,4 (2,9/4,3)	3,1 (2,8/3,7)	5,15 (4,5/6,05)	<0,001
Fehlende Zähne (außer 8ter)	2,0 (0/4,0)	3,0 (1,0/6,0)	5,0 (2,0/10,0)	4,0 (1,0/10,0)	8,5 (5,0/15,25)	<0,001

*Approximaler CAL \geq 5mm bei \geq 30 % der Zähne

**Der p-Wert ergibt sich aus dem statistischen Vergleich zwischen den Probanden*innen der Kontrollgruppe ohne/milde PA (n=95) und der RA-Gesamtgruppe (n=111)

4.2 Assoziationen der untersuchten SNPs zur Präsenz einer RA

Bivariate Vergleiche genetischer Varianten in Abhängigkeit von RA sind in der Tabelle 13 dargestellt, multivariate Vergleiche in Tabelle 14. Der SNP rs2476601 (PTPN22-Gen) war mit einer erhöhten Prävalenz von RA verbunden (Tabelle 13). RA-Probanden*innen (gesamt) waren häufiger Träger*innen des T-Allels ($p < 0,001$) und Träger*innen von CT+TT-Genotypen ($p = 0,006$) als RA-freie Kontrollen ohne schwere Parodontitis. In binären logistischen Regressionsanalysen konnten unter Berücksichtigung von Alter, Geschlecht, Raucherstatus und dem subgingivalen Vorkommen von *A.a.* und *P.g.* als Kofaktor das T-Allel ($p = 0,018$; Tabelle 14) und die CT+TT-Genotypen ($p = 0,021$, Tabelle 14) als unabhängige Prädiktoren für das Auftreten einer RA bestätigt werden. Probanden*innen der RA-Gruppe mit schwerer Parodontitis waren häufiger T-Allel- (bivariat: $p < 0,001$; multivariat: $p = 0,032$) oder CT+TT-Genotypenträger*innen (bivariat:

p<0,001; multivariat: p=0,014) als Probanden*innen der RA-freien Kontrollgruppe mit schwerer Parodontitis.

Vergleicht man die gesamte RA-Gruppe mit RA-freien Kontrollen ohne schwere Parodontitis, zeigt sich im SNP rs2240340 (PADI4-Gen) eine erhöhte Anfälligkeit des T-Allels (p=0,006) und der CT+TT-Genotypen (p=0,035) gegenüber einer RA. Weder das T-Allel (p=0,070) noch die CT+TT-Genotypen (p=0,210) konnten in einem multivariaten Risikomodell (binäre logistische Regressionsanalysen) unter Berücksichtigung von Alter, Geschlecht, Raucherstatus und dem Auftreten von *A.a.* und *P.g.* als Kofaktoren, als unabhängiger Faktor mit RA assoziiert werden (Tabelle 14). Als Risikofaktoren für RA konnten dagegen zunehmendes Alter, Rauchen und das Auftreten von *P.g.* und das Fehlen von *A.a.* nachgewiesen werden (Tabelle 14). Im Vergleich zwischen RA-Probanden*innen ohne schwere PA und RA-freien Kontrollen ohne schwere PA war das T-Allel von rs2240340 im PADI4-Gen mit einem erhöhten RA-Risiko verbunden (bivariat: p=0,006; multivariat: p=0,044).

Der SNP rs3087243 im CTLA4-Gen wurde in bivariaten und multivariaten Risikomodellen nicht mit dem Auftreten einer RA in Verbindung gebracht.

Tabelle 13: Genotyp- und Allelverteilung der SNPs rs2476601 (PTPN22-Gen), rs2240340 (PADI4-Gen) und rs3087243 (CTLA4-Gen) hinsichtlich einer Prävalenz von RA

Variablen	Kontrollgruppe		RA-Gruppe			p-Wert		
	keine/milde PA	schwere PA*	alle	keine/milde PA	schwere PA*	Prävalenz von RA		
	n=95	n=161	n=111	n=85	n=26	I. vs. III.	I. vs. IV.	II. vs. V.
	I.	II.	III.	IV.	V.			
PTPN22, rs2476601								
CC-Genotyp (%)	78,9	74,5	60,4	67,1	38,5			
CT-Genotyp (%)	19	23,5	36,0	29,4	57,7			
TT-Genotyp (%)	2,1	1,9	3,6	3,5	3,8	0,012*	0,197	<0,001*
CT+TT-Genotypen (%)	21,1	25,5	39,6↑	32,9	61,5↑	0,006	0,103	<0,001
C-Allel (%)	88,4	86,3	78,4	81,8	67,3			
T-Allel (%)	11,6	13,7	21,6↑	18,2	32,7↑	<0,001	0,051	<0,001

PADI4, rs2240340								
CC-Genotyp (%)	51,6	38,5	36,0	37,6	30,8			
CT-Genotyp (%)	11,6	27,3↑	14,5	9,4	30,7↑			
TT-Genotyp (%)	36,8	34,2	49,5	52,9	38,5	0,079	0,093	0,751
CT+TT-Genotypen (%)	48,4	61,5	64,0↑	62,4	69,2	0,035	0,084	0,590
C-Allel (%)	57,4	52,2	43,2	42,4	46,2			
T-Allel (%)	42,6	47,8	56,8↑	57,6	53,8↑	0,006	0,006	0,512
CTLA4, rs3087243								
GG-Genotyp (%)	37,9	33,5	44,1	48,2	30,8			
AG-Genotyp (%)	50,5	47,2	44,2	37,6	65,4			
AA-Genotyp (%)	11,6	19,3	11,7	14,1	3,8↓	0,628	0,221	0,089*
AG+AA-Genotypen (%)	62,1	66,5	55,9	51,8	69,2	0,444	0,221	0,957
G-Allel (%)	63,2	57,1	66,2	67,1	63,5			
A-Allel (%)	36,8	42,9	33,8	32,9	36,5	0,586	0,507	0,481

Der statistische Vergleich erfolgte mit dem Chi²-Test und der Yates-Korrektur bzw. dem *Fishers Exakt-Test, wenn die erwartete Häufigkeit < 5 betrug.

Tabelle 14: Binäre logistische Regressionsanalyse zur Untersuchung einer Assoziation der SNPs zur Präsenz einer RA

Variablen	Regressions- koeffizient	Exp(B)	95 % Konfidenzintervall für Exp(B)		p-Wert
			unterer	oberer Wert	
a) T-Allel des SNP rs2476601 im PTPN22-Gen (Probanden*innen ohne RA und PA (n=95) vs. RA-Probanden*innen (n=111))					
Alter	0,064	1,066	1,046	1,087	<0,001
Geschlecht männlich	-0,987	0,373	0,232	0,599	<0,001
derzeitige Rauchende	0,712	2,041	1,276	3,257	0,003
P.g. positiv	1,133	3,106	1,799	5,405	<0,001
A.a. positiv	-1,747	0,174	0,076	0,402	<0,001

T -Allel multivariat bivariat	0,779	2,179 2,221	1,143 1,29	4,149 3,825	0,018 <0,001
b) T-Allel des SNP rs2476601 im PTPN22-Gen (Probanden*innen ohne RA und PA (n=95) vs. RA-Probanden*innen ohne schwere PA (n=85))					
Alter	0,144	1,155	1,103	1,210	<0,001
Geschlecht männlich	0,611	1,843	0,837	4,059	0,129
derzeitige Rauchende	2,078	8,00	3,257	19,91	<0,001
<i>P.g.</i> positiv	-0,901	0,406	0,167	0,986	0,047
<i>A.a.</i> positiv	-2,453	0,086	0,018	0,400	0,002
T-Allel multivariat bivariat	0,959	3,546 1,787	1,086 0,994	6,289 3,214	0,032 0,051
c) CT+TT-Genotypen des SNP rs2476601 im PTPN22-Gen (Probanden*innen ohne RA und PA (n=95) vs. RA-Probanden*innen (n=111))					
Alter	0,064	1,066	1,037	1,095	<0,001
Geschlecht männlich	0,973	2,646	1,347	5,196	0,005
derzeitige Rauchende	0,681	1,975	1,013	3,853	0,046
<i>P.g.</i> positiv	1,130	3,095	1,401	6,835	0,005
<i>A.a.</i> positiv	-1,719	0,179	0,054	0,590	0,005
CT+TT- Genotypen multivariat bivariat	0,863	2,370 2,643	1,137 1,424	4,941 4,907	0,021 0,006
d) T-Allel des SNP rs2240340 im PADI4-Gen (Probanden*innen ohne RA und PA (n=95) vs. RA-Probanden*innen (n=111))					
Alter	0,063	1,065	1,045	1,086	<0,001
Geschlecht männlich	-0,968	0,380	0,237	0,610	<0,001
derzeitige Rauchende	0,780	2,183	1,364	3,484	0,001
<i>P.g.</i> positiv	1,082	2,950	1,695	5,128	<0,001
<i>A.a.</i> positiv	-1,697	0,183	0,079	0,422	<0,001
T-Allel multivariat	0,425	1,529	0,965	2,42	0,070

bivariat		1,716	1,165	2,527	0,006
e) T-Allel des SNP rs2240340 im PADI4-Gen (Probanden*innen ohne RA und PA (n=95) vs. RA-Probanden*innen ohne schwere PA (n=85))					
Alter	0,058	1,060	1,039	1,081	<0,001
Geschlecht männlich	-1,167	0,311	0,187	0,517	<0,001
derzeitige Rauchende	0,619	1,855	1,136	3,030	0,013
P.g. positiv	0,719	2,053	1,145	3,676	0,016
A.a. positiv	-1,458	0,233	0,098	0,554	0,001
T-Allel					
multivariat	0,493	1,637	1,013	2,645	0,044
bivariat		1,771	1,170	2,681	0,006

4.3 Assoziationen der untersuchten SNPs zur Präsenz einer schweren PA

Die folgende Auswertung beschreibt mögliche Zusammenhänge zwischen den SNPs in den Genen PTPN22, PADI4 und CTLA4 und einer schweren Parodontitis. In der RA-Gruppe bestätigte sich ein Zusammenhang zwischen dem T-Allel (bivariat: $p=0,043$; multivariat: $p=0,024$; Tabellen 15 und 16), den CT+TT-Genotypen (bivariat: $p=0,017$; multivariat: $p=0,010$) des SNP rs2476601 im PTPN22-Gen und einer schweren PA (Tabelle 15).

Der CT-Genotyp im SNP rs2240340 (PADI4-Gen) zeigte in der RA-Gruppe (bivariat: $p=0,025$; multivariat: $p=0,037$) und RA-freien Gruppe (bivariat: $p=0,007$; multivariat: $p=0,053$) (Tabelle 15) eine Assoziation mit einer schweren PA.

Der AG-Genotyp von rs3087243 im CTLA4-Gen bei RA-Patienten*innen war ebenso mit einer schweren PA assoziiert (bivariat: $p=0,031$; multivariat: $p=0,631$) (Tabelle 15).

Tabelle 15: Genotyp- und Allelverteilung der SNPs rs2476601 (PTPN22-Gen), rs2240340 (PADI4-Gen) und rs3087243 (CTLA4-Gen) hinsichtlich einer Prävalenz von PA

Variablen	Kontrollgruppe		RA-Gruppe			p-Wert	
	keine/milde PA	schwere PA*	alle	keine/milde PA	schwere PA*	Prävalenz von PA	
	n=95 I.	n=161 II.	n=111 III.	n=85 IV.	n=26 V.	IV. vs. V.	I. vs. II.
PTPN22, rs2476601							
CC-Genotyp (%)	78,9	74,5	60,4	67,1	38,5		
CT-Genotyp (%)	19	23,5	36,0	29,4	57,7		
TT-Genotyp (%)	2,1	1,9	3,6	3,5	3,8	0,031*	0,683
CT+TT-Genotypen (%)	21,1	25,5	39,6 ↑	32,9	61,5 ↑	0,017	0,516
C-Allel (%)	88,4	86,3	78,4	81,8	67,3		
T-Allel (%)	11,6	13,7	21,6 ↑	18,2	32,7 ↑	0,043	0,587
PADI4, rs2240340							
CC-Genotyp (%)	51,6	38,5	36,0	37,6	30,8		
CT-Genotyp (%)	11,6	27,3↑	14,5	9,4	30,7 ↑		
TT-Genotyp (%)	36,8	34,2	49,5	52,9	38,5	0,025	0,007
CT+TT-Genotypen (%)	48,4	61,5	64,0 ↑	62,4	69,2	0,685	0,056
C-Allel (%)	57,4	52,2	43,2	42,4	46,2		
T-Allel (%)	42,6	47,8	56,8 ↑	57,6	53,8 ↑	0,746	0,295
CTLA4, rs3087243							
GG-Genotyp (%)	37,9	33,5	44,1	48,2	30,8		
AG-Genotyp (%)	50,5	47,2	44,2	37,6	65,4		
AA-Genotyp (%)	11,6	19,3	11,7	14,1	3,8 ↓	0,031*	0,257
AG+AA-Genotypen (%)	62,1	66,5	55,9	51,8	69,2	0,179	0,569
G-Allel (%)	63,2	57,1	66,2	67,1	63,5		
A-Allel (%)	36,8	42,9	33,8	32,9	36,5	0,755	0,213

Der statistische Vergleich erfolgte mit dem Chi²-Test und der Yates-Korrektur bzw. dem *Fishers Exakt-Test, wenn die erwartete Häufigkeit < 5 betrug.

Tabelle 16: Binäre logistische Regressionsanalyse zur Untersuchung einer Assoziation des SNP rs2476601 zur Präsenz einer schweren PA unter Berücksichtigung von Kofaktoren

Variablen	Regressionskoeffizient	Exp(B)	95%Konfidenzintervall für Exp(B)		p-Wert
			unterer Wert	oberer Wert	
T-Allel des SNP rs2476601 im PTPN22-Gen (RA-Probanden*innen ohne schwere PA (n=85) vs. RA-Probanden*innen mit schwerer PA(n=26))					
Alter	0,020	1,020	0,992	1,049	0,162
Geschlecht männlich	0,990	2,691	1,331	5,441	0,006
derzeitige Rauchende	1,031	2,725	1,316	5,988	0,008
P.g. positiv	1,132	3,106	1,529	6,289	0,002
A.a. positiv	-1,067	0,344	0,067	17,73	0,202
T-Allel multivariat	0,901	2,463	1,126	5,376	0,024
bivariat		1,792	1,098	2,924	0,043

4.4 Mögliche gleichzeitige Assoziationen der untersuchten SNPs zur Präsenz einer RA und schweren PA

Probanden*innen, die gleichzeitig an einer RA und schweren PA erkrankt waren, waren häufiger Träger*innen des T-Allels ($p < 0,001$) und der CT+TT-Genotypen ($p < 0,001$) des SNP rs2476601 (PTPN22-Gen) als Probanden*innen ohne RA oder schwerer PA (Tabelle 17).

Das T-Allel ($p = 0,028$; Tabelle 18) und die CT+TT-Genotypen ($p = 0,012$) zeigten im multivariaten Risikomodell einen prädiktiven Wert für eine schwere PA und RA.

In Bezug auf rs2240340 im PADI4-Gen war ein Unterschied in der Verteilung der Genotypen zu erkennen. Probanden*innen mit RA und schwerer PA waren häufiger CT-Träger*innen in Kombination mit weniger häufigen Auftreten von den Genotypen CC und TT ($p = 0,040$; Tabelle 17) als Probanden*innen ohne schwere PA und RA. Das multivariate Modell konnte das Auftreten des CT-Genotyps nicht als unabhängigen Risikofaktor für die Komorbiditäten RA und PA ($p = 0,409$) bestätigen.

