Aus der Universitätspoliklinik für Zahnerhaltungskunde und Parodontologie
des Universitätsklinikums Halle (Saale)

(Direktor: Prof. Dr. Hans-Günter Schaller)

Assoziationen der CRP-Polymorphismen rs1800947 und rs1417938 des CRP-Gens zum Schweregrad der Parodontitis und zur Inzidenz neuer kardiovaskulärer Ereignisse unter stationären Patienten mit koronarer Herzerkrankung

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 Henriette Lüdike

geboren am 15.05.1987 in Halle (Saale)

Betreuer: apl. Prof. Dr. Stefan Reichert

Gutachter: 1. apl. Prof. Dr. Stefan Reichert

2. PD Dr. Dr. Konstanze Scheller

3. Prof. Dr. Rüdiger Braun-Dullaeus (Universität Magdeburg)

12.12.2017

10.12.2018

Referat

Einleitung: Parodontitis könnte ein Risikofaktor für erneute kardiovaskuläre Ereignisse bei Patienten mit koronarer Herzerkrankung (KHK) sein. Seit 2008 wird deshalb in Kooperation mit der Klinik für Innere Medizin III in einer Longitudinalstudie (ClinicalTrials.gov Identifier: NCT01045070) der Zusammenhang zwischen Parodontitis und der Inzidenz erneuter kardiovaskulärer Ereignisse (kombinierter Endpunkt, Myokardinfarkt, Schlaganfall/TIA, kardialer Tod) bei Patienten mit koronarer Herzerkrankung (KHK) untersucht. In der vorliegenden Substudie sollte überprüft werden, ob genetische Varianten im CRP-Gen, adjustiert für bekannte parodontale und atherosklerotische Risikofaktoren, indikativ für kardiovaskuläre Sekundärereignisse sind.

Methoden: In die Studie wurden konsekutiv-prospektiv 940 Patienten mit angiographisch gesicherter Koronarstenose aus Mitteldeutschland aufgenommen. Alle Patienten wurden parodontologisch untersucht (Plaqueindex, Blutung auf Sondierung, Sondiertiefen, klinischer Attachmentverlust). Nach einem Jahr erfolgte bei den 940 Patienten (kein Drop-out) die Reevaluierung bezüglich eines kardiovaskulären Folgeereignisses anhand schriftlich standardisierter Fragebögen oder Telefoninterviews. Die Bestimmung der SNPs rs1800947 und rs14117938 im CRP-Gen erfolgte aus Blutproben nach DNA-Isolierung. Anschließend wurden sie durch die molekularbiologischen Methoden Polymerase-Ketten-Reaktion und Restriktions-Fragment-Längen-Polymorphismus identifiziert. Die statistischen Analysen der Daten wurden mit SPSS 19.0 durchgeführt.

Ergebnisse: Sowohl nach der Kaplan-Meier-Statistik als auch nach der COX-Regression war keiner der beiden untersuchten Polymorphismen im CRP-Gen mit der Inzidenz des kombinierten kardiovaskulären Endpunkts assoziiert. Dagegen konnte eine Assoziation beider Polymorphismen zum CRP-Serumspiegel nachgewiesen werden. G-Allel-Träger des rs1800947 (Median: 9,3 [3,7/35,4] mg/l) hatten im Vergleich zu C-Allel-Trägern (Median: 5,7 [3,9/18,9] mg/l) höhere CRP-Serumspiegel ($p = 0,021$). Gleiches trifft auf A-Allel-Träger des rs1417938 (Median: 10,1 [4,4/36,9] mg/l) verglichen mit T-Allel-Trägern des gleichen Polymorphismus (Median: 8,1 [3,4/30,0] mg/l; $p = 0,045$) zu.

Schlussfolgerung: Die Polymorphismen rs1800947 und rs1417938 im CRP-Gen waren zwar zur Höhe des CRP-Serumspiegels aber nicht zur Inzidenz kardiovaskulärer Folgeereignisse während des Ein-Jahres-Follow-ups assoziiert.

Lüdike, Henriette: Assoziationen der CRP-Polymorphismen rs1800947 und rs1417938 des CRP-Gens zum Schweregrad der Parodontitis und zur Inzidenz neuer kardiovaskulärer Ereignisse unter stationären Patienten mit koronarer Herzerkrankung. Halle (Saale), Univ., Med. Fak., 78 Seiten, 2017

Inhaltsverzeichnis

Inhalt

1 Einleitung 1
1.1 Einführung 1
1.2 Parodontitis 2
1.2.1 Definition und Ätiologie 2
1.2.2 Mikrobiologie der Parodontitis 3
1.2.3 Pathogenese der Parodontitis 6
1.2.4 Risikofaktoren der Parodontitis 8
1.2.5 Einfluss der Genetik auf die Parodontitis 9
1.3 Koronare Herzerkrankung 10
1.3.1 Definition und Ätiologie 10
1.3.2 Pathogenese der KHK 11
1.4 Parodontitis und Koronare Herzerkrankung 12
1.4.1 Assoziationsstudien zwischen Parodontitis und KHK 12
1.4.2 Biologische Plausibilität des Zusammenhangs zwischen Parodontitis und KHK 13
1.5 C-reaktives Protein (CRP) 15
1.5.1 Struktur und Funktion 15
1.5.2 CRP und Parodontitis 16
1.5.3 CRP und atherosklerotische Prozesse 17
1.5.4 Bedeutung des CRPs als diagnostischer Marker 18
1.5.5 Polymorphismen im CRP-Gen 19
2 Zielstellung 21
3 Material und Methodik 23
3.1 Studiendesign 23
3.2 Ein- und Ausschlusskriterien für die KHK-Patienten 23
3.3 Anamnese 24
3.4 Zahnmedizinisch klinische Untersuchung 25
3.5 Mikrobiologische Untersuchung 26
3.6 Medizinisch klinische Untersuchung 26
3.7 Gentische Untersuchung - Bestimmung der CRP-Polymorphismen 27
3.8 Follow-Up 31
3.9 Statistische Auswertung 31
4 Ergebnisse 32
4.1 Basisdaten – Charakterisierung der Koronarpatienten 32
4.1.1 Demografische und biochemische Parameter 32
4.1.2 Vorerkrankungen 34

4.1.3 Zahnärztliche Parameter und mikrobielle Belastung 34
4.2 Basisdaten- Genetische Untersuchung der Koronarpatienten im CRP-Gen 37
4.2.1 Assoziation zwischen den CRP-Polymorphismen rs1800947 bzw. rs1417938 und dem Schweregrad der Parodontitis bei Koronarpatienten 37
4.2.2 Assoziation der CRP-Polymorphismen rs1800947 und rs1417938 zur Anzahl nachgewiesener Bakterienspezies in der subgingivalen Plaque bei Koronarpatienten 38
4.2.3 Assoziationen der CRP-Polymorphismen rs1800947 und rs1417938 zum Nachweis einzelner Bakterien in der subgingivalen Plaque 38
4.2.4 Assoziation der CRP-Polymorphismen rs1800947 und rs1417938 zu klinischen Variablen sowie zu zum Zeitpunkt der Basisuntersuchung bekannten Vorerkrankungen 40
4.2.5 Assoziation der CRP-Genpolymorphismen rs1800947 und rs1417938 zur Höhe des CRP-Serumspiegels 41
4.3 Follow-up-Daten 43
4.3.1 Klinische Charakterisierung der Patienten entsprechend eines erneuten kardiovaskulären Ereignisses 43
4.3.2 Die Polymorphismen rs1800947 und rs1417938 im CRP-Gen als mögliche Prädikatoren für die Inzidenz des kombinierten Endpunkts 43
4.4 Zusammenfassung der Ergebnisse unter Berücksichtigung der aufgestellten Hypothesen 46
5 Diskussion 48
5.1 Methodendiskussion 48
5.2 Ergebnisdiskussion – Auswertung der Querschnittsuntersuchung im Bezug zur parodontalen Diagnose 49
5.2.1 Diskussion demografischer Daten im Bezug zur parodontalen Diagnose 49
5.2.2 Diskussion biochemischer Parameter im Bezug zur parodontalen Diagnose 50
5.2.3 Assoziation anamnestisch erhobener Vorerkrankungen zur parodontalen Diagnose 51
5.2.4 Diskussion zahnärztlicher Parameter im Bezug zur parodontalen Diagnose 52
5.2.5 Differenzierung des Patientenkollektivs bezüglich parodontopathogener Bakterien 52
5.3 Ergebnisdiskussion – Genetische Untersuchung der CRP-Polymorphismen rs1800947 und rs1417938 des CRP-Gens in den Querschnittsuntersuchungen 54
5.3.1 Beziehung der CRP-Polymorphismen rs1800947 und rs1417938 zur parodontalen Diagnose bei Koronarpatienten 54
5.3.2 Assoziation der CRP-Polymorphismen rs1800947 und rs1417938 zum Bakteriennachweis in der subgingivalen Plaque 54
5.3.3 Assoziation der CRP-Polymorphismen rs1800947 und rs1417938 zu klinischen Parametern sowie zu anamnestisch bekannten Vorerkrankungen 55
5.3.4 Assoziationen der CRP-Polymorphismen rs1800947 und rs1417938 zum CRP-Serumspiegel 56

5.4 Diskussion der Follow-up-Ergebnisse 57
5.4.1 Differenzierung des Patientenkollektivs entsprechend des kardiovaskulären Events 57
5.4.2 Assoziationen der CRP-Polymorphismen rs1800947 und rs1417938 zum Auftreten erneuter kardiovaskulärer Ereignisse 58
5.5 Schlussfolgerung 60
6 Zusammenfassung 62
7 Literaturverzeichnis 65
8 Thesen 77

Verzeichnis der Abkürzungen und Symbole

A	Adenin
A. actino-mycetemcomitans	*Aggregatibacter actinomycetemcomitans*
Abb.	Abbildung
Aqua dest.	destilliertes Wasser
BMI	„Body Mass Index" (Körpergewichtsindex)
bp	Basenpaare
BOP	„bleeding on probing" (Sondierblutung)
BSA	„bovine-serum-albumin" (Rinderserumalbumin)
C	Cytosin
C. gingivalis	*Capnocytophaga gingivalis*
C. ochracea	*Capnocytophaga ochracea*
C. rectus	*Campylobacter rectus*
C. sputigena	*Capnocytophaga sputigena*
CAL	„clinical attachment loss" (klinischer Attachmentverlust)
CRP	C-reaktives Protein
DMFT	decayed/missing/filled teeth
DNA	„Deoxyribonucleic acid" (Desoxyribonukleinsäure)
dNTP	Desoxyribonukleotidtriphosphat
E. corrodens	*Eikenella corrodens*
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
E. nodatum	*Eubacterium nodatum*
eNOS	endotheliale Stickstoffmonooxid-Synthase
F. nucleatum	*Fusobacterium nucleatum*
G	Guanin
HDL	„High Density" Lipoproteine (Lipoproteine mit hoher Dichte)
IgA	Immunglobulin A
IL	Interleukin
KHK	Koronare Herzerkrankung
LDL	„Low Density" Lipoproteine (Lipoproteine mit geringer Dichte)
LPS	Lipopolysaccharid
m	milli-
µ	mikro-

MMP	Matrixmetalloprotease
mRNA	„messenger RNA", Boten-Ribonukleinsäure
MW	Mittelwert
n	nano-
n.s.	nicht signifikant
OPG	Osteoprotegerin
oxLDL	oxidierte „Low Density" Lipoproteine
PAVK	Periphere arterielle Verschlusskrankheit
PBS	„phosphat buffered saline" (Phosphatpuffer)
PCR	„Polymerase chain reaction" (Polymerase-Kettenreaktion)
PD	„pocket depth" (Taschentiefe)
P. gingivalis	*Porphyromonas gingivalis*
P. intermedia	*Prevotella intermedia*
P. micros	*Peptostreptococcus micros*
PMN	polymorphkernige neutrophile Granulozyten
RANK	Rezeptor-Aktivator des nukleären Faktors
RANKL	Ligand des Rezeptor-Aktivators des nukleären Faktors
RFLP	„restriction fragment length polymorphism" (Restriktionsfragment-Längenpolymorphismus)
RNA	„Ribonucleic acid" (Ribonukleinsäure)
rpm	„rounds per minute" (Umdrehungen pro Minute)
Ref.	Referenz
RT	Raumtemperatur
SD	„Standard deviation" (Standardabweichung)
SNP	„single nucleotide polymorphism" (Polymorphismus)
T	Thymin
Tab.	Tabelle
Taq	*Thermus aquaticus*
TBE	Tris-Borat-EDTA-Puffer
T. denticola	*Treponema denticola*
T. forsythia	*Tannerella forsythia*
TIA	transitorisch ischämische Attacke
TNF	Tumornekrosefaktor
tPA	„tissue plasminogen activator" (gewebespezifischer Plasminogenaktivator)

Tris	Tris-Hydroxymethylaminomethan
UV	Ultraviolett
V	Volumen, Volt
VCAM-1	vaskuläres Zelladhäsionsmolekül 1
vs.	versus
WHO	World Health Organisation

1 Einleitung

1.1 Einführung

Die Parodontitis und die koronare Herzerkrankung (KHK) sind entzündliche Erkrankungen multifaktorieller Genese, die vor allem in den Industriestaaten eine hohe Prävalenz in der Bevölkerung aufweisen.

Die Parodontitis ist eine opportunistische Infektion des Zahnhalteapparates, welche primär durch pathogene Mikroorganismen verursacht wird. Als Folge der Entzündung wird das körpereigene Immunsystem aktiviert (Page and Kornman, 1997). Durch die Abgabe von Entzündungsmediatoren, die Mikroorganismen eliminieren sollen, werden auch Proteasen und Prostaglandine freigesetzt, die den Abbau parodontaler Strukturen fördern und zur Destruktion des Parodonts führen. Die Pathogenese der Parodontitis wird von genetischen und nichtgenetischen Risikofaktoren beeinflusst (Genco, 1996; Salvi et al., 1997). Zu den nichtgenetischen Risikofaktoren zählen Rauchen, Stress und Allgemeinerkrankungen wie beispielsweise ein schlecht eingestellter Diabetes mellitus, die Einfluss auf das Immunsystem, den Glucosestoffwechsel oder die Wundheilung haben können. Nach Zwillingsstudien wird der Einfluss genetischer Faktoren auf die Pathogenese der Parodontitis auf ca. 50 % geschätzt (Michalowicz et al., 1991; Michalowicz, 1994). Gene, die einen Einfluss auf die Immunabwehr (Zytokine und Akute-Phase-Proteine) haben, sind hierbei von besonderem Interesse (Schäfer et al., 2011).