Tabelle 17: Genotyp- und Allelverteilung der SNPs rs2476601 (PTPN22-Gen), rs2240340 (PADI4-Gen) und rs3087243 (CTLA4-Gen) hinsichtlich einer Komorbidität von PA und RA

Variablen	Kontrollgruppe		RA-Gruppe			p-Wert Komorbidität PA und RA
	keine/milde PA	schwere PA*	alle	keine/milde PA	schwere PA*	
	n=95 I.	n=161 II.	n=111 III.	n=85 IV.	n=26 V.	I. vs. V.
PTPN22, rs2476601						
CC-Genotyp (%)	78,9	74,5	60,4	67,1	38,5	
CT-Genotyp (%)	19	23,5	36,0	29,4	57,7	
TT-Genotyp (%)	2,1	1,9	3,6	3,5	3,8	<0,001*
CT+TT-Genotypen (%)	21,1	25,5	39,6↑	32,9	61,5↑	<0,001
C-Allel (%)	88,4	86,3	78,4	81,8	67,3	
T-Allel (%)	11,6	13,7	21,6↑	18,2	32,7↑	<0,001
PADI4, rs2240340						
CC-Genotyp (%)	51,6	38,5	36,0	37,6	30,8	
CT-Genotyp (%)	11,6	27,3↑	14,5	9,4	30,7↑	
TT-Genotyp (%)	36,8	34,2	49,5	52,9	38,5	0,040*
CT+TT-Genotypen (%)	48,4	61,5	64,0↑	62,4	69,2	0,097
C-Allel (%)	57,4	52,2	43,2	42,4	46,2	
T-Allel (%)	42,6	47,8	56,8↑	57,6	53,8↑	0,200
CTLA4, rs3087243						
GG-Genotyp (%)	37,9	33,5	44,1	48,2	30,8	
AG-Genotyp (%)	50,5	47,2	44,2	37,6	65,4	
AA-Genotyp (%)	11,6	19,3	11,7	14,1	3,8↓	0,349*
AG+AA-Genotypen (%)	62,1	66,5	55,9	51,8	69,2	0,661
G-Allel (%)	63,2	57,1	66,2	67,1	63,5	
A-Allel (%)	36,8	42,9	33,8	32,9	36,5	1,0

Der statistische Vergleich erfolgte mit dem Chi²-Test und der Yates-Korrektur bzw. dem *Fishers Exakt-Test, wenn die erwartete Häufigkeit < 5 betrug.

Tabelle 18: Binäre logistische Regressionsanalyse zur Untersuchung möglicher Assoziationen des SNP rs2476601 zur Präsenz einer RA und schweren PA unter Berücksichtigung weiterer Kofaktoren

Variablen	Regressions- koeffizient	Exp(B)	95 %Konfidenzintervall für Exp(B)		p- Wert
			unterer	oberer Wert	
T-Allel des SNP rs2476601 im PTPN22-Gen (Probanden*innen ohne RA oder schwerer PA (n=95) vs. RA-Probanden*innen mit schwerer PA(n=26))					
Alter	0,116	1,123	1,076	1,173	<0,001
Geschlecht männlich	0,008	1,008	0,423	2,402	0,986
derzeitige Rauchende	1,868	6,493	2,481	16,95	<0,001
<i>P.g.</i> positiv	2,286	9,804	3,846	1,04	<0,001
<i>A.a.</i> positiv	-2,831	0,059	0,009	0,368	0,002
T-Allel					
multivariat	1,136	3,115	1,134	8,547	0,028
bivariat		3,909	1,905	8,024	<0,001

4.5 Zusammenfassung der Ergebnisse

4.5.1 Vergleich der Genotyp- und Allelverteilung der untersuchten SNPs in der RA-Gruppe vs. RA-freien Kontrollgruppe unter Berücksichtigung des Schweregrades der PA

Die Gruppe der Patienten*innen mit RA und die Probanden*innen ohne RA unterschieden sich hinsichtlich ihrer genetischen Variationen. Es existiert eine Assoziation zwischen der Genotyp- und Allelverteilung ausgewählter Kandidatengene und dem Auftreten einer RA und/ oder PA. RA-Probanden*innen (gesamt) waren häufiger Träger*innen des T-Allels ($p < 0,001$) und der Genotypen CT+TT ($p = 0,006$) des SNP rs2476601 (PTPN22-Gen) als RA-freie Probanden*innen ohne schwere Parodontitis. Das T-Allel und die CT+TT-Genotypen wurden als unabhängige Prädiktoren für das Auftreten von RA bestätigt. RA-Probanden*innen mit schwerer Parodontitis waren häufiger T-Allel-(bivariat: $p < 0,001$; multivariat $p = 0,032$) oder CT+TT-Genotypenträger*innen (bivariat: $p < 0,001$; multivariat $p = 0,014$) als RA-freie Probanden*innen mit schwerer PA.

Im SNP rs2240340 des PADI4-Gens zeigte sich in der gesamten RA-Gruppe im Vergleich zur RA-freien Gruppe ohne schwere PA eine erhöhte Anfälligkeit des T-Allels

($p=0,006$) und der CT+TT-Genotypen ($p=0,035$) gegenüber einer RA. Das T-Allel wurde bei der RA-Gruppe ohne schwere PA verglichen mit der RA-freien Kontrolle ohne schwere PA mit einem erhöhten Risiko für RA verbunden (bivariat: $p=0,006$; multivariat: $p=0,044$)

4.5.2 Vergleich der Allel- und Genotypverteilung der untersuchten SNPs innerhalb der RA-Gruppe: keine/milde PA vs. schwere PA

In der RA-Gruppe bestätigte sich für folgende Allel- und Genotypverteilung ein Zusammenhang mit einer schweren PA bei Trägern/ Trägerinnen des:

- T-Allels (bivariat: $p=0,043$; multivariat: $p=0,024$) und der CT+TT-Genotypen (bivariat: $p=0,017$; multivariat: $p=0,010$) des SNP rs2476601 im PTPN22-Gen
- CT-Genotyps (RA-Gruppe bivariat: $p=0,025$; multivariat: $p=0,037$; RA-freie Gruppe bivariat: $p=0,007$; multivariat $p=0,053$) des SNP rs2240340 im PADI4-Gen
- AG-Genotyps (bivariat: $p=0,031$; multivariat: $p=0,631$) des SNP rs3087243 im CTLA4-Gen

4.5.3 Vergleich der Genotyp- und Allelverteilung innerhalb der RA-Gruppe mit schwerer PA vs. RA-freie-Gruppe ohne schwere PA

RA-Probanden*innen die an einer schweren PA erkrankt waren, waren:

- häufiger Träger*innen des T-Allels ($p<0,001$) und der CT+TT-Genotypen ($p<0,001$) des SNP rs2476601 (PTPN22-Gen) als Probanden*innen ohne RA und schwere PA.
- häufiger Träger*innen des CT-Genotypen und weniger häufiger Träger*innen der Genotypen CC und TT ($p=0,04$) des SNP rs2240340 im PADI4-Gen

Das T-Allel ($p=0,028$) und die CT+TT-Genotypen ($p=0,012$) des SNP rs2476601 (PTPN22-Gen) zeigten im multivariaten Risikomodell einen prädiktiven Wert für eine schwere PA und RA.

4.5.4 Demografische und klinische Unterschiede: Vergleich RA-Gruppe und RA-freie Kontrollgruppe unter Berücksichtigung des Schweregrades der PA

Es existieren demografische und klinische Unterschiede zwischen der RA und RA-freien Kontrollgruppe. RA-Probanden*innen (n=111) waren älter ($p<0,001$), häufiger weiblichen Geschlechts ($p=0,001$) und häufiger Raucher*innen ($p=0,003$). Sie zeigten in der klinischen Untersuchung erhöhte Sondierungstiefen ($p<0,001$), einen erhöhten approximalen CAL ($p<0,001$) und berichteten häufiger über Zahnverlust ($p<0,001$).

Vergleicht man die Probanden*innen der RA-Gruppe in Abhängigkeit des Schweregrades der PA, so lassen sich auch hier Unterschiede erkennen. RA-Probanden*innen mit schwerer PA waren häufiger männlichen Geschlechts ($p=0,048$) und Raucher*innen ($0,034$). RA-Patienten*innen, die an einer schweren Parodontitis litten, wiesen auch schwerwiegende parodontale Merkmale auf (API, BOP, fehlende Zähne).

5 Diskussion

Die enge Verbindung zwischen der chronisch entzündlichen Erkrankung Parodontitis und rheumatoider Arthritis hinsichtlich pathophysiologischer und klinischer Merkmale wurde bereits vielfach nachgewiesen (Silvestre et al. 2016; Kobayashi et al. 2018; Ceccarelli et al. 2019; Molon et al. 2019; Schulz et al. 2019; Klareskog et al. 2020). Die vorliegende Studie sollte eruieren, ob beide Erkrankungen möglicherweise Gemeinsamkeiten im genetischen Background aufweisen. Würden solche gemeinsamen genetischen Risiko- oder Resistenzfaktoren existieren, könnten diese möglicherweise das Verständnis über die Ätiologie beider Erkrankungen erweitern oder in der Diagnostik von Nutzen sein.

5.1 Methode

5.1.1 Studiendesign/ Rekrutierung der Patienten*innen

Die vorliegende Fall-Kontroll-Studie bestand aus zwei großen Patientengruppen. Die RA-Gruppe zählte 111 Probanden*innen, welche sich anhand ihres Parodontalzustandes in zwei weitere Gruppen (milde/keine PA, schwere PA) unterteilen ließen. Die Rekrutierung der RA-Probanden*innen erfolgte nach der Klassifikation der American Rheumatism Association von 1987. Dem gegenüber stand eine RA-freie Kontrollgruppe, bestehend aus 95 Probanden*innen mit milder/keiner PA und 161 RA-freien Kontrollen mit schwerer PA. Bei der Einteilung der Kontrollgruppe wurde darauf geachtet, dass sich beide Gruppen nicht primär durch das Alter unterscheiden. RA-freie Kontrollen ohne PA mussten ein Mindestalter von 30 Jahren (Ausschlusskriterium) erreicht haben. Störfaktoren, die nachweislich die parodontale Gesundheit beeinflussen wurden als Ausschlusskriterien definiert. Darunter zählten: systemische Antibiose in den letzten drei Monaten, subgingivale Instrumentierung in den letzten sechs Monaten, eine bestehende Schwangerschaft (Gürsoy et al. 2010; Geisinger et al. 2014; González-Jaranay et al. 2017), Allgemeinerkrankungen mit bekannter Assoziation zur Parodontitis (Diabetes mellitus (Preshaw und Bissett 2019), Morbus Crohn (She et al. 2020), koronare Herzkrankheit (Nocini et al. 2020), oraler Pemphigus oder Pemphigoid (Jascholt et al. 2017), die Einnahme von Gingivahyperplasie verursachenden Medikamenten (Antiepileptika, Kalziumkanalblocker, Cyclosporin) (Bajkovec et al. 2021).

Der Parodontalzustand wurde mithilfe der international bekannten Klassifikation nach Tonetti und Claffey (Tonetti und Claffey 2005) beurteilt. Durch Verwendung dieser Klassifikation resultierte eine exakte Zuordnung (Parodontitis ja/nein) und Vergleichbarkeit mit anderen Studienergebnissen. Unter allen Probanden*innen befanden sich sechs Teilnehmer*innen ohne PA. Eine Gruppe bestehend aus sechs Probanden*innen ist in Bezug auf statistische Berechnungen nicht sinnvoll, sodass die Gruppe milde/keine PA gebildet wurde. Die Rekrutierung startete im Jahr 2005. Es erfolgte keine Unterteilung nach der neuen Klassifikation parodontaler Erkrankungen von 2018. Für die Anwendung dieser Klassifikation ist bei jedem Probanden/ jeder Probandin die Anfertigung eines Röntgenbildes erforderlich. Bei gesunden Kontrollen ist jedoch unter Berücksichtigung des Strahlenschutzes keine rechtfertigende Indikation gegeben. Alle Studienteilnehmer*innen waren kaukasischer Herkunft. Die Ergebnisse sollten nicht auf andere Populationen übertragen werden, da anzunehmen ist, dass die untersuchten SNPs ethnischen Einflüssen unterliegen. Nabi et al. bestätigten mit ihrer Meta-Analyse eine Assoziation des PTPN22-Gen (rs2476601) mit RA bei Kaukasiern jedoch nicht bei Asiaten (Nabi et al. 2016). Die Meta-Analyse von Abbasifard untersuchte 52 Fall-Kontroll-Studien und kam zu dem Ergebnis, dass der SNP rs2476601 das RA-Risiko bei Kaukasiern und Afrikanern in allen Genotypenmodellen erhöht (Abbasifard et al. 2020).

5.1.2 Zahnärztliche Untersuchung

Die parodontale Untersuchung der Kontroll-Gruppe erfolgte zu einem früheren Zeitpunkt mit einer nicht druckkalibrierten (PCPUNC156, Hu Friedy) und die der RA-Gruppe mit einer druckkalibrierten Sonde (VICACARE TPS PERIODONTAL PROBE Schaan, Liechtenstein oder DB764R Aesculap AG & Co. KG, Tuttlingen, Deutschland). Beide Sonden lieferten in Studien reproduzierbare Ergebnisse (Reddy et al. 1997; Barendregt et al. 2006; Renatus et al. 2016). Es ist davon auszugehen, dass in den klinischen Daten, trotz Verwendung zweier verschiedener Parodontalsonden keine die Grundaussagen der Studie bestehenden Unterschiede existieren.

5.1.3 Intraorale Probenentnahme für die mikrobiologische Untersuchung

Zum genomischen Nachweis parodontopathogener Markerkeime erfolgte eine Probenentnahme aus der tiefsten Parodontaltasche jedes Quadranten (Micro-Ident-Test der Firma Hain, Hain Diagnostica, Nehren).

Die Analyse der Proben erfolgte im eigenen Labor. Die anschließende Untersuchung auf das subgingivale Vorkommen von *A.a.* und *P.g.* wurde mithilfe des micro-Ident®-test von HAIN-Diagnostik (Nehren, Deutschland) gemäß Herstellerprotokoll durchgeführt. (Schulz et al. 2008). Dabei wurde keine Aussage über die Quantität der Erreger getroffen. Lediglich die Angaben „Bakterium vorhanden“/ „Bakterium nicht vorhanden“ wurden für die statistische Auswertung berücksichtigt. Die Nachweisgrenze für den Erreger *A.a.* betrug 10^3 und für *P.g.*, *P.i.*, *T.f.* und *T.d.* 10^4 . (Urbán et al. 2010; Eick et al. 2011). Das Verfahren erlaubt jedoch keine Aussage über die Vitalität der Bakterien. Die Detektion beschränkt sich auf fünf Markerkeime und erfasst damit nur einen Bruchteil möglicher pathogener Keime (Reichert et al. 2013). Eine neuere Methode stellt das Next Generation Sequencing (NGS) dar (Schulz et al. 2019). Hier wird es möglich eine Vielzahl von Bakterien nachzuweisen. Es kann jedoch keine Aussage über deren Vitalität getroffen werden.

5.1.4 Genomische Untersuchungen

Ziel der Untersuchung war die Bestimmung der Genotyp-/Allelverteilung drei bekannter Polymorphismen. Hierfür wurde keine Hochdurchsatzmethode gewählt. Die DNA wurde isoliert, vervielfältigt und verdaut. Durch die Wahl eines niedrigen Durchsatzes wird eine höhere Qualität während der gerichteten Genotypisierung erreicht und ermöglicht eine Verifizierung der Ergebnisse.