Die KHK entsteht durch atherosklerotische Veränderungen der Herzkranzgefäße. Die Entwicklung atherosklerotischer Plaques wird durch proinflammatorische Prozesse begünstigt. Die endotheliale Dysfunktion ist das erste Symptom der Gefäßveränderung auf entzündliche Stimuli. Durch die Aktivierung des Immunsystems entstehen in der Gefäßwand lipidreiche Ablagerungen, die zur Veränderung der Gefäßmorphologie sowie zu einer Einengung des Gefäßlumens führen (Ross, 1999).

Parodontitis und KHK teilen gemeinsame Risikofaktoren wie z. B. Rauchen, Diabetes mellitus, Stress und genetische Veränderungen. Daneben können Parodontitisbakterien, die in den Blutstrom gelangen, direkt oder indirekt entzündliche Veränderungen an Koronargefäßen hervorrufen (Ohki et al., 2012).

Das C-reaktive Protein (CRP) gehört zu den Akute-Phase-Proteinen und wird u.a. durch Induktion von IL-6 als Reaktion auf bakterielle Infektionen gebildet (Bassuk et al.,2004). CRP aktiviert das körpereigene Komplementsystem, welches eine immunologische Kaskade mit Destruktion des parodontalen Gewebes sowie der alveolären Knochenstruktur hervorruft. Auch chronisch

inflammatorische Erkrankungen des Herz-Kreislaufsystems werden durch die gleichen Mediatoren wie die Parodontitis beeinflusst (Buono et al., 2002). Die CRP-Expression ist folglich wegen der Entzündungsreaktion bei beiden Erkrankungen erhöht (Fichtlscherer and Zeiher, 2000; Slade et al., 2003). Aufgrund des postulierten biologischen Zusammenhangs beider Erkrankungen könnte sich die parodontale Entzündung auf die Inzidenz von erneuten kardiovaskulären Ereignissen bei Patienten mit koronarer Herzerkrankung auswirken. Hauptziel dieser Arbeit ist es zu untersuchen, ob funktionell wichtige Einzelnukleotidpolymorphismen (SNPs) im CRP-Gen mögliche prognostische Marker für kardiovaskuläre Folgeereignisse sein könnten. Weiterhin soll betrachtet werden, ob die CRP-Polymorphismen einen Einfluss auf die CRP-Serumkonzentration sowie auf den Schweregrad der Parodontitis bei Koronarpatienten nehmen.

1.2 Parodontitis

1.2.1 Definition und Ätiologie

Die Parodontitis ist eine durch Plaque verursachte entzündliche Erkrankung des Zahnhalteapparates, die zu progressivem Attachmentverlust und Knochenabbau führt. Taschenbildung und Rezessionen sind kennzeichnend für diese Erkrankung. Parodontalpathogene Bakterien induzieren die Entstehung und Manifestation einer Parodontitis, indem sie die Immunabwehr unterdrücken bzw. fehlleiten. Bei manchen erkrankten Patienten können sie eine überschießende Wirtsreaktion hervorrufen. Durch das Freisetzen von Entzündungsmediatoren und Proteasen wird der Abbau des Parodonts durch die körpereigene Immunreaktion ausgelöst. Vorläufer einer jeden Parodontitis ist eine Gingivitis. Sie beschränkt sich im Gegensatz zur Parodontitis auf die marginalen und suprakrestalen Bereiche der Gingiva. Die Akkumulation der Bakterien in subgingivalen Bereichen ist der primär auslösende Faktor für die Entstehung der Parodontitis. Parodontopathogene Mikroorganismen sind eine notwendige, jedoch nicht die alleinige Bedingung für die Entstehung einer Parodontitis. Dies deutet darauf hin, dass neben der Quantität und Qualität der subgingivalen Plaque, auch andere Faktoren einen modulierenden Einfluss haben. Abbildung 1 zeigt, dass neben der Virulenz der pathogenen Bakterien auch Unterschiede in der Aktivität der immunologischen Abwehrmechanismen entscheidend sind (Page and Kornman, 1997). Es ist bekannt, dass die Immunantwort auf parodontopathogene Keime überschießend, verzögert oder gar ausbleiben kann (Ranney, 1991). Darüber hinaus beeinflussen exogene Risikofaktoren wie Stress und chronischer Nikotinabusus den Verlauf der Parodontitis (Genco, 1996; Salvi et al., 1997). Systemische Erkrankungen wie der Diabetes mellitus fördern u.a. durch die Immunsuppression, die Mikroangiopathie und die Veränderung des Glucosestoffwechsels das Risiko einer Parodontitis-Ausbildung. Auch genetische Faktoren be-

einflussen die Pathogenese einer Parodontitis: die Manifestation einer chronischen Parodontitis ist beispielsweise bis zu 50 % von genetischen Faktoren abhängig (Michalowicz, 1994; Laine et al., 2010).

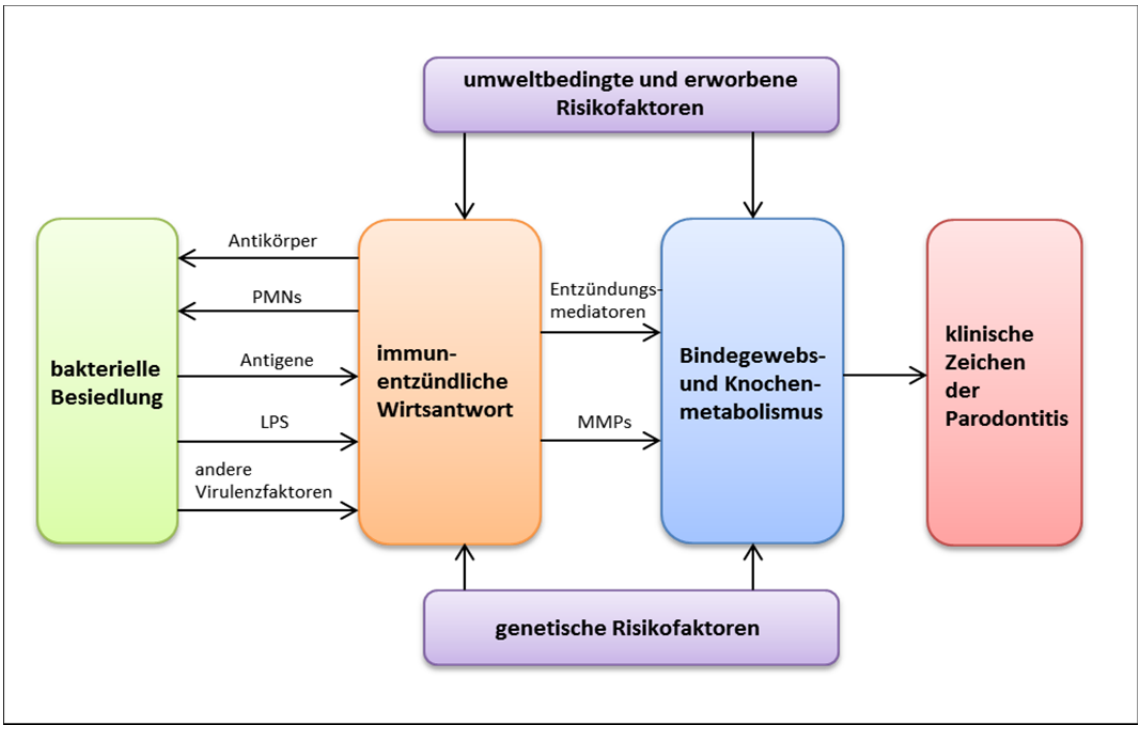

Abb. 1: Pathogenese der Parodontitis (modifiziert nach Page und Kornman 1997). PMNs: polymorphkernige neutrophile Granulozyten; LPS: Lipopolysaccharide; MMPs: Matrixmetalloproteinasen

1.2.2 Mikrobiologie der Parodontitis

Eine entscheidende Rolle für die Ätiologie der Parodontitis besitzt, wie bereits erwähnt, die bakterielle Mundflora. Da es sich bei der Parodontitis um eine opportunistische Infektion handelt, kommen die parodontopathogenen Bakterienstämme, wenn auch in geringer Anzahl, ebenfalls bei parodontal gesunden Patienten vor (Ximénez-Fyvie et al., 2000). Intensiven Untersuchungen zufolge sind sowohl die Quantität der Plaque als auch ihre Qualität, also die Besiedlung mit bestimmten Bakterienspezies, ausschlaggebend für den Verlauf der Erkrankung (Listgarten, 1988; Socransky et al., 1991). Durch eine fehlgeleitete Immunabwehr des Wirts, die als Folge aus den bereits beschriebenen Risikofaktoren und den Veränderungen des oralen Milieus (sinkender pH-Wert) entsteht, kommt es zu einem Ungleichgewicht der bakteriellen Mischflora (Dysbiose). Das nun entstandene Milieu gibt gram-negativ fakultativ oder obligat anaeroben Bakterien die Möglichkeit zur Vermehrung. Eine Anpassung der Koch'schen Postulate an die Besonderheiten von entzündlichen Parodontalerkrankungen wurde von Socransky 1979 vorgenommen (Socransky, 1979). Ein Bakterium gilt dann als parodontopathogen, wenn folgende Voraussetzungen erfüllt sind:

Assoziation: Ein Pathogen sollte häufiger und in höheren Mengen an erkrankten Regionen als an gesunden Stellen gefunden werden können.

Elimination: Eine Elimination des Pathogens sollte mit einer Elimination oder einem Rückgang der Erkrankung verbunden sein.

Wirtsantwort: Es sollte eine spezifische Wirtsantwort (z. B. Antikörperproduktion) auf das Pathogen erkennbar sein, die mit einem Gewebeschaden einhergeht.

Virulenzfaktor: Das Pathogen sollte Eigenschaften (z. B. Produktion gewebsschädlicher Stoffwechselprodukte) aufweisen, die (aktiv) einen Gewebsschaden auslösen können.

Tierstudien: Die Fähigkeit eines Pathogens eine Erkrankung hervorzurufen, sollte in Tierstudien belegt sein. Die Übertragung des Pathogens auf ein gesundes Tier sollte zu einer destruktiven Parodontalerkrankung führen.

Orale Bakterien sind weiterhin in der Lage, sich aufgrund ihrer Fähigkeit zu Adhärenz und Koloniebildung zu einem Biofilm zu organisieren und sich an Zahnoberflächen anzuheften. Die Biofilmentstehung beginnt bereits innerhalb weniger Minuten. Auf den gereinigten Zahnflächen bildet sich aus Bestandteilen des Speichels die Pellikelschicht. Sie ist eine bakterienfreie Schicht, die aus adsorbierten Proteinen, Glykoproteinen und anderen Makromolekülen besteht. Zunächst können sich Bakterien über physikalische Kräfte (z. B. Van-der-Waals-Kräfte oder Ionenbindung) locker an die Zahnoberfläche anheften. Einige Bakterien (Frühbesiedler) können mittels spezifischer Oberflächenstrukturen wie Adhäsinen (Lectine) mit Pellikelrezeptoren eine Bindung eingehen. Durch diese parodontalen Frühbesiedler, die auch in der parodontal gesunden Mundflora auftreten, werden extrazelluläre Polysaccharide gebildet, die eine Adhäsion und Vernetzung mit weiteren Bakterien fördern. Der entstandene Biofilm ist von zäher und klebriger Konsistenz, sodass er sich nur mechanisch entfernen lässt. Er schützt außerdem die in ihm enthaltenen Bakterien vor der Austrocknung sowie vor einer Immunantwort des Wirtes. Auch die Wirkung von Antibiotika ist durch die Schichtstärke des Biofilms eingeschränkt (Caldwell et al., 1997; Marsh, 2004).

Socransky et al. teilten die virulentesten Bakterien in Komplexe ein, die entsprechend ihrer Pathogenität farblich gekennzeichnet wurden (Abb. 2). Die ersten Bakterien, die sich bei der Biofilmbildung über Adhäsine an die Zahnoberfläche anlagern, sind zumeist gram-positive Bakterien. Zu ihnen zählen Bakterien des blauen (Actinomyceten), gelben (orale Streptokokken) und des violetten Komplexes (Veillonellen). Diese Frühbesiedler produzieren extrazelluläre Polysaccharide (Lektine), die die Adhäsion weiterer Keime und die Vernetzung des bestehenden Bakterienfilms fördern. *F. nucleatum* hat als Vertreter des orangenen Komplexes die Aufgabe der Koaggregation (Kolenbrander and London, 1993). Dies ist ein essentieller Mechanismus bei der Biofilmentstehung, da sich so Bakterien verschiedener Spezies erkennen und vernetzen kön-

nen. Durch die bakterielle Besiedlung des Gewebes reagiert das Immunsystem mit einer Einwanderung von Abwehrzellen. Dies führt zu einer Auflockerung des Saumepithels und schließlich zu einem sauerstoffarmen Milieu in der Tiefe der entstehenden Tasche. Dadurch kommt es zu einer Penetration durch gram-negative, fakultativ und obligat anaerobe Bakterien in das subgingivale Parodont.

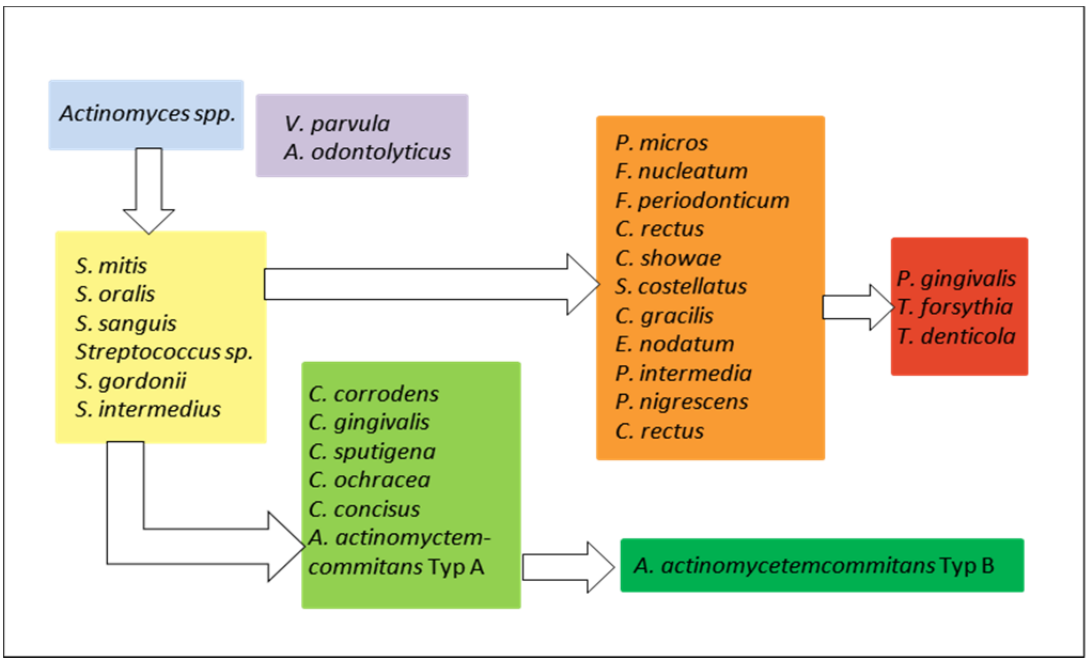

Abb. 2: Schematische Darstellung der Bakterienkomplexe in der Mundhöhle (modifiziert nach Socransky et al., 1998)