Die Darstellung der Amplifikate erfolgte mittels Agarosegelelektrophorese. Die stetige Verwendung einer 0-Kontrolle schließt Verunreinigungen aus und die Positiv-Kontrolle bestätigt den Erfolg der PCR und des Verdaus und ermöglichte eine exakte Zuordnung der Genotypen. Die Zuverlässigkeit dieser Methode ließ sich bereits in anderen Studien bestätigen (Dai und Long 2015).

5.2 Diskussion der Ergebnisse

5.2.1 Demografische und klinische Parameter

In Übereinstimmung mit dem allgemeinen Risikomuster der RA waren die RA-Probanden*innen älter als die Kontrollgruppe ($p < 0,001$; Tabelle 12) (Agnihotri und Gaur 2014). Die Studie bestätigte, dass Frauen, insbesondere in der vierten oder fünften Lebensdekade im Vergleich zu Männern häufiger ($p = 0,003$; Tabelle 12) an RA erkrankt waren (Austad et al. 2015). Hier sei erwähnt, dass Frauen noch vor langer Zeit von klinischen Studien aus Sicherheitsgründen ausgeschlossen wurden und somit eher unterrepräsentiert waren. (Deutsches Ärzteblatt 2016; Busse 2020). Während der Rekrutierung der Probanden*innen hinsichtlich ihres Geschlechts sollte demnach auf die tatsächliche geschlechterspezifische Krankheitsinzidenz geachtet werden (Deutsches Ärzteblatt 2016). Wie bereits in vielen Studien publiziert konnten eine positive Raucheranamnese (Källberg et al. 2011) ($p = 0,003$; Tabelle 12) und das Auffinden schwerwiegender parodontaler Symptome wie erhöhter Sondierungstiefen ($p < 0,001$; Tabelle 12), klinischem Attachmentverlust ($p < 0,001$; Tabelle 12) und häufiger Zahnverlust (Rodríguez-Lozano et al. 2019) ($p < 0,001$; Tabelle 12) bei RA-Probanden*innen ebenso nachgewiesen werden.

Das männliche Geschlecht (Bouchard et al. 2017) ($p = 0,048$) und der Nikotinkonsum ($p = 0,034$) konnten als parodontaler Risikomarker bestätigt werden. (Bouchard et al. 2017)

5.2.2 Assoziationen der untersuchten SNPs zur Präsenz einer RA

Studien haben gezeigt, dass viele genetische Veränderungen in bestimmten Kandidatengenen an pathophysiologischen Prozessen der RA beteiligt sind. (Viatte und Barton 2017; Zamanpoor 2019). Dabei spielen mehr als 100 SNPs eine wichtige Rolle in der Pathophysiologie der RA. (Shungin et al. 2019). Während der HLA-DRB1-Locus seit langem als Risikofaktor bestätigt wurde steht eine große Anzahl von Nicht-HLA-Loci in der Diskussion. (Klareskog et al. 2020). Die SNPs rs2476601 im PTPN22-Gen und rs2240340 im PADI4-Gen wurden in der vorliegenden Studie mit dem Auftreten einer RA in Verbindung gebracht.

PTPN22 kodiert für eine spezifische Lymphosphatase. Entscheidend für die Hemmung der T-Zell-Rezeptor-Signalübertragung ist eine Interaktion zwischen der

Phosphatase und SH3-Region (Thiolgruppe) der c-terminalen Tyrosinkinase (SRC-Kinase) (Klareskog et al. 2009; Klareskog et al. 2020). Die Autoimmunerkrankungen systemischer Lupus erythematoses (Brownlie et al. 2018), Typ-1-Diabetes (Bottini et al. 2006) und RA (Klareskog et al. 2009) wurden bereits mit PTPN22 in Verbindung gebracht. PTPN22 zählt als wichtigster Nicht-HLA Risikofaktor für RA (Stanford und Bottini 2014). Die Enzymaktivität wurde erstmals im Jahr 2004 beschrieben (Begovich et al. 2004). Durch den Austausch von Arginin gegen Tryptophan (SNP rs2476601) wird die Interaktion zwischen der Phosphatase und der c-terminalen SRC-Kinase gehemmt. Die T-Zellaktivierung bleibt aus. (Begovich et al. 2004; Bottini et al. 2004; Elshazli und Settin 2015). Man nimmt an, dass der SNP als negativer Regulator die physiologische Funktion des Enzyms PTPN22 bestimmt und damit die T-Zellaktivierung negativ beeinflusst (Begovich et al. 2004).

In Studien konnte gezeigt werden, dass der SNP des PTPN22-Gens mit einer Zunahme der proinflammatorischen Zytokine IL-6, IFN- γ und TNF- α und Abnahme der entzündungshemmenden Zytokine IL-4 und IL-10 assoziiert und damit mit diversen Autoimmunerkrankungen in Zusammenhang gebracht wird (Begovich et al. 2004; Bottini et al. 2004; Ghorban et al. 2019). Zahlreiche Studien untersuchten die Relevanz des SNP rs2476601 im Gen PTPN22 hinsichtlich der Ätiologie von RA (Elshazli und Settin 2015). Die vorliegende Studie bestätigt das T-Allelträger*innen und Träger*innen der Genotypen CT+TT (rs2476601 im Gen PTPN22) unabhängig von ihrem Parodontalstatus häufiger an einer RA erkrankt sind (Tabelle 13). Dies entspricht den Ergebnissen einer groß angelegten Metaanalyse, in der sowohl die Genotypen CT+TT (Elshazli und Settin 2015) als auch das T-Allel (Okada et al. 2014) mit RA in Verbindung gebracht wurde. Die Studie bestätigte die Assoziation bei europäischen Patienten*innen (Elshazli und Settin 2015).

Auch unter Einbeziehung anderer RA-Risikofaktoren zeigten sich das T-Allel und die Genotypen CT+TT in multivariaten Regressionsmodellen als unabhängige Risikomarker. Wie auch in anderen Studien (Deane et al. 2017; Ebbers et al. 2018) publiziert, bestätigte sich die Unabhängigkeit der Risikofaktoren: höheres Alter, weibliches Geschlecht, Nikotinkonsum, Nachweis von *P.g.* Eine Ausnahme stellt die fehlende Anwesenheit von *A.a.* dar. Man weiß, dass *A.a.* an der Citrullinierung und der vermehrten Bildung von Anti-Cyklisch-Citrullinierten-Peptiden (Anti-CCP) beteiligt ist (Konig et al. 2016; Reichert et al. 2020). Das Ergebnis der Studie steht somit im Widerspruch zu bisherigen Untersuchungen.

PADI4 (Peptidyl-Arginin-Deiminase Typ 4) ist eine Deiminase, die für die Umwandlung von Arginin- in Citrullinreste verantwortlich ist. Diese wird mit der Bildung von Autoantikörpern bei RA assoziiert (Yamada et al. 2003; Bax et al. 2011). Man vermutet die Beteiligung an der Entwicklung von Granulozyten und Makrophagen und daraus resultierender Entzündung und Autoimmunität bei RA (Bax et al. 2011). PADI4 spielt eine wichtige Rolle bei der Entstehung von RA (Lee und Bae 2016). Viele Studien konnten eine Verbindung des T-Allels im PADI4-Gen (SNP (rs 2240340)) mit asiatischen, nicht aber kaukasischen Populationen bestätigen (Hou et al. 2013; Lee und Bae 2016; Lu et al. 2018). In einer anderen Metaanalyse wurde in einer europäischen Population ein höheres Risiko an RA zu erkranken bei Trägern/Trägerinnen des Genotypen TT festgestellt (Lee et al. 2007). Die vorliegende Studie bestätigte bei RA-Patienten*innen ohne schwere PA die Relevanz des T-Allels für die Erkrankung RA unabhängig von parodontalen Parametern (Tabellen 13 und 14). Bezieht man sich auf alle Probanden*innen, so konnte man feststellen, dass nicht das T-Allel, sondern Faktoren wie weibliches Geschlecht, Nikotinkonsum, Auftreten von *P.g.* und das Fehlen von *A.a.* mit einer RA assoziiert wurden.

Der SNP rs3087243 im Gen CTLA4 (cytotoxisches T-Lymphozyten-assoziiertes Protein 4) stellt ebenso einen anerkannten genetischen Risikofaktor für RA dar (Zamanpoor 2019). Das Antigen wird von aktivierten T-Zellen exprimiert (Magistrelli et al. 1999) und trägt dazu bei die T-Zellen zu hemmen und somit die immunologische Homöostase aufrechtzuhalten (Magistrelli et al. 1999). Der GG-Genotyp des SNP rs3087243 im CTLA4-Gen bestätigte sich als Risikomodulator für Autoimmunerkrankungen (Ueda et al. 2003). Man vermutet als Mechanismus eine G-Allel-abhängige transkriptionelle Downregulation (Ueda et al. 2003). In der europäischen Bevölkerung wurde der Zusammenhang zwischen dem G-Allel und der Erkrankung RA bestätigt (Okada et al. 2014), in der polnischen Bevölkerung jedoch nicht (Luterek-Puszyńska et al. 2017).

Im Gegensatz zu den genannten Studien wurde in der vorliegenden Studie ein geringerer Anteil an G-Allel-Trägern/ Trägerinnen bei den RA-Patienten*innen identifiziert (nicht signifikant, Tabelle 13). Als mögliche Ursache der unterschiedlichen Ergebnisse wird eine unterschiedliche Stratifizierung der Patientengruppen diskutiert. (Daha et al. 2009)

5.2.3 Assoziationen der untersuchten SNPs zur Präsenz einer schweren PA

Es existieren bereits viele Studien, die den Einfluss genetischer Marker auf die Ätiologie schwerer PA untersucht haben (Schaefer et al. 2013; Teumer et al. 2013; Munz et al. 2017; Munz et al. 2019; Shungin et al. 2019). Der Fokus wurde auf Gene gelegt, die an der Aufrechterhaltung der Immunhomöostase beteiligt sind (Jin et al. 2016; Shi et al. 2017; Zhang et al. 2018; Zhao und Li 2018). PTPN22 ist an der Aufrechterhaltung der T-Zell-Population beteiligt (Meyle und Chapple 2015), indem es die T-Zell-Rezeptor-Signalübertragung hemmt (Klareskog et al. 2009; Klareskog et al. 2020). Es gibt Studien die den Zusammenhang von PTPN22 und entzündlichen Erkrankungen beschreiben (Bottini et al. 2006; Klareskog et al. 2009; Brownlie et al. 2018). Der Zusammenhang zwischen dem SNP rs2476601 im PTPN22-Gen und dem Auftreten von schwerer PA wurde in dieser Studie erstmalig untersucht. Das T-Allel und die Genotypen CT+TT konnten als unabhängiger parodontaler Risikomarker für eine schwere PA nachgewiesen werden (Tabellen 15 und 16). Mithilfe der Studie lässt sich eine Beteiligung des SNP an der Ätiologie der PA vermuten. Die Studie muss mit vergleichbaren Probanden*innen und Versuchen reproduziert werden um die Bedeutung des SNP rs2476601 im PTPN22-Gen zu bestätigen.

Infolge einer Adhärenz parodontaler Erreger auf der Wurzeloberfläche der Zähne kommt es zu einer lokalen Reaktion. Es folgt die Rekrutierung von Entzündungszellen, Apoptose und Nekrose neutrophiler Granulozyten im gingivalen Gewebe und anschließender Desaminierung von Argininresten und Hypercitrullinierungen von Proteinen (Potempa et al. 2017). Nesse und Mitarbeiter beschrieben die Citrullinierung als physiologischen Prozess (Nesse et al. 2012). Engström und Mitarbeiter wiesen eine Erhöhung der Citrullinierung im gingivalen Gewebe bei schwerer PA nach, welche mit einem Anstieg der PADI4-Expression auf Botenribonukleinsäure-(mRNA) und Proteinebene einhergehen und vermutlich unabhängig vom Vorhandensein von *P.g.* oder Leukotoxin von *A.a.* ist (Engström et al. 2018). Es wurde in der Vergangenheit keine Fall-Kontroll-Studie durchgeführt, die den Einfluss des SNP rs2240340 im PADI4-Gen auf die Ätiologie der schweren PA untersuchte. Die vorliegende Studie zeigte in der RA- und Kontrollgruppe eine Assoziation des CT-Genotyps zu einer schweren PA. Auch hier muss das Ergebnis durch weitere Studien bestätigt werden.

Die Aufrechterhaltung der Immunhomöostase spielt bei einer Parodontitis eine entscheidende Rolle (Garlet et al. 2014). Immunregulatorische Zellen haben die Funktion, die T-Zell Aktivierung zu unterdrücken (Alroqi und Chatila 2016).

Eine wichtige Rolle bei der Regulation der T-Zell-Aktivierung spielt der inhibitorische Rezeptor CTLA4 (Walker 2013). Man vermutet die Beteiligung des Rezeptors an der Unterdrückung der Osteoklastendifferenzierung und -aktivierung (Alvarez et al. 2018). Bei Veränderungen in der Expression von CTLA4 wurde eine vermehrte Knochenzerstörung beobachtet (Bozec und Zaiss 2017; Alvarez et al. 2018). Es wird vermutet, dass CTLA4 bei der Pathogenese parodontaler Erkrankungen eine entscheidende Rolle einnimmt. In der vorliegenden Studie konnte ein Zusammenhang zwischen dem SNP rs3087243 und dem Auftreten von schwerer PA bei RA-Probanden*innen nachgewiesen werden. RA-Patienten*innen mit schwerer PA waren häufiger Träger*innen des Genotypen AG als RA-Patienten*innen ohne oder mit milder PA (Tabelle 15). Ein Vergleich dieser Ergebnisse ist aufgrund fehlender weiterer Studien nicht möglich.

5.2.4 Mögliche gleichzeitige Assoziationen der untersuchten SNPs zur Präsenz einer RA und schweren PA

In Studien konnten bereits genetische Risikofaktoren wie zum Beispiel der HLA-DRB1-Lokus oder auch andere Gene (Klareskog et al. 2020) als gemeinsame Schnittstelle von einer Parodontitis und rheumatoiden Arthritis nachgewiesen werden (Ceccarelli et al. 2019; Molon et al. 2019). Die Assoziation einer PA- und RA- Komorbidität konnte bereits in SNPs im IL-1-Gen (rs1143634) (Silvestre et al. 2016), im KCNQ1-Gen (rs2237892) (Kobayashi et al. 2018) und im IFN- γ -Gen (rs2430561) (Schulz et al. 2019) bestätigt werden. Die vorliegende Studie zeigt eine Assoziation des SNP rs2476601 im PTPN22-Gen und rs2240340 im PADI4-Gen, jedoch nicht des SNP rs3087243 im CTLA4-Gen.

Es wurde angenommen, dass PTPN22 als negativer Regulator der T-Zellaktivierung (Klareskog et al. 2009) und Zytokinexpression (Ghorban et al. 2019) die Ätiologie chronisch entzündlicher Erkrankungen wie PA und RA bestimmt. Die Bedeutung des SNP rs2476601 wurde hauptsächlich bei RA untersucht (Okada et al. 2014; Elshazli und Settin 2015; Abbasi et al. 2017; El-Lebedy et al. 2017) und nicht bei PA. Die Ergebnisse der Studie bestätigen die früheren Untersuchungen (Okada et al. 2014; Elshazli und Settin 2015).

Probanden*innen, die gleichzeitig an einer RA und schweren PA erkrankt waren, waren häufiger Träger*innen des T-Allels ($p < 0,001$) und der CT+TT-Genotypen ($p < 0,001$) des SNP rs2476601 im PTPN22-Gen als Probanden*innen ohne RA oder schwerer PA

(Tabelle 17). Damit wurden das T-Allel und die Genotypen CT+TT erstmalig als unabhängige Risikofaktoren für PA und RA nachgewiesen und könnten eine genetische Verbindung beider Erkrankungen erklären.