Ausgehend vom blauen und gelben Komplex entwickeln sich über den orangenen Komplex die besonders parodontopathogenen Bakterien des roten Komplexes zu dem *P. gingivalis, T. forsythia* und *T. denticola.* gehören. Diese werden deshalb als parodontale Leitkeime bezeichnet, da sie die stärkste Korrelation zu klinischen Parodontitisparametern wie Sondiertiefen und Sondierblutung aufweisen (Genco, 1996; Socransky et al., 1998). *P. gingivalis*, *T. forsythia* und *T. denticola* sind befähigt Proteasen abzusondern (Holt and Ebersole, 2005). *P. gingivalis* synthetisiert sogenannte Gingipaine (Cysteinproteasen), die die Migration des Bakteriums in das parodontale Gewebe erleichtern. Darüber hinaus sind Gingipaine an der Modulation der Wirtsabwehr maßgeblich beteiligt, indem sie Zytokine spalten, wodurch die Immunreaktion des Wirtes herunterreguliert und die Entzündungsantwort abgeschwächt wird (Guo et al., 2010). *T. forsythia* synthetisiert eine Protease, die in der Lage ist, Bindegewebe abzubauen und LL-37, ein antimikrobielles Peptid, zu spalten (Koziel et al., 2010). Ein weiterer Weg der Etablierung der bakteriellen Besiedlung erfolgt über den grünen Komplex, wobei *A. actinomycetemcomitans* als Leitkeim mit höchster Pathogenität gilt. *A. actinomycetemcomitans* ist in der Lage Leukotoxine zu exprimieren, die bei Zellen der Immunabwehr zur Porenbildung und dadurch zur Zelllyse führen (Henderson and Poole, 1996). Irshad et al. konnten 2012 zeigen, dass *P.*

gingivalis und *A. actinomycetemcomitans* in gingivale Fibroblasten eindringen und somit der Wirkung von Antibiotika entgehen können (Irshad et al., 2012).

1.2.3 Pathogenese der Parodontitis

Mit dem Modell des „critical pathway“ versucht man der Komplexität der Entstehung der Parodontitis gerecht zu werden. Die primär krankheitsinduzierende Ursache stellt in diesem Modell die mangelhafte Mundhygiene mit Ausbildung der Plaque dar. Bevor das Immunsystem jedoch die Abwehr der parodontopathogenen Bakterien übernehmen muss, setzt der Körper dem Eindringen der Keime einen natürlichen Abwehrverbund entgegen. Die Anatomie der Gingiva spielt in der mechanischen Abwehr eine wichtige Rolle: das mehrschichtig verhornte Gingivaepithel sowie das unverhornte, sich ständig erneuernde Saumepithel stellen die Migrationsbarriere für Keime jeglicher Art dar. Auch die sich im Speichel befindlichen Stoffe wie Immunglobulin A (IgA), Lysozym und Lactoferrin wirken antimikrobiell und der von der Tasche auswärtsgerichtete Strom der Sulkusflüssigkeit soll das Parodont vor dem Eindringen der Bakterien schützen. Wenn diese mechanisch-biologischen Abwehrmechanismen nicht greifen, erfolgt die Umwandlung der bestehenden Bakterienflora in Form einer opportunistischen Infektion in eine parodontopathogene Mikroflora (Salvi et al., 1997).

Die initiale Läsion (Gingivitis) entsteht bereits nach 4 Tagen ungestörter Plaqueakkumulation. Die sich am Sulkus befindlichen parodontopathogenen Bakterien stimulieren die Freisetzung von Entzündungsmediatoren und Enzymen, sodass das Epithel geschädigt wird. Die Toxine der Bakterien können nun aufgrund der erhöhten Durchlässigkeit in tiefere Schichten des Epithels vordringen. Im subepithelialen Bindegewebe beginnt die erste Phase, die unspezifische Immunabwehr, durch die Aktivierung von neutrophilen Granulozyten (PMNs) und des Komplementsystems (Hajishengallis, 2011). Das Komplementsystem stimuliert Mastzellen zur Synthese von vasoaktiven Aminen. Diese führen zur Ödembildung, da sie die Gefäßpermeabilität steigern. Die PMNs dienen der Phagozytose und Eliminierung parodontopathogner Bakterien. Sie setzen außerdem Entzündungsmediatoren wie Leukotriene und Prostaglandine frei. Die Effektivität dieser ersten Phase der Immunabwehr ist entscheidend für den weiteren Verlauf der Erkrankung. Gelingt es dem Immunsystem die bakterielle Besiedlung und Vermehrung einzudämmen, beschränkt sich die Entzündung auf die marginale Gingiva (Gingivitis). Misslingt die Abwehr durch die neutrophilen Granulozyten jedoch, werden die Abwehrmechanismen der zweiten Phase aktiv, die eine Gewebszerstörung zur Folge haben. Vor allem Monozyten bzw. Makrophagen des retikuloendothelialen Systems (RES) und Lymphozyten steuern die Geschehnisse der zweiten Phase der Immunabwehr maßgeblich. Die aus B-Lymphozyten entstehenden Plasmazellen produzieren Antikörper gegen die parodontopathogenen Bakterien.

Dadurch werden die neutrophilen Granulozyten unterstützt und die Phagozytose gesteigert (Ebersole et al., 1993; Lamster and Grbic, 1995). Auch aktivierte Makrophagen und Monozyten sezernieren Zytokine wie Interleukin 1β (IL-1β) und Tumornekrosefaktor α (TNFα), die die Abbauprozesse im Parodont fördern, sowie Prostaglandine, die indirekt durch die Aktivierung mehrkerniger Osteoklasten und durch die Hemmung von Osteoblasten die Gewebehomöostase in Richtung Knochenabbau verschieben (Page and Kornman, 1997). Das Ausmaß der Aktivierung der Makrophagen steht dabei im direkten Zusammenhang mit dem Ausmaß des Angriffs der parodontopathogenen Bakterien: die Gewebszerstörung nimmt mit steigender Anwesenheit von Bakterien und bakteriellen Toxinen zu. Auch Matrixmetalloproteasen (MMPs), die u.a. von neutrophilen Granulozyten gebildet werden, greifen die extrazelluläre Matrix an und tragen durch Kollagenabbau zur Destruktion des parodontalen Gewebes erheblich bei (Hannas et al., 2007). Die Knochenresorption wird durch die gesteigerte Synthese von RANK (Receptor Activator of Nuclear factor Kappa B) initiiert. RANKL (Receptor Activator of Nuclear factor Kappa B Ligand) fördert durch Bindung an seinen spezifischen Rezeptor auf Präosteoklasten deren Aktivierung und Differenzierung zu Osteoklasten. Proinflammatorische Zytokine verstärken die Sezernierung von RANKL und führen somit zu einem erhöhten Knochenabbau (Cochran, 2008).

Im Zuge der Entzündungsreaktion kommt es ohne therapeutische Gegenmaßnahmen zur Vertiefung des gingivalen Sulkus sowie zum stetigen Abbau von Bindegewebe und Knochen bis hin zur Wurzelspitze des betroffenen Zahnes. Konsequenzen der Gewebszerstörung mit Attachmentverlust sind folglich Zahnlockerung und Zahnverlust (Abb. 3).

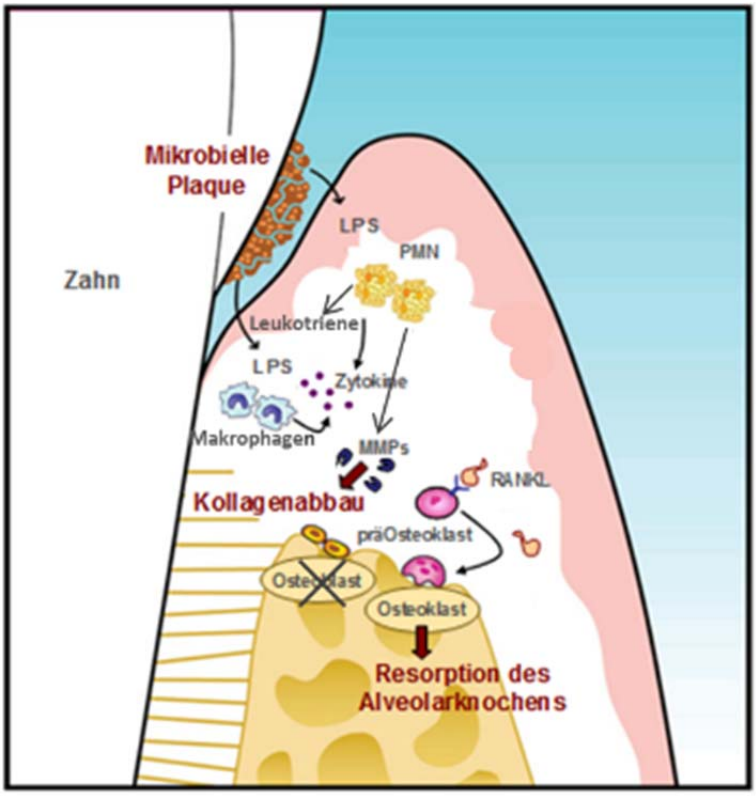

Abb. 3: Schematische Darstellung der zellulären und molekularen Prozesse der Parodontitis-Pathogenese.
LPS: bakterielle Lipopolysaccharide; PMNs: polymorphkernige neutrophile Granulozyten; MMPs: Matrixmetalloproteasen; RANKL: Receptor Activator of Nuclear factor Kappa B Ligan
(adaptiert nach
http://www.dimensionsofdentalhygiene.com/ddhright.aspx?id=4466)

1.2.4 Risikofaktoren der Parodontitis

Die Parodontitis wird neben der bakteriellen Besiedlung auch von endogenen, exogenen und genetischen Komponenten beeinflusst (Page and Kornman, 1997). Prävalenz, Schweregrad und Progression der Parodontitis sind mit dem Diabetes mellitus assoziiert. Es ist bekannt, dass ein schlecht eingestellter Diabetes mellitus (Typ I und Typ II) aufgrund der abgeschwächten Abwehrlage und der Mikroangiopathien im parodontalen Gewebe Einfluss auf die Ausbildung einer Gingivitis bzw. Parodontitis nehmen kann (Albandar, 2002). Durch eine Hyperglykämie kommt es zu einer gesteigerten Bildung von advanced glycation endproducts (AGEs), welche an Rezeptoren (RAGE) von Entzündungszellen binden und somit zur vermehrten Ausschüttung von Zytokinen und MMPs beitragen (Dukic-Stefanovic et al., 2003), die den inflammatorischen Prozess begünstigen. Des Weiteren führen AGEs zur vermehrten Apoptose von Osteoblasten und Fibroblasten, was wiederum den weiteren Abbau des parodontalen Gewebes fördert (Graves et al., , 2007). Die gesteigerte Freisetzung von Adipokinen bei Diabetes mellitus könnte ebenfalls zur Progression einer Parodontitis führen, da sie für die Erkrankung wichtige immu-

nologische Vorgänge beeinflussen. Adipokine regen T-Lymphozyten und Monozyten zur Bildung von Zytokinen an. Durch Stimulation von Adipokinen produzieren endotheliale Zellen vermehrt Adhäsionsmoleküle (Preshaw et al., 2007). Der Nikotinabusus wird als entscheidender Risikofaktor in der Pathogenese der Parodontitis angesehen (Salvi et al., 1997). Durch Tabakrauch entstehen vermehrt Plaqueanlagerungen in den Gefäßen, die eine veränderte Gefäßmorphologie zu Folge haben, wodurch die Durchblutung bei Rauchern eingeschränkt wird. Auch die lokalen Abwehrmechanismen sind bei Rauchern beeinträchtigt, zum einem gelangen durch den eingeschränkten Blutfluss weniger Abwehrzellen in das Parodont, zum anderen kommt es bei Rauchern vor allem zu einer Depression von IgG2. Damit erhöht sich das Risiko zur Progression einer parodontalen Erkrankung bei Rauchern um das 5fache (Palmer et al., 2005). Auch Bluterkrankungen wie Leukämie können durch die Reifungsstörung der Leukozyten und die damit einhergehende Verdrängung normaler Blutzellen Einfluss auf den Schweregrad einer Parodontitis nehmen. Durch den Thrombozytenmangel haben Leukämie-Patienten eine erhöhte Blutungsneigung und sind wegen der geschwächten Abwehr anfälliger für Infektionen (Arowojolu et al., 2002). Mehrere Studien konnten die Assoziation zwischen Parodontitis und Osteoporose belegen. So weisen Patienten mit Osteoporose einen höheren Attachmentverlust auf als Patienten ohne diese Erkrankung (Inagaki et al., 2007; Baldi et al., 2009). Wie multifaktoriell die Beeinflussung der Parodontitis ist, zeigen die nachfolgenden Faktoren: immunsuppressive Medikamente, ethnische und sozioökonomische Zugehörigkeiten sowie Ernährungsverhalten (Zuckerkonsum) üben einen Einfluss auf die parodontale Gesundheit aus (Salvi et al., 1997). Rozlog et al. konnten 1999 die Auswirkungen von Depressionen und emotionalen Stress auf die Parodontitisentstehung nachweisen: durch das Ausfallen von komplexen Verknüpfungen auf neuronaler Ebene und durch Unterbrechungen des Hormonsystems kommt es zu einer Unterdrückung der Immunabwehr und folglich zu einer gesteigerten Anfälligkeit für Infektionen (Rozlog et al., 1999).

1.2.5 Einfluss der Genetik auf die Parodontitis

Das wirtseigene Abwehrsystem trägt maßgeblich zum Schweregrad der Parodontitis bei, sodass individuelle genetische Variationen des Systems die Progression der Krankheit beeinflussen können. Prinzipiell besteht ein Unterschied zwischen aggressiver und chronischer Parodontitis: die aggressive Parodontitis ist gekennzeichnet durch einen meist frühen Beginn und schnellen Attachmentverlust. Man nimmt an, dass im Vergleich zur chronischen Parodontitis Umwelteinflüsse weniger Einfluss auf die Pathogenese der Erkrankung haben. Genetische Risikofaktoren können hingegen eine größere Rolle für den Krankheitsverlauf spielen. Die chronische Parodontitis beginnt in der Regel erst im Erwachsenenalter und ver-

läuft langsam, sodass exogene Faktoren im Vergleich zu genetischen Faktoren bedeutsamer in der Pathogenese sein dürften. Trotzdem werden bei der chronischen Form der Parodontitis genetische Einflüsse durch die Untersuchung in Zwillingsstudien nicht ausgeschlossen (Yoshie et al., 2007).