PADI4 spielt bei einer PA (Engström et al. 2018) und RA (Yamada et al. 2003; Bax et al. 2011) eine zentrale Rolle aufgrund seiner Beteiligung an der Citrullinierung von Proteinen. Über die Bedeutung des SNP rs2240340 für RA wurde bereits viel publiziert (Lee et al. 2007; Hou et al. 2013; Lee und Bae 2016; Lu et al. 2018). Die vorliegende Studie untersuchte als erste den möglichen genetischen Einfluss auf PA und/oder RA. Der CT-Genotyp von rs2240340 im PADI4-Gen bestätigte sich als Prädiktor für die Komorbidität von PA und RA. Unter Berücksichtigung weiterer Kofaktoren (Alter, Geschlecht, Raucherstatus, Anwesenheit von *A.a*; *P.g.*) bestätigte sich der CT-Genotyp jedoch nicht als unabhängiger Prädiktor für eine RA-PA-Komorbidität.

5.3 Studienlimitation

Die homogene ethnische Herkunft und die strengen Ein- und Ausschlusskriterien der Probanden*innen lieferten eine kleine Stichprobenzahl und daraus resultierende mögliche Verzerrung in den Ergebnissen. Die Fall-Kontrollstudie soll als Pilotstudie betrachtet werden und die Ergebnisse müssen in großen Kohorten überprüft werden. Die Ergebnisse beziehen sich nur auf kaukasische Personen und lassen sich nur mit Einschränkungen auf die Allgemeinbevölkerung übertragen.

6 Zusammenfassung

Ein Zusammenhang zwischen der chronisch entzündlichen Erkrankung Parodontitis und Rheumatoidarthritis ist bekannt. Die Ätiologie ist multifaktoriell. Zu den Mechanismen der diskutierten gemeinsamen Schnittstellen beider Erkrankungen zählen die Entzündungsreaktion, Mikrobiologische Dysbiose und Genetische Prädisposition.

Hauptziel der vorliegenden Studie war es bekannte RA-assoziierte Kandidatengene (PTPN22: rs2476601, PADI4: rs2240340, CTLA4: rs3087243) auf das Vorliegen einer RA, PA und RA/PA-Komorbidität (Tabelle 19) zu untersuchen. Alle drei Gene spielen eine wichtige Rolle bei den pathophysiologischen Mechanismen beider Krankheiten.

Die Studie konnte zeigen, dass sich die Gruppe der RA-Probanden*innen von den RA-freien Kontrollen hinsichtlich ihrer genetischen Variationen unterscheiden (Arbeitshypothese 1).

Das T-Allel (RA: $p > 0,001$; PA: $p = 0,043$; RA/PA: $p < 0,001$) und die CT+TT-Genotypen (RA: $p = 0,006$; PA: $p = 0,017$; RA/PA: $p < 0,001$) des SNP rs2476601 zeigten eine Assoziation zu einer RA, PA und RA/PA-Komorbidität und stellen somit einen gemeinsamen Risikomarker für die Parodontitis und rheumatoide Arthritis dar (Arbeitshypothese 2 und 3).

Die Träger des T-Allels ($p = 0,006$) und der CT+TT-Genotypen des SNP rs2240340 ($p = 0,035$) wurden mit einer rheumatoiden Arthritis in Verbindung gebracht. Die Existenz einer Assoziation zwischen der Genotyp- und Allelverteilung und dem Auftreten einer RA wurde damit bestätigt (Arbeitshypothese 2). Das T-Allel und die CT+TT-Genotypen der SNPs rs2476601 und rs2240340 konnten mithilfe dieser Studie als PA-Risikomarker identifiziert werden.

Eine schwere Form der PA zeigten Träger*innen des CT-Genotypen (RA-Gruppe $p = 0,025$; RA-freie Gruppe $p = 0,007$) im SNP rs2240340 und AG-Genotypen ($p = 0,031$) im SNP rs3087243. Die Vermutung über die Existenz von PA-Risikomarkern (CT-Genotyp/ rs 2240340, AG-Genotyp/ rs3087243) wurde mit diesem Ergebnis bestätigt (Arbeitshypothese 2).

RA-Patienten*innen waren älter ($p < 0,001$) und rauchten ($p = 0,003$) häufiger. Sie zeigten klinisch erhöhte Sondierungstiefen ($p < 0,001$), einen erhöhten approximalen CAL ($p < 0,001$) und klagten häufiger über Zahnverlust ($p < 0,001$) als RA-freie Probanden*innen ohne PA. RA-Probanden*innen mit schwerer PA waren häufiger männlich ($p = 0,048$), Raucher*innen ($p = 0,034$) und wiesen schwerwiegendere

parodontale Merkmale auf (API, BOP, fehlende Zähne) als RA-Probanden*innen ohne schwere PA. Die Arbeitshypothesen über die Existenz demografischer und klinischer Unterschiede zwischen der RA und RA-freien Kontrollgruppe und innerhalb der RA-Gruppe in Abhängigkeit des Schweregrades der PA konnten somit bestätigt werden (Arbeitshypothesen 4 und 5).

Mit dem Wissen dieser Studie könnte es möglich werden im Rahmen der allgemein(zahn)ärztlichen Untersuchung bei schwer parodontal erkrankten Patienten*innen das Risiko an einer RA zu erkranken noch vor Manifestation der ersten Symptome zu bestimmen. Hierfür müssen die Ergebnisse in großen Kohorten überprüft werden.

Die Vermutung, dass eine gemeinsame genetische Schnittstelle existieren könnte, wird mit dieser Studie bekräftigt.

Tabelle 19: Tabellarische Veranschaulichung der Ergebnisse

			Assoziation zu einer		
SNP	Auffällige(s) Allel/ Genotypen	Vermutete immunologische Reaktion	PA	RA	PA und RA
rs2476601 (PTPN22)	T-Allel	T-Zell-Regulation, ↑proinflammatorische Zytokine	↑	↑	↑
	CT+TT- Genotypen		↑	↑	↑
<hr/>					
rs2240340 (PADI4)	T-Allel	Hypercitruinierung in neutrophilen Granulozyten (Konig et al. 2016), Bildung Autoantikörper ↑		↑	
	CT+TT- Genotypen			↑	
	CT- Genotyp		↑		
<hr/>					
rs3087243 (CTLA4)	AG- Genotyp	T-Zell-Regulation	↑		
	AA- Genotyp		↓		

7 Literaturverzeichnis

- Abbasi, Zahra; Kazemi Nezhad, Seyed Reza; Pourmahdi-Broojeni, Mahdi; Rajaei, Elham (2017): Association of PTPN22 rs2476601 Polymorphism with Rheumatoid Arthritis and Celiac Disease in Khuzestan Province, Southwestern Iran. In: *Iranian biomedical journal* 21 (1), S. 61–66. DOI: 10.6091/.21.1.61.
- Abbasifard, Mitra; Imani, Danyal; Bagheri-Hosseiniabadi, Zahra (2020): PTPN22 gene polymorphism and susceptibility to rheumatoid arthritis (RA): Updated systematic review and meta-analysis. In: *The journal of gene medicine* 22 (9), e3204. DOI: 10.1002/jgm.3204.
- Agnihotri, Rupali; Gaur, Sumit (2014): Rheumatoid arthritis in the elderly and its relationship with periodontitis: a review. In: *Geriatrics & gerontology international* 14 (1), S. 8–22. DOI: 10.1111/ggi.12062.
- Aletaha, Daniel; Neogi, Tuhina; Silman, Alan J.; Funovits, Julia; Felson, David T.; Bingham, Clifton O. et al. (2010): 2010 Rheumatoid arthritis classification criteria: an American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism collaborative initiative. In: *Arthritis and rheumatism* 62 (9), S. 2569–2581. DOI: 10.1002/art.27584.
- Alghamdi, Mohammed; Alasmari, Doaa; Assiri, Amjad; Mattar, Ehab; Aljaddawi, Abdullah A.; Alattas, Sana G.; Redwan, Elrashdy M. (2019): An Overview of the Intrinsic Role of Citrullination in Autoimmune Disorders. In: *Journal of immunology research* 2019, S. 7592851. DOI: 10.1155/2019/7592851.
- Alroqi, Fayhan J.; Chatila, Talal A. (2016): T Regulatory Cell Biology in Health and Disease. In: *Current allergy and asthma reports* 16 (4), S. 27. DOI: 10.1007/s11882-016-0606-9.
- Alvarez, Carla; Rojas, Carolina; Rojas, Leticia; Cafferata, Emilio A.; Monasterio, Gustavo; Vernal, Rolando (2018): Regulatory T Lymphocytes in Periodontitis: A Translational View. In: *Mediators of inflammation* 2018, S. 7806912. DOI: 10.1155/2018/7806912.
- Amaliya, A.; Laine, Marja L.; Delanghe, Joris R.; Loos, Bruno G.; van Wijk, Arjen J.; van der Velden, Ubele (2015): Java project on periodontal diseases: periodontal bone loss in relation to environmental and systemic conditions. In: *Journal of clinical periodontology* 42 (4), S. 325–332. DOI: 10.1111/jcpe.12381.
- Araújo, Vilana Maria Adriano; Melo, Iracema Matos; Lima, Vilma (2015): Relationship between Periodontitis and Rheumatoid Arthritis: Review of the Literature. In: *Mediators of inflammation* 2015, S. 259074. DOI: 10.1155/2015/259074.
- Arigbede, Abiodun O.; Babatope, B. Osagbemi; Bamidele, M. Kolude (2012): Periodontitis and systemic diseases: A literature review. In: *Journal of Indian Society of Periodontology* 16 (4), S. 487–491. DOI: 10.4103/0972-124X.106878.
- Austad, C.; Kvien, T. K.; Olsen, I. C.; Uhlig, T. (2015): Health status has improved more in women than in men with rheumatoid arthritis from 1994 to 2009: results from the Oslo rheumatoid arthritis register. In: *Annals of the rheumatic diseases* 74 (1), S. 148–155. DOI: 10.1136/annrheumdis-2013-204014.
- Aviña-Zubieta, J. Antonio; Choi, Hyon K.; Sadatsafavi, Mohsen; Etminan, Mahyar; Esdaile, John M.; Lacaille, Diane (2008): Risk of cardiovascular mortality in patients with rheumatoid arthritis: a meta-analysis of observational studies. In: *Arthritis and rheumatism* 59 (12), S. 1690–1697. DOI: 10.1002/art.24092.

- Bajkovec, Lucija; Mrzljak, Anna; Likic, Robert; Alajbeg, Ivan (2021): Drug-induced gingival overgrowth in cardiovascular patients. In: *World journal of cardiology* 13 (4), S. 68–75. DOI: 10.4330/wjc.v13.i4.68.
- Balandraud, Nathalie; Roudier, Jean; Roudier, Chantal (2004): Epstein-Barr virus and rheumatoid arthritis. In: *Autoimmunity reviews* 3 (5), S. 362–367. DOI: 10.1016/j.autrev.2004.02.002.
- Bang, So-Young; Lee, Kyoung-Ho; Cho, Soo-Kyung; Lee, Hye-Soon; Lee, Kyung Wha; Bae, Sang-Cheol (2010): Smoking increases rheumatoid arthritis susceptibility in individuals carrying the HLA-DRB1 shared epitope, regardless of rheumatoid factor or anti-cyclic citrullinated peptide antibody status. In: *Arthritis and rheumatism* 62 (2), S. 369–377. DOI: 10.1002/art.27272.
- Barendregt, D. S.; van der Velden, U.; Timmerman, M. F.; van der Weijden, G. A. (2006): Comparison of two automated periodontal probes and two probes with a conventional readout in periodontal maintenance patients. In: *Journal of clinical periodontology* 33 (4), S. 276–282. DOI: 10.1111/j.1600-051X.2006.00900.x.
- Bartold, Peter Mark; Lopez-Oliva, Isabel (2020): Periodontitis and rheumatoid arthritis: An update 2012-2017. In: *Periodontology 2000* 83 (1), S. 189–212. DOI: 10.1111/prd.12300.
- Bax, Marieke; van Heemst, Jurgen; Huizinga, Tom W. J.; Toes, Rene E. M. (2011): Genetics of rheumatoid arthritis: what have we learned? In: *Immunogenetics* 63 (8), S. 459–466. DOI: 10.1007/s00251-011-0528-6.
- Begovich, Ann B.; Carlton, Victoria E. H.; Honigberg, Lee A.; Schrodi, Steven J.; Chokkalingam, Anand P.; Alexander, Heather C. et al. (2004): A missense single-nucleotide polymorphism in a gene encoding a protein tyrosine phosphatase (PTPN22) is associated with rheumatoid arthritis. In: *American journal of human genetics* 75 (2), S. 330–337. DOI: 10.1086/422827.
- Bernhard, J.; Villiger, P. M. (2001): Rheumatoide Arthritis: Pathogenese und Pathologie. In: *Swiss Med Forum*. DOI: 10.4414/smf.2001.04048.
- Bochenek, Gregor; Häslar, Robert; El Mokhtari, Nour-Eddine; König, Inke R.; Loos, Bruno G.; Jepsen, Soeren et al. (2013): The large non-coding RNA ANRIL, which is associated with atherosclerosis, periodontitis and several forms of cancer, regulates ADIPOR1, VAMP3 and C11ORF10. In: *Human molecular genetics* 22 (22), S. 4516–4527. DOI: 10.1093/hmg/ddt299.
- Bottini, Nunzio; Musumeci, Lucia; Alonso, Andres; Rahmouni, Souad; Nika, Konstantina; Rostamkhani, Masoud et al. (2004): A functional variant of lymphoid tyrosine phosphatase is associated with type I diabetes. In: *Nature genetics* 36 (4), S. 337–338. DOI: 10.1038/ng1323.
- Bottini, Nunzio; Vang, Torkel; Cucca, Francesco; Mustelin, Tomas (2006): Role of PTPN22 in type 1 diabetes and other autoimmune diseases. In: *Seminars in immunology* 18 (4), S. 207–213. DOI: 10.1016/j.smim.2006.03.008.
- Bouchard, Philippe; Carra, Maria Clotilde; Boillot, Adrien; Mora, Francis; Rangé, Hélène (2017): Risk factors in periodontology: a conceptual framework. In: *Journal of clinical periodontology* 44 (2), S. 125–131. DOI: 10.1111/jcpe.12650.
- Bozec, Aline; Zaiss, Mario M. (2017): T Regulatory Cells in Bone Remodelling. In: *Current osteoporosis reports* 15 (3), S. 121–125. DOI: 10.1007/s11914-017-0356-1.
- Bradfield, Paul F.; Amft, Nicole; Vernon-Wilson, Elizabeth; Exley, Andrew E.; Parsonage, Greg; Rainger, G. Ed et al. (2003): Rheumatoid fibroblast-like synoviocytes overexpress the chemokine stromal cell-derived factor 1 (CXCL12), which supports distinct patterns

and rates of CD4+ and CD8+ T cell migration within synovial tissue. In: *Arthritis and rheumatism* 48 (9), S. 2472–2482. DOI: 10.1002/art.11219.

Brink, Mikael; Hansson, Monika; Mathsson, Linda; Jakobsson, Per-Johan; Holmdahl, Rikard; Hallmans, Göran et al. (2013): Multiplex analyses of antibodies against citrullinated peptides in individuals prior to development of rheumatoid arthritis. In: *Arthritis and rheumatism* 65 (4), S. 899–910. DOI: 10.1002/art.37835.

Brownlie, Rebecca J.; Zamojska, Rose; Salmond, Robert J. (2018): Regulation of autoimmune and anti-tumour T-cell responses by PTPN22. In: *Immunology* 154 (3), S. 377–382. DOI: 10.1111/imm.12919.