Schon 1991 zeigte Michalowicz in einer Studie, dass die genetische Prädisposition einen Einfluss auf den Schweregrad der Parodontitis hat. Sie untersuchten bei homozygoten und dizygoten Zwillingspaaren den genetischen Einfluss auf die Ausprägung einer adulten Parodontitis. Hinsichtlich der untersuchten Parameter (Sondiertiefe und Attachmentverlust) zeigten monozygote Zwillinge parodontal ähnlichere Ergebnisse als dizygote Zwillinge, was auf die Existenz genetischer Risikofaktoren hindeutet (Michalowicz et al., 1991).

Andere Studien zeigten außerdem, dass die körpereigene Immunreaktion auf die bakterielle Besiedlung der entscheidende Faktor in der Pathogenese der Parodontitis ist. Die individuellen Unterschiede in der Ausprägung einer Parodontitis werden durch genetische Varianten in Genen von proinflammatorischen Zytokinen und Genen, die für Bindegewebsstrukturen kodieren, beeinflusst. Die am häufigsten untersuchten Polymorphismen, die eine Assoziation zur Progression der Parodontitis aufweisen, befinden sich dabei in Genen, die für IL-1, IL-6 und TNF-α kodieren (Kinane et al., 2005; Yoshie et al., 2007).

2010 konnten Laine et al. in ihrer Meta-Analyse nachweisen, dass die Genetik 50 % des Risikos an einer Parodontitis zu erkranken einnimmt (Laine et al., 2010).

1.3 Koronare Herzerkrankung

1.3.1 Definition und Ätiologie

Die koronare Herzerkrankung ist eine Erkrankung der Herzkranzgefäße, deren Ursache in der atherosklerotischen Veränderung dieser Gefäße zu finden ist. Hierbei bedingen Ablagerungen in den Gefäßwänden zunächst eine Versteifung und führen über eine Verminderung des Gefäßlumens zu einer Stenose der Gefäße. Folglich entsteht ein Missverhältnis zwischen Sauerstoffangebot und Sauerstoffbedarf des Herzmuskels. Alle Erkrankungen, bei denen es zu vorübergehenden oder bleibenden Durchblutungsstörungen in den Herzkranzgefäßen kommt, werden ebenfalls unter dem Begriff der koronaren Herzerkrankung zusammengefasst. Der Myokardinfarkt ist die schwerste Komplikation der KHK und zählt zu den Haupttodesursachen in den Industriestaaten (Tunstall-Pedoe et al., 1994).

Für das Auftreten der KHK und weiterer Herz-Kreislauferkrankungen sind viele Faktoren verantwortlich (Tab. 1). Die beiden häufigsten Ursachen für die kardiovaskuläre Mortalität sind die chronische Herzinsuffizienz sowie Bluthochdruck. Zu den Risikofaktoren, die für die Mani-

festation der Erkrankung wichtig sind, gehören endotheliale Dysfunktionen, Lipidstoffwechselstörungen, Diabetes mellitus, Nikotinabusus und genetische Faktoren (Drexler and Hornig, 1999). Um Patienten mit erhöhtem KHK-Risiko zu identifizieren, wurde mittels der Framingham-Studie eine Einteilung der Risikofaktoren entwickelt: durch die Beeinflussung der Risikofaktoren könnte die Inzidenz zukünftiger koronarer Ereignisse reduziert werden (Fowler und Christakis, 2008).

Tab. 1: Risikofaktoren der KHK nach Fowler und Christakis (2008)

Beeinflussbare Risikofaktoren		**Unbeeinflussbare Risikofaktoren**
1. Ordnung	2. Ordnung	
Diabetes mellitus	Adipositas	Familiäre Disposition
Nikotinabusus	Bewegungsmangel	Lebensalter
Hypercholesterinämie	Stress	Männliches Geschlecht
Hypertonie	Hyperurikämie	

Wenn das Endothel des Gefäßes jedoch in seiner Funktion eingeschränkt ist, steigt das Risiko an Arteriosklerose bzw. Herzkreislauferkrankungen zu erkranken. Die endotheliale Dysfunktion ist demnach von entscheidender Bedeutung: Patienten mit geschädigtem Endothel und den erwähnten Risikofaktoren für Arteriosklerose wie Hypertonie, Diabetes mellitus und genetischer Disposition erleiden häufiger einen Apoplex oder Myokardinfarkt als diejenigen Patienten, die ein intaktes Endothel bei gleichen Risikofaktoren vorweisen können (Schächinger et al., 2000). Trotzdem erklären die traditionellen Risikofaktoren nur zwei Drittel der KHK-Fälle (Roberts, 2008), sodass die genetische Disposition anscheinend einen erheblichen Einfluss hat. Ähnlich der Parodontitis wird ihr Anteil auf 50 % geschätzt. Luisis et. al haben 2004 bei Experimenten an Mäusen über 100 potentielle Gene identifiziert, die zur Ausbildung einer Arteriosklerose assoziiert waren. Auch 2012 wurden in einer Studie 33 genetische Varianten gefunden, die das Risiko an einer KHK zu erkranken, erhöhen. Dabei wirkten lediglich 10 Varianten über die bekannten Mechanismen der Hypertonie und Lipidregulation. Der Großteil der Genvarianten führte über noch unbekannte Wege zu einem gesteigerten KHK-Risiko (Roberts and Stewart, 2012).

1.3.2 Pathogenese der KHK

Die vaskuläre Entzündung ist entscheidend für die Pathogenese der koronaren Herzerkrankung. Die inflammatorischen Prozesse tragen zur Entstehung und Manifestation von atherosklerotischen Plaques bei. Die Einlagerung von Lipiden und fibrinösen Strukturen unterstützen die Gefäßschädigung zunehmend. Die ersten Anzeichen der atheroskleroticschen Plaques, die Ausbildung der sogenannten „fatty streaks“, sind hinsichtlich ihrer Entstehung nicht vollständig verstanden. Die verstärkte Expression von endothelialen Zelladhäsionsmolekülen in der Gefäßwand könnte dabei von Bedeutung sein. Durch die Einengung des Gefäßlumens fließt das Blut

nicht mehr laminar sondern turbulent. Diese veränderte Blutzirkulation führt zu Scherkräften, die einen Einfluss auf die Gefäßmorphologie haben (Tardy et al., 1997), wodurch nun eine erhöhte Durchlässigkeit der Gefäßwand für Lipoproteine entsteht (Lusis, 2000). Diese oxidierten Lipoproteine steigern die Expression von Zelladhäsionsmolekülen wie VCAM-1 (*vascular cell adhesion molekule 1*), welche die Migration von Monozyten und T-Lymphozyten ermöglichen. Die Monozyten differenzieren sich zu Makrophagen und nehmen über „Scavenger" Rezeptoren die oxidierten Lipoproteine auf, die als Cholesterinesther gespeichert werden (Hiltunen and Ylä-Herttuala, 1998). Dieser Vorgang dient zunächst der Eliminierung der oxidierten Lipoproteine, mit zunehmender Anzahl begünstigt er schließlich die Bildung der Schaumzellen. Die proinflammatorischen Zytokine TNF-α, Interleukin 1 und Interleukin 6 werden durch die T-Zellen vermittelt exprimiert und begünstigen den Verlauf des entzündlichen Prozesses. Dieser äußert sich durch die Störung der Kollagensynthese sowie durch die Proliferation und Infiltration glatter Muskelzellen und Fibroblasten in das Gefäßlumen, wodurch es verengt wird. Die Stabilität der atherosklerotischen Plaques wird durch die von Makrophagen und T-Zellen ausgeschütteten Wachstumsfaktoren und Zytokinen vermindert. Da sie u.a. eine prothrombotische Wirkung entfalten, fördern sie direkt die Koagulation des Blutes und die Thrombusbildung (Glass and Witztum, 2001). Daraus lässt sich schlussfolgern, dass entzündliche Prozesse die Entstehung und Manifestation der koronaren Herzerkrankung beeinflussen.