Busse, Michael (2020): Geschlechterunterschiede in der klinischen Forschung. Online verfügbar unter <https://www.pharma-fakten.de/news/details/947-geschlechterunterschiede-in-der-klinischen-forschung/>.

Calderaro, Débora Cerqueira; Corrêa, Jôice Dias; Ferreira, Gilda Aparecida; Barbosa, Izabela Guimarães; Martins, Carolina Castro; Silva, Tarcília Aparecida; Teixeira, Antônio Lúcio (2017): Influence of periodontal treatment on rheumatoid arthritis: a systematic review and meta-analysis. In: *Revista brasileira de reumatologia* 57 (3), S. 238–244. DOI: 10.1016/j.rbre.2016.11.011.

Cascão, R.; Rosário, H. S.; Souto-Carneiro, M. M.; Fonseca, J. E. (2010): Neutrophils in rheumatoid arthritis: More than simple final effectors. In: *Autoimmunity reviews* 9 (8), S. 531–535. DOI: 10.1016/j.autrev.2009.12.013.

Ceccarelli, Fulvia; Saccucci, Matteo; Di Carlo, Gabriele; Lucchetti, Ramona; Pilloni, Andrea; Pranno, Nicola et al. (2019): Periodontitis and Rheumatoid Arthritis: The Same Inflammatory Mediators? In: *Mediators of inflammation* 2019, S. 6034546. DOI: 10.1155/2019/6034546.

Chabaud, M.; Fossiez, F.; Taupin, J. L.; Miossec, P. (1998): Enhancing effect of IL-17 on IL-1-induced IL-6 and leukemia inhibitory factor production by rheumatoid arthritis synoviocytes and its regulation by Th2 cytokines. In: *Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)* 161 (1), S. 409–414.

Chapple, Iain L. C.; Bouchard, Philippe; Cagetti, Maria Grazia; Campus, Guglielmo; Carra, Maria-Clotilde; Cocco, Fabio et al. (2017): Interaction of lifestyle, behaviour or systemic diseases with dental caries and periodontal diseases: consensus report of group 2 of the joint EFP/ORCA workshop on the boundaries between caries and periodontal diseases. In: *Journal of clinical periodontology* 44 Suppl 18, S39-S51. DOI: 10.1111/jcpe.12685.

Corrêa, Jôice Dias; Fernandes, Gabriel R.; Calderaro, Débora Cerqueira; Mendonça, Santuza Maria Souza; Silva, Janine Mayra; Albiero, Mayra Laino et al. (2019): Oral microbial dysbiosis linked to worsened periodontal condition in rheumatoid arthritis patients. In: *Scientific reports* 9 (1), S. 8379. DOI: 10.1038/s41598-019-44674-6.

Daha, Nina A.; Kurreeman, Fina A. S.; Marques, Rute B.; Stoeken-Rijsbergen, Gerrie; Verduijn, Willem; Huizinga, Tom W. J.; Toes, René E. M. (2009): Confirmation of STAT4, IL2/IL21, and CTLA4 polymorphisms in rheumatoid arthritis. In: *Arthritis and rheumatism* 60 (5), S. 1255–1260. DOI: 10.1002/art.24503.

Dai, Shutao; Long, Yan (2015): Genotyping analysis using an RFLP assay. In: *Methods in molecular biology (Clifton, N.J.)* 1245, S. 91–99. DOI: 10.1007/978-1-4939-1966-6_7.

Darveau, Richard P. (2010): Periodontitis: a polymicrobial disruption of host homeostasis. In: *Nature reviews. Microbiology* 8 (7), S. 481–490. DOI: 10.1038/nrmicro2337.

Deane, Kevin D.; Demoruelle, M. Kristen; Kelmenson, Lindsay B.; Kuhn, Kristine A.; Norris, Jill M.; Holers, V. Michael (2017): Genetic and environmental risk factors for

- rheumatoid arthritis. In: *Best practice & research. Clinical rheumatology* 31 (1), S. 3–18. DOI: 10.1016/j.berh.2017.08.003.
- Derksen, V. F. A. M.; Huizinga, T. W. J.; van der Woude, D. (2017): The role of autoantibodies in the pathophysiology of rheumatoid arthritis. In: *Seminars in immunopathology* 39 (4), S. 437–446. DOI: 10.1007/s00281-017-0627-z.
- Deutsches Ärzteblatt (2016): In Klinischen Studien sind Frauen oft unterrepräsentiert. Online verfügbar unter <https://www.aerzteblatt.de/nachrichten/66613/In-klinischen-Studien-sind-Frauen-oft-unterrepraesentiert>.
- Dev, Yash Paul; Khuller, Nitin; Basavaraj, Patthi; G, Suresh (2013): Rheumatoid Arthritis among Periodontitis Patients in Baddi Industrial Estate of Himachal Pradesh, India: A Cross Sectional Study. In: *Journal of clinical and diagnostic research : JCDR* 7 (10), S. 2334–2337. DOI: 10.7860/JCDR/2013/6237.3518.
- Ding, James; Orozco, Gisela (2019): Identification of rheumatoid arthritis causal genes using functional genomics. In: *Scandinavian journal of immunology* 89 (5), e12753. DOI: 10.1111/sji.12753.
- Divaris, K.; Monda, K. L.; North, K. E.; Olshan, A. F.; Lange, E. M.; Moss, K. et al. (2012): Genome-wide association study of periodontal pathogen colonization. In: *Journal of dental research* 91 (7 Suppl), 21S-28S. DOI: 10.1177/0022034512447951.
- Domínguez-Pérez, Rubén Abraham; Loyola-Rodríguez, Juan Pablo; Abud-Mendoza, Carlos; Alpuche-Solis, Angel Gabriel; Ayala-Herrera, José Luis; Martínez-Martínez, Rita Elizabeth (2017): Association of cytokines polymorphisms with chronic periodontitis and rheumatoid arthritis in a Mexican population. In: *Acta odontologica Scandinavica* 75 (4), S. 243–248. DOI: 10.1080/00016357.2017.1280846.
- Ebbers, Meinolf; Lübcke, Paul M.; Volzke, Johann; Kriebel, Katja; Hieke, Cathleen; Engelmann, Robby et al. (2018): Interplay between *P. gingivalis*, *F. nucleatum* and *A. actinomycetemcomitans* in murine alveolar bone loss, arthritis onset and progression. In: *Scientific reports* 8 (1), S. 15129. DOI: 10.1038/s41598-018-33129-z.
- Ebringer, Alan; Rashid, Taha (2006): Rheumatoid arthritis is an autoimmune disease triggered by *Proteus* urinary tract infection. In: *Clinical & developmental immunology* 13 (1), S. 41–48. DOI: 10.1080/17402520600576578.
- Eick, Sigrun; Straube, Anna; Guentsch, Arndt; Pfister, Wolfgang; Jentsch, Holger (2011): Comparison of real-time polymerase chain reaction and DNA-strip technology in microbiological evaluation of periodontitis treatment. In: *Diagnostic microbiology and infectious disease* 69 (1), S. 12–20. DOI: 10.1016/j.diagmicrobio.2010.08.017.
- El-Lebedy, Dalia; Raslan, Hala; Ibrahim, Alshaymaa; Ashmawy, Ingy; El-Aziz, Shereen Abd; Mohammed, Asmaa M. (2017): Association of STAT4 rs7574865 and PTPN22 rs2476601 polymorphisms with rheumatoid arthritis and non-systemically reacting antibodies in Egyptian patients. In: *Clinical rheumatology* 36 (9), S. 1981–1987. DOI: 10.1007/s10067-017-3632-7.
- Elshazli, Rami; Settin, Ahmad (2015): Association of PTPN22 rs2476601 and STAT4 rs7574865 polymorphisms with rheumatoid arthritis: A meta-analysis update. In: *Immunobiology* 220 (8), S. 1012–1024. DOI: 10.1016/j.imbio.2015.04.003.
- Engström, Marianne; Eriksson, Kaja; Lee, Linkiat; Hermansson, Monika; Johansson, Anders; Nicholas, Anthony P. et al. (2018): Increased citrullination and expression of peptidylarginine deiminases independently of *P. gingivalis* and *A. actinomycetemcomitans* in gingival tissue of patients with periodontitis. In: *Journal of translational medicine* 16 (1), S. 214. DOI: 10.1186/s12967-018-1588-2.

- Farquharson, D.; Butcher, J. P.; Culshaw, S. (2012): Periodontitis, Porphyromonas, and the pathogenesis of rheumatoid arthritis. In: *Mucosal immunology* 5 (2), S. 112–120. DOI: 10.1038/mi.2011.66.
- Feldmann, M.; Brennan, F. M.; Maini, R. N. (1996a): Rheumatoid arthritis. In: *Cell* 85 (3), S. 307–310. DOI: 10.1016/s0092-8674(00)81109-5.
- Feldmann, M.; Brennan, F. M.; Maini, R. N. (1996b): Role of cytokines in rheumatoid arthritis. In: *Annual review of immunology* 14, S. 397–440. DOI: 10.1146/annurev.immunol.14.1.397.
- Ferreira, Ricardo C.; Freitag, Daniel F.; Cutler, Antony J.; Howson, Joanna M. M.; Rainbow, Daniel B.; Smyth, Deborah J. et al. (2013): Functional IL6R 358Ala allele impairs classical IL-6 receptor signaling and influences risk of diverse inflammatory diseases. In: *PLoS genetics* 9 (4), e1003444. DOI: 10.1371/journal.pgen.1003444.
- Firestein, Gary S. (2003): Evolving concepts of rheumatoid arthritis. In: *Nature* 423 (6937), S. 356–361. DOI: 10.1038/nature01661.
- Firestein, Gary S.; McInnes, Iain B. (2017): Immunopathogenesis of Rheumatoid Arthritis. In: *Immunity* 46 (2), S. 183–196. DOI: 10.1016/j.immuni.2017.02.006.
- Fünfte Deutsche Mundgesundheitsstudie (DMS V) (2016). [1. Auflage]. Köln: Deutscher Zahnärzte Verlag DÄV (Institut der Deutschen Zahnärzte, Band 35).
- Furst, Daniel E.; Emery, Paul (2014): Rheumatoid arthritis pathophysiology: update on emerging cytokine and cytokine-associated cell targets. In: *Rheumatology (Oxford, England)* 53 (9), S. 1560–1569. DOI: 10.1093/rheumatology/ket414.
- Gabarrini, Giorgio; Smit, Menke de; Westra, Johanna; Brouwer, Elisabeth; Vissink, Arjan; Zhou, Kai et al. (2015): The peptidylarginine deiminase gene is a conserved feature of Porphyromonas gingivalis. In: *Scientific reports* 5, S. 13936. DOI: 10.1038/srep13936.
- Garlet, G. P.; Sfeir, C. S.; Little, S. R. (2014): Restoring host-microbe homeostasis via selective chemoattraction of Tregs. In: *Journal of dental research* 93 (9), S. 834–839. DOI: 10.1177/0022034514544300.
- Geisinger, Maria L.; Geurs, Nicolaas C.; Bain, Jennifer L.; Kaur, Maninder; Vassilopoulos, Philip J.; Cliver, Suzanne P. et al. (2014): Oral health education and therapy reduces gingivitis during pregnancy. In: *Journal of clinical periodontology* 41 (2), S. 141–148. DOI: 10.1111/jcpe.12188.
- Genco, Robert J.; Borgnakke, Wenche S. (2013): Risk factors for periodontal disease. In: *Periodontology 2000* 62 (1), S. 59–94. DOI: 10.1111/j.1600-0757.2012.00457.x.
- Ghorban, Khodayar; Ezzedini, Rana; Eslami, Majid; Yousefi, Bahman; Sadighi Moghaddam, Bizhan; Tahoori, Mohammad-Taher et al. (2019): PTPN22 1858 C/T polymorphism is associated with alteration of cytokine profiles as a potential pathogenic mechanism in rheumatoid arthritis. In: *Immunology letters* 216, S. 106–113. DOI: 10.1016/j.imlet.2019.10.010.
- González-Febles, Jerián; Sanz, Mariano (2021): Periodontitis and rheumatoid arthritis: What have we learned about their connection and their treatment? In: *Periodontology 2000* 87 (1), S. 181–203. DOI: 10.1111/prd.12385.
- González-Jaranay, Maximino; Téllez, Luís; Roa-López, Antonio; Gómez-Moreno, Gerardo; Moreu, Gerardo (2017): Periodontal status during pregnancy and postpartum. In: *PloS one* 12 (5), e0178234. DOI: 10.1371/journal.pone.0178234.
- Gourley, Mark; Miller, Frederick W. (2007): Mechanisms of disease: Environmental factors in the pathogenesis of rheumatic disease. In: *Nature clinical practice. Rheumatology* 3 (3), S. 172–180. DOI: 10.1038/ncprheum0435.

- Gürsoy, Mervi; Könönen, Eija; Gürsoy, Ulvi K.; Tervahartiala, Taina; Pajukanta, Riitta; Sorsa, Timo (2010): Periodontal status and neutrophilic enzyme levels in gingival crevicular fluid during pregnancy and postpartum. In: *Journal of periodontology* 81 (12), S. 1790–1796. DOI: 10.1902/jop.2010.100147.
- Hajishengallis, G. (2014a): The inflammophilic character of the periodontitis-associated microbiota. In: *Molecular oral microbiology* 29 (6), S. 248–257. DOI: 10.1111/omi.12065.
- Hajishengallis, G.; Lamont, R. J. (2012): Beyond the red complex and into more complexity: the polymicrobial synergy and dysbiosis (PSD) model of periodontal disease etiology. In: *Molecular oral microbiology* 27 (6), S. 409–419. DOI: 10.1111/j.2041-1014.2012.00663.x.
- Hajishengallis, George (2014b): Immunomicrobial pathogenesis of periodontitis: keystones, pathobionts, and host response. In: *Trends in immunology* 35 (1), S. 3–11. DOI: 10.1016/j.it.2013.09.001.
- Hajishengallis, George (2015): Periodontitis: from microbial immune subversion to systemic inflammation. In: *Nature reviews. Immunology* 15 (1), S. 30–44. DOI: 10.1038/nri3785.
- Haubek, Dorte; Ennibi, Oum-Keltoum; Poulsen, Knud; Vaeth, Michael; Poulsen, Sven; Kilian, Mogens (2008): Risk of aggressive periodontitis in adolescent carriers of the JP2 clone of *Aggregatibacter (Actinobacillus) actinomycetemcomitans* in Morocco: a prospective longitudinal cohort study. In: *Lancet (London, England)* 371 (9608), S. 237–242. DOI: 10.1016/S0140-6736(08)60135-X.
- Hedström, Anna Karin; Stawiarz, Leszek; Klareskog, Lars; Alfredsson, Lars (2018): Smoking and susceptibility to rheumatoid arthritis in a Swedish population-based case-control study. In: *European journal of epidemiology* 33 (4), S. 415–423. DOI: 10.1007/s10654-018-0360-5.
- Helmick, Charles G.; Felson, David T.; Lawrence, Reva C.; Gabriel, Sherine; Hirsch, Rosemarie; Kwoh, C. Kent et al. (2008): Estimates of the prevalence of arthritis and other rheumatic conditions in the United States. Part I. In: *Arthritis and rheumatism* 58 (1), S. 15–25. DOI: 10.1002/art.23177.
- Hou, Sai; Gao, Guo-Peng; Zhang, Xiu-Jun; Sun, Liang; Peng, Wen-Jia; Wang, Han-Fei et al. (2013): PADI4 polymorphisms and susceptibility to rheumatoid arthritis: a meta-analysis. In: *Modern rheumatology* 23 (1), S. 50–60. DOI: 10.1007/s10165-012-0639-4.
- Hujoel, Philippe P.; Lingström, Peter (2017): Nutrition, dental caries and periodontal disease: a narrative review. In: *Journal of clinical periodontology* 44 Suppl 18, S79–S84. DOI: 10.1111/jcpe.12672.
- Jascholt, Isabella; Lai, Olivia; Zillikens, Detlef; Kasperkiewicz, Michael (2017): Periodontitis in oral pemphigus and pemphigoid: A systematic review of published studies. In: *Journal of the American Academy of Dermatology* 76 (5), 975–978.e3. DOI: 10.1016/j.jaad.2016.10.028.
- Jin, Su-Han; Guan, Xiao-Yan; Liang, Wen-Hong; Bai, Guo-Hui; Liu, Jian-Guo (2016): TLR4 polymorphism and periodontitis susceptibility: A meta-analysis. In: *Medicine* 95 (36), e4845. DOI: 10.1097/MD.0000000000004845.
- Källberg, Henrik; Ding, Bo; Padyukov, Leonid; Bengtsson, Camilla; Rönnelid, Johan; Klareskog, Lars; Alfredsson, Lars (2011): Smoking is a major preventable risk factor for rheumatoid arthritis: estimations of risks after various exposures to cigarette smoke. In: *Annals of the rheumatic diseases* 70 (3), S. 508–511. DOI: 10.1136/ard.2009.120899.
- Kaur, S.; White, S.; Bartold, P. M. (2013): Periodontal disease and rheumatoid arthritis: a systematic review. In: *Journal of dental research* 92 (5), S. 399–408. DOI: 10.1177/0022034513483142.

- Kaur, Sushil; Bright, Richard; Proudman, Susanna M.; Bartold, P. Mark (2014): Does periodontal treatment influence clinical and biochemical measures for rheumatoid arthritis? A systematic review and meta-analysis. In: *Seminars in arthritis and rheumatism* 44 (2), S. 113–122. DOI: 10.1016/j.semarthrit.2014.04.009.
- Kerr, Gail S.; Sabahi, Iraj; Richards, John S.; Caplan, Liron; Cannon, Grant W.; Reimold, Andreas et al. (2011): Prevalence of vitamin D insufficiency/deficiency in rheumatoid arthritis and associations with disease severity and activity. In: *The Journal of rheumatology* 38 (1), S. 53–59. DOI: 10.3899/jrheum.100516.
- Kilian, M.; Chapple, I. L. C.; Hannig, M.; Marsh, P. D.; Meuric, V.; Pedersen, A. M. L. et al. (2016): The oral microbiome - an update for oral healthcare professionals. In: *British dental journal* 221 (10), S. 657–666. DOI: 10.1038/sj.bdj.2016.865.
- Kinane, Denis F.; Demuth, Donald R.; Gorr, Sven-Ulrik; Hajishengallis, George N.; Martin, Michael H. (2007): Human variability in innate immunity. In: *Periodontology* 2000 45, S. 14–34. DOI: 10.1111/j.1600-0757.2007.00220.x.
- Kinane, Denis F.; Hajishengallis, George (2009): Polymicrobial infections, biofilms, and beyond. In: *Journal of clinical periodontology* 36 (5), S. 404–405. DOI: 10.1111/j.1600-051X.2009.01396.x.
- Klareskog, L.; Rönnelid, J.; Saevarsdottir, S.; Padyukov, L.; Alfredsson, L. (2020): The importance of differences; On environment and its interactions with genes and immunity in the causation of rheumatoid arthritis. In: *Journal of internal medicine* 287 (5), S. 514–533. DOI: 10.1111/joim.13058.
- Klareskog, Lars; Catrina, Anca Irinel; Paget, Stephen (2009): Rheumatoid arthritis. In: *Lancet (London, England)* 373 (9664), S. 659–672. DOI: 10.1016/S0140-6736(09)60008-8.
- Kobayashi, Tetsuo; Kido, Jun-Ichi; Ishihara, Yuichi; Omori, Kazuhiro; Ito, Satoshi; Matsuura, Takato et al. (2018): The KCNQ1 gene polymorphism as a shared genetic risk for rheumatoid arthritis and chronic periodontitis in Japanese adults: A pilot case-control study. In: *Journal of periodontology* 89 (3), S. 315–324. DOI: 10.1002/JPER.17-0412.
- Konig, Maximilian F.; Abusleme, Loreto; Reinholdt, Jesper; Palmer, Robert J.; Teles, Ricardo P.; Sampson, Kevon et al. (2016): *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*-induced hypercitrullination links periodontal infection to autoimmunity in rheumatoid arthritis. In: *Science translational medicine* 8 (369), 369ra176. DOI: 10.1126/scitranslmed.aaj1921.
- Kourilovitch, Maria; Galarza-Maldonado, Claudio; Ortiz-Prado, Esteban (2014): Diagnosis and classification of rheumatoid arthritis. In: *Journal of autoimmunity* 48-49, S. 26–30. DOI: 10.1016/j.jaut.2014.01.027.
- Koziel, Joanna; Mydel, Piotr; Potempa, Jan (2014): The link between periodontal disease and rheumatoid arthritis: an updated review. In: *Current rheumatology reports* 16 (3), S. 408. DOI: 10.1007/s11926-014-0408-9.
- Kremer, Joel M.; Westhovens, Rene; Leon, Marc; Di Giorgio, Eduardo; Alten, Rieke; Steinfeld, Serge et al. (2003): Treatment of rheumatoid arthritis by selective inhibition of T-cell activation with fusion protein CTLA4Ig. In: *The New England journal of medicine* 349 (20), S. 1907–1915. DOI: 10.1056/NEJMoa035075.
- Kurgan, Ş.; Önder, C.; Balcı, N.; Fentoğlu, Ö.; Eser, F.; Balseven, M. et al. (2017): Gingival crevicular fluid tissue/blood vessel-type plasminogen activator and plasminogen activator inhibitor-2 levels in patients with rheumatoid arthritis: effects of nonsurgical periodontal therapy. In: *Journal of periodontal research* 52 (3), S. 574–581. DOI: 10.1111/jre.12425.

- Laine, Marja L.; Jepsen, Søren; Loos, Bruno G. (2014): Progress in the Identification of Genetic Factors in Periodontitis. In: *Curr Oral Health Rep* 1 (4), S. 272–278. DOI: 10.1007/s40496-014-0037-4.
- Laivoranta-Nyman, S.; Luukkainen, R.; Hakala, M.; Hannonen, P.; Möttönen, T.; Yli-Kerttula, U. et al. (2001): Differences between female and male patients with familial rheumatoid arthritis. In: *Annals of the rheumatic diseases* 60 (4), S. 413–415. DOI: 10.1136/ard.60.4.413.
- Lalla, Evanthia; Papapanou, Panos N. (2011): Diabetes mellitus and periodontitis: a tale of two common interrelated diseases. In: *Nature reviews. Endocrinology* 7 (12), S. 738–748. DOI: 10.1038/nrendo.2011.106.
- Lange, D. E.; Plagmann, H. C.; Eenboom, A.; Promesberger, A. (1977): Klinische Bewertungsverfahren zur Objektivierung der Mundhygiene. In: *Deutsche zahnärztliche Zeitschrift* 32 (1), S. 44–47.
- Lebre, M. Cristina; Jongbloed, Sarah L.; Tas, Sander W.; Smeets, Tom J. M.; McInnes, Iain B.; Tak, Paul P. (2008): Rheumatoid arthritis synovium contains two subsets of CD83-DC-LAMP- dendritic cells with distinct cytokine profiles. In: *The American journal of pathology* 172 (4), S. 940–950. DOI: 10.2353/ajpath.2008.070703.
- Lee, Young Ho; Bae, Sang-Cheol (2016): Association between susceptibility to rheumatoid arthritis and PADI4 polymorphisms: a meta-analysis. In: *Clinical rheumatology* 35 (4), S. 961–971. DOI: 10.1007/s10067-015-3098-4.
- Lee, Young Ho; Rho, Young Hee; Choi, Seong Jae; Ji, Jong Dae; Song, Gwan Gyu (2007): PADI4 polymorphisms and rheumatoid arthritis susceptibility: a meta-analysis. In: *Rheumatology international* 27 (9), S. 827–833. DOI: 10.1007/s00296-007-0320-y.
- Loos, Bruno G.; Papantonopoulos, Georgios; Jepsen, Søren; Laine, Marja L. (2015): What is the Contribution of Genetics to Periodontal Risk? In: *Dental clinics of North America* 59 (4), S. 761–780. DOI: 10.1016/j.cden.2015.06.005.
- Lu, Chao; Xu, Ke; Guo, Hao; Peng, Kan; Yang, Zhi; Hao, Yang Quan; Xu, Peng (2018): The relationship of PADI4_94 polymorphisms with the morbidity of rheumatoid arthritis in Caucasian and Asian populations: a meta-analysis and system review. In: *Clinical rheumatology* 37 (2), S. 289–296. DOI: 10.1007/s10067-017-3964-3.
- Lundy, Fionnuala T.; El Karim, Ikhlās A.; Linden, Gerard J. (2009): Neuropeptide Y (NPY) and NPY Y1 receptor in periodontal health and disease. In: *Archives of oral biology* 54 (3), S. 258–262. DOI: 10.1016/j.archoralbio.2008.10.002.
- Luterek-Puszyńska, Katarzyna; Malinowski, Damian; Paradowska-Gorycka, Agnieszka; Safranow, Krzysztof; Pawlik, Andrzej (2017): CD28, CTLA-4 and CCL5 gene polymorphisms in patients with rheumatoid arthritis. In: *Clinical rheumatology* 36 (5), S. 1129–1135. DOI: 10.1007/s10067-016-3496-2.
- MacGregor, A. J.; Antoniades, L.; Matson, M.; Andrew, T.; Spector, T. D. (2000): The genetic contribution to radiographic hip osteoarthritis in women: results of a classic twin study. In: *Arthritis and rheumatism* 43 (11), S. 2410–2416. DOI: 10.1002/1529-0131(200011)43:11<2410::AID-ANR6>3.0.CO;2-E.
- Machulla, H. K. G.; Stein, J.; Gautsch, A.; Langner, J.; Schaller, H-G; Reichert, S. (2002): HLA-A, B, Cw, DRB1, DRB3/4/5, DQB1 in German patients suffering from rapidly progressive periodontitis (RPP) and adult periodontitis (AP). In: *Journal of clinical periodontology* 29 (6), S. 573–579. DOI: 10.1034/j.1600-051x.2002.290614.x.
- Magistrelli, G.; Jeannin, P.; Herbault, N.; Benoit De Coignac, A.; Gauchat, J. F.; Bonnefoy, J. Y.; Delneste, Y. (1999): A soluble form of CTLA-4 generated by alternative splicing is expressed by nonstimulated human T cells. In: *European journal of*

immunology 29 (11), S. 3596–3602. DOI: 10.1002/(SICI)1521-4141(199911)29:11<3596::AID-IMMU3596>3.0.CO;2-Y.

Mankia, Kulveer; Cheng, Zijian; Do, Thuy; Hunt, Laura; Meade, Josephine; Kang, Jing et al. (2019): Prevalence of Periodontal Disease and Periodontopathic Bacteria in Anti-Cyclic Citrullinated Protein Antibody-Positive At-Risk Adults Without Arthritis. In: *JAMA network open* 2 (6), e195394. DOI: 10.1001/jamanetworkopen.2019.5394.

Marsh, P. D. (1994): Microbial ecology of dental plaque and its significance in health and disease. In: *Advances in dental research* 8 (2), S. 263–271. DOI: 10.1177/08959374940080022001.

Marsh, P. D. (2003): Are dental diseases examples of ecological catastrophes? In: *Microbiology (Reading, England)* 149 (Pt 2), S. 279–294. DOI: 10.1099/mic.0.26082-0.

Masumoto, Risa; Kitagaki, Jirouta; Fujihara, Chiharu; Matsumoto, Masahiro; Miyauchi, Shizuka; Asano, Yoshihiro et al. (2019): Identification of genetic risk factors of aggressive periodontitis using genomewide association studies in association with those of chronic periodontitis. In: *Journal of periodontal research* 54 (3), S. 199–206. DOI: 10.1111/jre.12620.

McGowan, Kelly; McGowan, Troy; Ivanovski, Saso (2018): Optimal dose and duration of amoxicillin-plus-metronidazole as an adjunct to non-surgical periodontal therapy: A systematic review and meta-analysis of randomized, placebo-controlled trials. In: *Journal of clinical periodontology* 45 (1), S. 56–67. DOI: 10.1111/jcpe.12830.

McGraw, W. T.; Potempa, J.; Farley, D.; Travis, J. (1999): Purification, characterization, and sequence analysis of a potential virulence factor from *Porphyromonas gingivalis*, peptidylarginine deiminase. In: *Infection and immunity* 67 (7), S. 3248–3256. DOI: 10.1128/IAI.67.7.3248-3256.1999.

McInnes, Iain B.; Schett, Georg (2011): The pathogenesis of rheumatoid arthritis. In: *The New England journal of medicine* 365 (23), S. 2205–2219. DOI: 10.1056/NEJMra1004965.

Mewar, D.; Wilson, A. G. (2006): Autoantibodies in rheumatoid arthritis: a review. In: *Biomedicine & pharmacotherapy = Biomedecine & pharmacotherapie* 60 (10), S. 648–655. DOI: 10.1016/j.biopha.2006.09.002.

Meyle, Joerg; Chapple, Iain (2015): Molecular aspects of the pathogenesis of periodontitis. In: *Periodontology 2000* 69 (1), S. 7–17. DOI: 10.1111/prd.12104.

Michalowicz, B. S.; Diehl, S. R.; Gunsolley, J. C.; Sparks, B. S.; Brooks, C. N.; Koertge, T. E. et al. (2000): Evidence of a substantial genetic basis for risk of adult periodontitis. In: *Journal of periodontology* 71 (11), S. 1699–1707. DOI: 10.1902/jop.2000.71.11.1699.

Mikuls, Ted R.; Thiele, Geoffrey M.; Deane, Kevin D.; Payne, Jeffrey B.; O'Dell, James R.; Yu, Fang et al. (2012): *Porphyromonas gingivalis* and disease-related autoantibodies in individuals at increased risk of rheumatoid arthritis. In: *Arthritis and rheumatism* 64 (11), S. 3522–3530. DOI: 10.1002/art.34595.

Miossec, Pierre; Korn, Thomas; Kuchroo, Vijay K. (2009): Interleukin-17 and type 17 helper T cells. In: *The New England journal of medicine* 361 (9), S. 888–898. DOI: 10.1056/NEJMra0707449.

Molon, Rafael Scaf de; Rossa, Carlos; Thurlings, Rogier M.; Cirelli, Joni Augusto; Koenders, Marije I. (2019): Linkage of Periodontitis and Rheumatoid Arthritis: Current Evidence and Potential Biological Interactions. In: *International journal of molecular sciences* 20 (18). DOI: 10.3390/ijms20184541.

Munz, Matthias; Richter, Gesa M.; Loos, Bruno G.; Jepsen, Søren; Divaris, Kimon; Offenbacher, Steven et al. (2019): Meta-analysis of genome-wide association studies of

aggressive and chronic periodontitis identifies two novel risk loci. In: *European journal of human genetics : EJHG* 27 (1), S. 102–113. DOI: 10.1038/s41431-018-0265-5.

Munz, Matthias; Willenborg, Christina; Richter, Gesa M.; Jockel-Schneider, Yvonne; Graetz, Christian; Staufienbiel, Ingmar et al. (2017): A genome-wide association study identifies nucleotide variants at SIGLEC5 and DEFA1A3 as risk loci for periodontitis. In: *Human molecular genetics* 26 (13), S. 2577–2588. DOI: 10.1093/hmg/ddx151.

Nabi, Gowher; Akhter, Naseem; Wahid, Mohd; Bhatia, Kanchan; Mandal, Raju Kumar; Dar, Sajad Ahmad et al. (2016): Meta-analysis reveals PTPN22 1858C/T polymorphism confers susceptibility to rheumatoid arthritis in Caucasian but not in Asian population. In: *Autoimmunity* 49 (3), S. 197–210. DOI: 10.3109/08916934.2015.1134514.

Nakken, Britt; Papp, Gábor; Bosnes, Vidar; Zeher, Margit; Nagy, György; Szodoray, Peter (2017): Biomarkers for rheumatoid arthritis: From molecular processes to diagnostic applications-current concepts and future perspectives. In: *Immunology letters* 189, S. 13–18. DOI: 10.1016/j.imlet.2017.05.010.

Nesse, Willem; Westra, Johanna; van der Wal, Jacqueline E.; Abbas, Frank; Nicholas, Anthony P.; Vissink, Arjan; Brouwer, Elisabeth (2012): The periodontium of periodontitis patients contains citrullinated proteins which may play a role in ACPA (anti-citrullinated protein antibody) formation. In: *Journal of clinical periodontology* 39 (7), S. 599–607. DOI: 10.1111/j.1600-051X.2012.01885.x.

Newkirk, M. M.; Watanabe Duffy, K. N.; Leclerc, J.; Lambert, N.; Shiroky, J. B. (1994): Detection of cytomegalovirus, Epstein-Barr virus and herpes virus-6 in patients with rheumatoid arthritis with or without Sjögren's syndrome. In: *British journal of rheumatology* 33 (4), S. 317–322. DOI: 10.1093/rheumatology/33.4.317.

Nibali, Luigi; Di Iorio, Anna; Tu, Yu-Kang; Vieira, Alexandre R. (2017): Host genetics role in the pathogenesis of periodontal disease and caries. In: *Journal of clinical periodontology* 44 Suppl 18, S52-S78. DOI: 10.1111/jcpe.12639.

Nielen, Markus M. J.; van Schaardenburg, Dirkjan; Reesink, Henk W.; van de Stadt, Rob J.; van der Horst-Bruinsma, Irene E.; Koning, Margret H. M. T. de et al. (2004): Specific autoantibodies precede the symptoms of rheumatoid arthritis: a study of serial measurements in blood donors. In: *Arthritis and rheumatism* 50 (2), S. 380–386. DOI: 10.1002/art.20018.

Nocini, Riccardo; Favalaro, Emmanuel J.; Sanchis-Gomar, Fabian; Lippi, Giuseppe (2020): Periodontitis, coronary heart disease and myocardial infarction: treat one, benefit all. In: *Blood coagulation & fibrinolysis : an international journal in haemostasis and thrombosis* 31 (6), S. 339–345. DOI: 10.1097/MBC.0000000000000928.

Nociti, Francisco H.; Casati, Marcio Z.; Duarte, Poliana Mendes (2015): Current perspective of the impact of smoking on the progression and treatment of periodontitis. In: *Periodontology 2000* 67 (1), S. 187–210. DOI: 10.1111/prd.12063.

Okada, Moe; Kobayashi, Tetsuo; Ito, Satoshi; Yokoyama, Tomoko; Komatsu, Yasutaka; Abe, Asami et al. (2011): Antibody responses to periodontopathic bacteria in relation to rheumatoid arthritis in Japanese adults. In: *Journal of periodontology* 82 (10), S. 1433–1441. DOI: 10.1902/jop.2011.110020.

Okada, Yukinori; Di Wu; Trynka, Gosia; Raj, Towfique; Terao, Chikashi; Ikari, Katsunori et al. (2014): Genetics of rheumatoid arthritis contributes to biology and drug discovery. In: *Nature* 506 (7488), S. 376–381. DOI: 10.1038/nature12873.

Olsen, Ingar; Singhrao, Sim K.; Potempa, Jan (2018): Citrullination as a plausible link to periodontitis, rheumatoid arthritis, atherosclerosis and Alzheimer's disease. In: *Journal of oral microbiology* 10 (1), S. 1487742. DOI: 10.1080/20002297.2018.1487742.

- Page, R. C.; Kornman, K. S. (1997): The pathogenesis of human periodontitis: an introduction. In: *Periodontology* 2000 14, S. 9–11. DOI: 10.1111/j.1600-0757.1997.tb00189.x.
- Page, Roy C.; Eke, Paul I. (2007): Case definitions for use in population-based surveillance of periodontitis. In: *Journal of periodontology* 78 (7 Suppl), S. 1387–1399. DOI: 10.1902/jop.2007.060264.
- Perricone, Carlo; Ceccarelli, Fulvia; Saccucci, Matteo; Di Carlo, Gabriele; Bogdanos, Dimitrios P.; Lucchetti, Ramona et al. (2019): Porphyromonas gingivalis and rheumatoid arthritis. In: *Current opinion in rheumatology* 31 (5), S. 517–524. DOI: 10.1097/BOR.0000000000000638.
- Petrelli, Fiorella; Mariani, Francesco Maria; Alunno, Alessia; Puxeddu, Ilaria (2022): Pathogenesis of rheumatoid arthritis: one year in review 2022. In: *Clinical and experimental rheumatology* 40 (3), S. 475–482. DOI: 10.55563/clinexprheumatol/19lyen.
- Plenge, Robert M.; Padyukov, Leonid; Remmers, Elaine F.; Purcell, Shaun; Lee, Annette T.; Karlson, Elizabeth W. et al. (2005): Replication of putative candidate-gene associations with rheumatoid arthritis in 4,000 samples from North America and Sweden: association of susceptibility with PTPN22, CTLA4, and PADI4. In: *American journal of human genetics* 77 (6), S. 1044–1060. DOI: 10.1086/498651.
- Plenge, Robert M.; Seielstad, Mark; Padyukov, Leonid; Lee, Annette T.; Remmers, Elaine F.; Ding, Bo et al. (2007): TRAF1-C5 as a risk locus for rheumatoid arthritis—a genomewide study. In: *The New England journal of medicine* 357 (12), S. 1199–1209. DOI: 10.1056/NEJMoa073491.
- Potempa, Jan; Mydel, Piotr; Koziel, Joanna (2017): The case for periodontitis in the pathogenesis of rheumatoid arthritis. In: *Nature reviews. Rheumatology* 13 (10), S. 606–620. DOI: 10.1038/nrrheum.2017.132.
- Preshaw, Philip M.; Bissett, Susan M. (2019): Periodontitis and diabetes. In: *British dental journal* 227 (7), S. 577–584. DOI: 10.1038/s41415-019-0794-5.
- Reddy, M. S.; Palcanis, K. G.; Geurs, N. C. (1997): A comparison of manual and controlled-force attachment-level measurements. In: *Journal of clinical periodontology* 24 (12), S. 920–926. DOI: 10.1111/j.1600-051x.1997.tb01212.x.
- Reichert, Stefan; Haffner, Maximilian; Keyßer, Gernot; Schäfer, Christoph; Stein, Jamal M.; Schaller, Hans-Guenter et al. (2013): Detection of oral bacterial DNA in synovial fluid. In: *Journal of clinical periodontology* 40 (6), S. 591–598. DOI: 10.1111/jcpe.12102.
- Reichert, Stefan; Jurianz, Elisa; Natalie, Pütz; Schlumberger, Wolfgang; Dähnrich, Cornelia; Johannsen, Nora et al. (2020): Is periodontitis a prognostic factor in order to indicate antibodies against citrullinated peptides in patients with rheumatoid arthritis? In: *Clinical and experimental rheumatology* 38 (2), S. 227–238.
- Remmers, Elaine F.; Plenge, Robert M.; Lee, Annette T.; Graham, Robert R.; Hom, Geoffrey; Behrens, Timothy W. et al. (2007): STAT4 and the risk of rheumatoid arthritis and systemic lupus erythematosus. In: *The New England journal of medicine* 357 (10), S. 977–986. DOI: 10.1056/NEJMoa073003.
- Renatus, Antonio; Trentzsch, Lars; Schönfelder, Antje; Schwarzenberger, Fabian; Jentsch, Holger (2016): Evaluation of an Electronic Periodontal Probe Versus a Manual Probe. In: *Journal of clinical and diagnostic research : JCDR* 10 (11), ZH03-ZH07. DOI: 10.7860/JCDR/2016/22603.8886.
- Rodríguez-Lozano, Beatriz; González-Febles, Jerián; Garnier-Rodríguez, Jorge Luis; Dadlani, Shashi; Bustabad-Reyes, Sagrario; Sanz, Mariano et al. (2019): Association between severity of periodontitis and clinical activity in rheumatoid arthritis patients: a

case-control study. In: *Arthritis research & therapy* 21 (1), S. 27. DOI: 10.1186/s13075-019-1808-z.

Routsias, John G.; Goules, John D.; Goules, Andreas; Charalampakis, Georgios; Pikazis, Dimitrios (2011): Autopathogenic correlation of periodontitis and rheumatoid arthritis. In: *Rheumatology (Oxford, England)* 50 (7), S. 1189–1193. DOI: 10.1093/rheumatology/ker090.

Roycroft, Matthew; Fichna, Marta; McDonald, David; Owen, Kate; Zurawek, Magdalena; Gryczyńska, Maria et al. (2009): The tryptophan 620 allele of the lymphoid tyrosine phosphatase (PTPN22) gene predisposes to autoimmune Addison's disease. In: *Clinical endocrinology* 70 (3), S. 358–362. DOI: 10.1111/j.1365-2265.2008.03380.x.

Rutger Persson, G. (2012): Rheumatoid arthritis and periodontitis - inflammatory and infectious connections. Review of the literature. In: *Journal of oral microbiology* 4. DOI: 10.3402/jom.v4i0.11829.

Ruysen-Witrand, A.; Constantin, A.; Cambon-Thomsen, A.; Thomsen, M. (2012): New insights into the genetics of immune responses in rheumatoid arthritis. In: *Tissue antigens* 80 (2), S. 105–118. DOI: 10.1111/j.1399-0039.2012.01939.x.

Schaefer, Arne S.; Bochenek, Gregor; Manke, Thomas; Nothnagel, Michael; Graetz, Christian; Thien, Anneke et al. (2013): Validation of reported genetic risk factors for periodontitis in a large-scale replication study. In: *Journal of clinical periodontology* 40 (6), S. 563–572. DOI: 10.1111/jcpe.12092.

Schaefer, Arne S.; Richter, Gesa M.; Nothnagel, Michael; Manke, Thomas; Dommisch, Henrik; Jacobs, Gunnar et al. (2010): A genome-wide association study identifies GLT6D1 as a susceptibility locus for periodontitis. In: *Human molecular genetics* 19 (3), S. 553–562. DOI: 10.1093/hmg/ddp508.

Schröder, A. E.; Greiner, A.; Seyfert, C.; Berek, C. (1996): Differentiation of B cells in the nonlymphoid tissue of the synovial membrane of patients with rheumatoid arthritis. In: *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 93 (1), S. 221–225. DOI: 10.1073/pnas.93.1.221.

Schulz, S.; Hierse, L.; Altermann, W.; Klapproth, J.; Zimmermann, U.; Reichert, Y. et al. (2010): The del/del genotype of the nuclear factor-kappaB -94ATTG polymorphism and its relation to aggressive periodontitis. In: *Journal of periodontal research* 45 (3), S. 396–403. DOI: 10.1111/j.1600-0765.2009.01251.x.

Schulz, S.; Zissler, N.; Altermann, W.; Klapproth, J.; Zimmermann, U.; Gläser, C. et al. (2008): Impact of genetic variants of CD14 and TLR4 on subgingival periodontopathogens. In: *International journal of immunogenetics* 35 (6), S. 457–464. DOI: 10.1111/j.1744-313X.2008.00811.x.

Schulz, Susanne; Pütz, Natalie; Jurianz, Elisa; Schaller, Hans-Günter; Reichert, Stefan (2019): Are There Any Common Genetic Risk Markers for Rheumatoid Arthritis and Periodontal Diseases? A Case-Control Study. In: *Mediators of inflammation* 2019, S. 2907062. DOI: 10.1155/2019/2907062.

Schulz, Susanne; Zimmer, Pauline; Pütz, Natalie; Jurianz, Elisa; Schaller, Hans-Günter; Reichert, Stefan (2020): rs2476601 in PTPN22 gene in rheumatoid arthritis and periodontitis—a possible interface? In: *Journal of translational medicine* 18 (1), S. 389. DOI: 10.1186/s12967-020-02548-w.

Scott, David L.; Wolfe, Frederick; Huizinga, Tom W. J. (2010): Rheumatoid arthritis. In: *Lancet (London, England)* 376 (9746), S. 1094–1108. DOI: 10.1016/S0140-6736(10)60826-4.

- She, Yang-Yang; Kong, Xiang-Bo; Ge, Ya-Ping; Liu, Zhi-Yong; Chen, Jie-Yu; Jiang, Jing-Wei et al. (2020): Periodontitis and inflammatory bowel disease: a meta-analysis. In: *BMC oral health* 20 (1), S. 67. DOI: 10.1186/s12903-020-1053-5.
- Shi, Quan; Cai, Chuan; Xu, Juan; Liu, Jinglong; Liu, Hongchen; Huo, Na (2017): Is there an association between IFN- γ +874A/T polymorphism and periodontitis susceptibility?: A meta-analysis. In: *Medicine* 96 (25), e7288. DOI: 10.1097/MD.00000000000007288.
- Shungin, Dmitry; Haworth, Simon; Divaris, Kimon; Agler, Cary S.; Kamatani, Yoichiro; Keun Lee, Myoung et al. (2019): Genome-wide analysis of dental caries and periodontitis combining clinical and self-reported data. In: *Nature communications* 10 (1), S. 2773. DOI: 10.1038/s41467-019-10630-1.
- Silman, Alan J.; Pearson, Jacqueline E. (2002): Epidemiology and genetics of rheumatoid arthritis. In: *Arthritis research* 4 Suppl 3, S265-72. DOI: 10.1186/ar578.
- Silvestre, F-J; Silvestre-Rangil, J.; Bagán, L.; Bagán, J-V (2016): Effect of nonsurgical periodontal treatment in patients with periodontitis and rheumatoid arthritis: A systematic review. In: *Medicina oral, patología oral y cirugía bucal* 21 (3), e349-54. DOI: 10.4317/medoral.20974.
- Simkins, Helen M. A.; Merriman, Marilyn E.; Highton, John; Chapman, Peter T.; O'Donnell, John L.; Jones, Peter B. B. et al. (2005): Association of the PTPN22 locus with rheumatoid arthritis in a New Zealand Caucasian cohort. In: *Arthritis and rheumatism* 52 (7), S. 2222–2225. DOI: 10.1002/art.21126.
- Smit, Menke J. de; Westra, Johanna; Brouwer, Elisabeth; Janssen, Koen M. J.; Vissink, Arjan; van Winkelhoff, Arie Jan (2015): Periodontitis and Rheumatoid Arthritis: What Do We Know? In: *Journal of periodontology* 86 (9), S. 1013–1019. DOI: 10.1902/jop.2015.150088.
- Smolen, Josef S.; Aletaha, Daniel; McInnes, Iain B. (2016): Rheumatoid arthritis. In: *Lancet (London, England)* 388 (10055), S. 2023–2038. DOI: 10.1016/S0140-6736(16)30173-8.
- Socransky, S. S.; Haffajee, A. D.; Cugini, M. A.; Smith, C.; Kent, R. L. (1998): Microbial complexes in subgingival plaque. In: *Journal of clinical periodontology* 25 (2), S. 134–144. DOI: 10.1111/j.1600-051x.1998.tb02419.x.
- Song, Y. W.; Kang, E. H. (2010): Autoantibodies in rheumatoid arthritis: rheumatoid factors and anticitrullinated protein antibodies. In: *QJM : monthly journal of the Association of Physicians* 103 (3), S. 139–146. DOI: 10.1093/qjmed/hcp165.
- Spurlock, Charles F.; Tossberg, John T.; Olsen, Nancy J.; Aune, Thomas M. (2015): Cutting Edge: Chronic NF- κ B Activation in CD4+ T Cells in Rheumatoid Arthritis Is Genetically Determined by HLA Risk Alleles. In: *Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)* 195 (3), S. 791–795. DOI: 10.4049/jimmunol.1500267.
- Stanford, Stephanie M.; Bottini, Nunzio (2014): PTPN22: the archetypal non-HLA autoimmunity gene. In: *Nature reviews. Rheumatology* 10 (10), S. 602–611. DOI: 10.1038/nrrheum.2014.109.
- Sudhakara, Preethi; Gupta, Abishek; Bhardwaj, Anshumouli; Wilson, Aruni (2018): Oral Dysbiotic Communities and Their Implications in Systemic Diseases. In: *Dentistry journal* 6 (2). DOI: 10.3390/dj6020010.
- Suzuki, Akari; Yamada, Ryo; Chang, Xiaotian; Tokuhira, Shinya; Sawada, Tetsuji; Suzuki, Masakatsu et al. (2003): Functional haplotypes of PADI4, encoding citrullinating enzyme peptidylarginine deiminase 4, are associated with rheumatoid arthritis. In: *Nature genetics* 34 (4), S. 395–402. DOI: 10.1038/ng1206.

- Symmons, D. P.; Bankhead, C. R.; Harrison, B. J.; Brennan, P.; Barrett, E. M.; Scott, D. G.; Silman, A. J. (1997): Blood transfusion, smoking, and obesity as risk factors for the development of rheumatoid arthritis: results from a primary care-based incident case-control study in Norfolk, England. In: *Arthritis and rheumatism* 40 (11), S. 1955–1961. DOI: 10.1002/art.1780401106.
- Tang, Qingqin; Fu, Haitao; Qin, Baodong; Hu, Zhide; Liu, Yaoting; Liang, Yan et al. (2017): A Possible Link Between Rheumatoid Arthritis and Periodontitis: A Systematic Review and Meta-analysis. In: *The International journal of periodontics & restorative dentistry* 37 (1), S. 79–86. DOI: 10.11607/prd.2656.
- Témoin, Stéphanie; Chakaki, Alia; Askari, Ali; El-Halaby, Ahmed; Fitzgerald, Steven; Marcus, Randall E. et al. (2012): Identification of oral bacterial DNA in synovial fluid of patients with arthritis with native and failed prosthetic joints. In: *Journal of clinical rheumatology : practical reports on rheumatic & musculoskeletal diseases* 18 (3), S. 117–121. DOI: 10.1097/RHU.0b013e3182500c95.
- Teumer, Alexander; Holtfreter, Birte; Völker, Uwe; Petersmann, Astrid; Nauck, Matthias; Biffar, Reiner et al. (2013): Genome-wide association study of chronic periodontitis in a general German population. In: *Journal of clinical periodontology* 40 (11), S. 977–985. DOI: 10.1111/jcpe.12154.
- Tonetti, M. S.; Claffey, N. (2005): Advances in the progression of periodontitis and proposal of definitions of a periodontitis case and disease progression for use in risk factor research. Group C consensus report of the 5th European Workshop in Periodontology. In: *Journal of clinical periodontology* 32 Suppl 6, S. 210–213. DOI: 10.1111/j.1600-051X.2005.00822.x.
- Ueda, Hironori; Howson, Joanna M. M.; Esposito, Laura; Heward, Joanne; Snook, Hywel; Chamberlain, Giselle et al. (2003): Association of the T-cell regulatory gene CTLA4 with susceptibility to autoimmune disease. In: *Nature* 423 (6939), S. 506–511. DOI: 10.1038/nature01621.
- Urbán, Edit; Terhes, Gabriella; Radnai, Márta; Gorzó, István; Nagy, Elisabeth (2010): Detection of periodontopathogenic bacteria in pregnant women by traditional anaerobic culture method and by a commercial molecular genetic method. In: *Anaerobe* 16 (3), S. 283–288. DOI: 10.1016/j.anaerobe.2010.02.005.
- van de Sande, M. G. H.; Hair, M. J. H. de; van der Leij, C.; Klarenbeek, P. L.; Bos, W. H.; Smith, M. D. et al. (2011): Different stages of rheumatoid arthritis: features of the synovium in the preclinical phase. In: *Annals of the rheumatic diseases* 70 (5), S. 772–777. DOI: 10.1136/ard.2010.139527.
- Vetchinkina, Ekaterina A.; Mikhaylenko, Dmitry S.; Kuznetsova, Ekaterina B.; Deryagina, Tatiana A.; Alekseeva, Ekaterina A.; Bure, Irina V. et al. (2021): Genetic Factors of Predisposition and Clinical Characteristics of Rheumatoid Arthritis in Russian Patients. In: *Journal of personalized medicine* 11 (6). DOI: 10.3390/jpm11060469.
- Viatte, Sebastien; Barton, Anne (2017): Genetics of rheumatoid arthritis susceptibility, severity, and treatment response. In: *Seminars in immunopathology* 39 (4), S. 395–408. DOI: 10.1007/s00281-017-0630-4.
- Viatte, Sebastien; Plant, Darren; Raychaudhuri, Soumya (2013): Genetics and epigenetics of rheumatoid arthritis. In: *Nature reviews. Rheumatology* 9 (3), S. 141–153. DOI: 10.1038/nrrheum.2012.237.
- Vojdani, Aristo (2014): A Potential Link between Environmental Triggers and Autoimmunity. In: *Autoimmune diseases* 2014, S. 437231. DOI: 10.1155/2014/437231.
- Walker, Lucy S. K. (2013): Treg and CTLA-4: two intertwining pathways to immune tolerance. In: *Journal of autoimmunity* 45, S. 49–57. DOI: 10.1016/j.jaut.2013.06.006.

- Wilson, K.; Goldsmith, C. H. (1999): Does smoking cause rheumatoid arthritis? In: *The Journal of rheumatology* 26 (1), S. 1–3.
- Wolf, Herbert F.; Rateitschak, Edith M.; Rateitschak, Klaus H. (2004): Parodontologie. 3., vollst. überarb. und erw. Aufl. Stuttgart, New York: Thieme (Farbatlant der Zahnmedizin, Bd. 1).
- Yamada, Ryo; Suzuki, Akari; Chang, Xiotian; Yamamoto, Kazuhiko (2003): Peptidylarginine deiminase type 4: identification of a rheumatoid arthritis-susceptible gene. In: *Trends in molecular medicine* 9 (11), S. 503–508. DOI: 10.1016/j.molmed.2003.09.010.
- Zamanpoor, Mansour (2019): The genetic pathogenesis, diagnosis and therapeutic insight of rheumatoid arthritis. In: *Clinical genetics* 95 (5), S. 547–557. DOI: 10.1111/cge.13498.
- Zhang, Wenbo; Xu, Pu; Chen, Zhuogeng; Cheng, Yanan; Li, Xiaoni; Mao, Qihua (2018): IL-13 -1112 polymorphism and periodontitis susceptibility: a meta-analysis. In: *BMC oral health* 18 (1), S. 21. DOI: 10.1186/s12903-018-0481-y.
- Zhao, Bo; Li, Ronghua (2018): The association between periodontitis and interleukin-6 genetic polymorphism -174 G/C: A meta-analysis. In: *Archives of oral biology* 96, S. 13–20. DOI: 10.1016/j.archoralbio.2018.08.007.
- Zhernakova, Alexandra; Alizadeh, Behrooz Z.; Bevova, Marianna; van Leeuwen, Miek A.; Coenen, Marieke J. H.; Franke, Barbara et al. (2007): Novel association in chromosome 4q27 region with rheumatoid arthritis and confirmation of type 1 diabetes point to a general risk locus for autoimmune diseases. In: *American journal of human genetics* 81 (6), S. 1284–1288. DOI: 10.1086/522037.
- Zoledziewska, Magdalena; Perra, Chiara; Orrù, Valeria; Moi, Loredana; Frongia, Paola; Congia, Mauro et al. (2008): Further evidence of a primary, causal association of the PTPN22 620W variant with type 1 diabetes. In: *Diabetes* 57 (1), S. 229–234. DOI: 10.2337/db07-0289.

8 Thesen

1. Die rheumatoide Arthritis und Parodontitis sind chronisch entzündliche Krankheitsbilder multifaktorieller Genese und weisen gemeinsame pathologische und immunologische Merkmale auf.
2. Es existieren gemeinsame genetische Risiko- oder Resistenzfaktoren als mögliche Schnittstelle beider Erkrankungen.
3. Die Genotyp- und Allelverteilung ausgewählter Kandidatengene (PTPN22, PADI4, CTLA4) stellen eine mögliche Assoziation mit einer rheumatoiden Arthritis und/oder schweren Parodontitis dar.
4. Das T-Allel des SNP rs2476601 (PTPN22-Gen) stellt einen unabhängigen gemeinsamen genetischen Risikofaktor für die Parodontitis und rheumatoide Arthritis dar.
5. RA-Probanden*innen mit schwerer PA sind häufiger Träger des T-Allels und der Genotypen CT+TT (PTPN22, rs2476601) als RA-freie Kontrollen mit keiner/ milder PA.
6. Die Genotypen CT+TT (PTPN22, rs2476601), das T-Allel (PTPN22, rs2476601), der CT-Genotyp (PADI4, rs2240340) und der AG-Genotyp (CTLA4, rs3087243) werden bei RA-Probanden*innen mit schwerer PA häufiger als bei RA-Probanden*innen mit keiner/ milder PA nachgewiesen.
7. Von einer rheumatoiden Arthritis sind häufiger Träger des T-Allels und der CT+TT-Genotypen der Gene PTPN22 (rs2476601) und PADI4 (rs2240340) betroffen.
8. RA-Patienten*innen sind älter und häufiger Raucher*innen als RA-freie Kontrollen. Sie zeigen erhöhte Sondierungstiefen, einen erhöhten approximalen CAL und berichten häufiger über Zahnverlust.
9. An schwerer Parodontitis erkranken ältere Patienten*innen. Diese sind häufiger männlich und weisen schwerwiegendere parodontale Merkmale auf als Patienten*innen ohne schwere PA.

Tabellen

Anlage I- Geräte und Materialien

Geräte/ Instrumente	Materialien
<ul style="list-style-type: none"> - Druckkalibrierte Sonde (VICACARE TPS PERIODONTAL PROBE Schaan, Liechtenstein oder DB764R Aesculap AG & Co. KG, Tuttlingen, Deutschland) - Nicht druckkalibrierte Sonde mit einer Millimeterskalierung (PCPUNC156, Hu Friedy) - Mastercycler® Gradient (Firma Eppendorf, Hamburg, Deutschland) <ul style="list-style-type: none"> - Mikrowelle - Elektrophoresekammer (Bioplex®Strehlau und Kruse GmbH, Freiburg, Deutschland) - UV-Transilluminator (AGS, Heidelberg, Deutschland) 	<ul style="list-style-type: none"> - Mikro-Ident-Test (Firma Hain, Hain Diagnostica, Nehren) <ul style="list-style-type: none"> - EDTA haltige Monovette - QIAamp®-DNA-Blood-Kit (Qiagen, Hilden, Deutschland) - 96well Platte (Universität Heidelberg) <ul style="list-style-type: none"> - Wasser - Mastermix (Promega, Mannheim, Deutschland) - Taq I/II, NLA1/2, PTPN1/2 Polymerase (New England BioLabs®Inc.) <ul style="list-style-type: none"> - Formamid - Sekam Agarose (Biozym, Scientific GmbH, Hessisch Oldendorf, Deutschland) <ul style="list-style-type: none"> - TBE-Puffer - Mildori Green Advance DNA-Farbstoff (Biozym, Scientific GmbH, Hessisch Oldendorf, Deutschland) <ul style="list-style-type: none"> - Stopper - 100bp Leiter (Gibco BRL, Eggenstein, Deutschland) - Cut Smart (New England BioLabs®Inc.) - Taq α1, NIaIII, RSAI (New England BioLabs®Inc.)

Erklärungen

- (1) Ich erkläre, dass ich mich an keiner anderen Hochschule einem Promotionsverfahren unterzogen bzw. eine Promotion begonnen habe.

- (2) Ich erkläre, die Angaben wahrheitsgemäß gemacht und die wissenschaftliche Arbeit an keiner anderen wissenschaftlichen Einrichtung zur Erlangung eines akademischen Grades eingereicht zu haben.

- (3) Ich erkläre an Eides statt, dass ich die Arbeit selbstständig und ohne fremde Hilfe verfasst habe. Alle Regeln der guten wissenschaftlichen Praxis wurden eingehalten; es wurden keine anderen als die von mir angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt und die den benutzten Werken wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen als solche kenntlich gemacht.

20.07.2022

Publikationen dieser Promotion

(1) Titel: rs2476601 in PTPN22 gene in rheumatoid arthritis and periodontitis-a possible interface? (Schulz et al. 2020)

Autoren: S. Schulz, P. Zimmer, N. Pütz, E. Jurianz, H.-G. Schaller, S. Reichert

Publikationsort: J Transl Med. 2020; 18 (1): S.389. Published online 2020 Oct 15. doi: 10.1186/s12967-020-02548-w

(2) Titel: Genetische Risikomarkern als mögliche Schnittstelle zwischen rheumatoider Arthritis und Parodontitis

Autoren: S. Schulz, P. Zimmer, N. Pütz, E. Jurianz, H.-G. Schaller, S. Reichert

Publikationsort: Jahrestagung der DG PARO vom 17.-19.09.2020, Poster

Danksagung

An dieser Stelle möchte ich allen Personen Dank aussprechen, die mich bei der Anfertigung meiner Dissertation unterstützt haben.

Mein besonderer Dank gilt Frau apl. Prof. Dr. rer. medi. habil. Susanne Schulz und Herrn apl. Prof. Dr. med. dent. habil. Stefan Reichert für die Vergabe des Themas, die fortlaufende Unterstützung bei der Durchführung genomischer Untersuchungen, statistischer Berechnungen und viele hilfreiche Tipps während der Verschriftlichung der wissenschaftlichen Arbeit.

Herrn Univ.-Prof. Dr. med. dent. habil. Hans-Günter Schaller danke ich für die Möglichkeit, an seiner Klinik eine Dissertation anzufertigen.

Darüber hinaus möchte ich mich bei Frau Dr. Elisa Jurianz, Herrn Dr. Maximilian Haffner, Frau Dr. Lisa Anne Waltraud Hezel, Frau Dr. Natalie Alexandra Pütz, die Klinik für Innere Medizin 2 des Universitätsklinikums Halle/Saale (Arbeitsbereich Rheumatologie Prof. G. Keyßer, Dr. C. Schäfer), das Rheumahaus Potsdam (Berufsausübungsgemeinschaft Dr. M. Bohl-Bühler, Dr. S. Reckert) und den rheumatologischen Arztpraxen aus Halle/Saale (Dr. A. Liebhaber, Dr. Th. Linde, Dr. R. Schoebeß) und Magdeburg (Dr. C. Weimann) für die Beteiligung an der Rekrutierung und Untersuchung der Patienten*innen bedanken.

Meinen Eltern, Großeltern und meinem Freund danke ich für die stetige Motivation.