1.4 Parodontitis und Koronare Herzerkrankung

1.4.1 Assoziationsstudien zwischen Parodontitis und KHK

Parodontitis und KHK sind Erkrankungen multifaktorieller Genese und können einen chronischen Verlauf einnehmen. In den letzten Jahren ergaben diverse Studien, dass beide Krankheitsbilder miteinander assoziiert sind. Mittelpunkt der Forschung ist dabei die Frage nach der Verknüpfung, den gemeinsamen Schnittstellen, beider Erkrankungen. Fördert also das Vorkommen einer Parodontitis direkt die Entstehung einer Arteriosklerose mit nachfolgenden Erkrankungen wie KHK und Schlaganfall oder teilen beide Erkrankungen nur gemeinsame Risikofaktoren?

Schon 1989 zeigte eine Fall-Kontroll-Studie den Zusammenhang zwischen Mundgesundheit und akutem Myokardinfarkt: Patienten mit akutem Myokardinfarkt wiesen einen signifikant schlechteren Dentalindex (Parodontitis, Karies, periapikale Läsionen) auf als Probanden der kardial-gesunden Kontrollgruppe (Mattila et al., 1989).

Khadar et al. konnten 2004 in ihrer Meta-Analyse zeigen, dass Probanden mit einer Parodontitis ein 15 % signifikant höheres Risiko für KHK hatten als Probanden ohne Parodontitis. Auch

die Gruppe um Bahekar bestätigte 2007, dass die Prävalenz und Inzidenz der KHK bei Parodontitis-Patienten erhöht sind (Khader et al., 2004).

2009 gelang dann in einer Kandidatengen-Studie der Nachweis, dass sowohl die KHK als auch die aggressive Parodontitis zu Polymorphismen im ANRIL-Gen assoziiert sind (Schäfer et al., 2009).

Scheinbar ist die Assoziation zwischen Parodontitis und kardiovaskulären Erkrankungen auch alters- und geschlechtsabhängig. Bei Männern konnte ein stärkerer Zusammenhang zwischen Parodontitis und KHK beobachtet werden als bei Frauen (Grau et al., 2004). Männer unter 60 Jahren zeigten eine signifikante Assoziation zwischen kardiovaskulären und parodontalen Erkrankungen. Bei Männern über 60 Jahre konnte dagegen kein signifikanter Zusammenhang festgestellt werden (Dietrich et al., 2008).

2014 bestätigte sich in der Nagahama-Studie bei 8124 Japanern zwischen dem 30. und 75. Lebensjahr ein signifikanter Zusammenhang zwischen Zahnverlust durch Parodontitis und dem Grad der arteriellen Steifigkeit, einem Zeichen der Arteriosklerose (Asai et al., 2014).

1.4.2 Biologische Plausibilität des Zusammenhangs zwischen Parodontitis und KHK

Da die Parodontitis als Risikofaktor für die koronare Herzerkrankung gilt, muss es Mechanismen geben, wie die Infektion des Zahnhalteapparates atherosklerotische Veränderungen beeinflussen kann. Schon 1998 erläuterte Page in einer Veröffentlichung wie die Parodontitis systemische Erkrankungen bedingt: über gemeinsame Risikofaktoren (Nikotinabusus, Stress, Alter), über den als Reservoir für gramnegative Bakterien fungierenden subgingivalen Biofilm sowie über die Ausschüttung von inflammatorischen Stoffen durch den Entzündungsprozess im Parodont (Abb. 4). Bis heute jedoch ist kein direkter, kausaler Zusammenhang zwischen den beiden Krankheiten belegt worden.

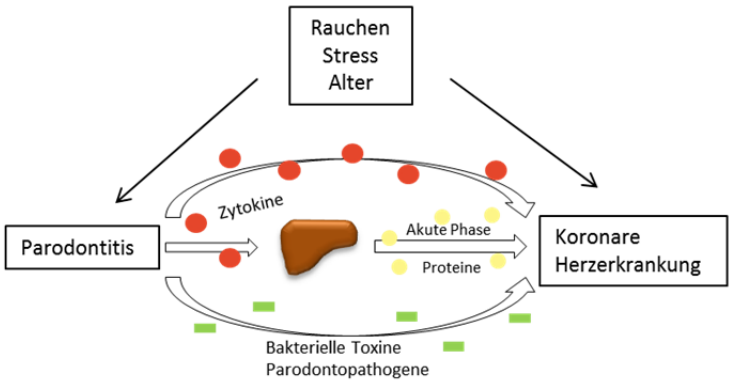

Abb. 4: Schematische Darstellung des Zusammenhangs zwischen Parodontitis und KHK

Die Parodontitis führt zu einer Bakteriämie und damit zu einer systemischen Belastung vor allem mit gramnegativen Bakterien (Friedewald et al., 2009). In einer parodontal geschädigten Tasche befinden sich 10^8 bis 10^{12} gram-negative Bakterien, deren Endotoxine schon beim normalen Kauen ausschwemmen und in die Blutbahn gelangen und damit Kontakt zu atherosklerotisch veränderten Arealen aufnehmen können. Die Bakterienlast ist dabei abhängig vom Schweregrad der Parodontitis (Geerts et al., 2002). Das Vorkommen von DNA oraler Bakterien in atherosklerotischen Plaques wurde bereits nachgewiesen. *A. actinomyctemcomitans* und *P. gingivalis* konnten darüber hinaus aus den subgingivalen Biofilmen und den atherosklerotischen Plaques isoliert und kultiviert werden (Ohki et al., 2012). Ob es einen kausalen Zusammenhang zwischen dem Vorhandensein der Bakterien und der Entstehung der Arteriosklerose gibt, ist nicht bewiesen. Allerdings wurde in einer *in vitro*-Studie gezeigt, dass *P. gingivalis* in der Lage ist, die Schaumzellbildung zu triggern, indem es die Aufnahme von LDL durch Makrophagen induziert. Damit zählt *P. gingivalis* zu den Auslösern von atherosklerotischen Prozessen (Giacona et al., 2004; Roth et al., 2006). Andere *in vitro*-Untersuchungen belegen, dass sich *P. gingivalis* aktiv in Herzendothelzellen einlagert und dort persistiert (Deshpande et al., 1998). Diese Erkenntnis lässt darauf schließen, dass *P. gingivalis* zu einer endothelialen Dysfunktion beitragen kann. Weiterhin können parodontopathogene Bakterien einen Einfluss auf die Blutgerinnung nehmen, indem sie die Thrombozyten aktivieren, die ihrerseits wieder zur Thrombusbildung führen und somit zur Pathogenese atherosklerotisch-veränderter Gefäßwände beitragen (Kerrigan, 2015). Des Weiteren können atherosklerotische Prozesse auch durch Autoimmunreaktionen hervorgerufen werden. Wenn Antikörper, die gegen bakterielle Lipopolysaccharide gerichtet sind, mit körpereigenen, endothelialen Komponenten wie Hitzeschockproteine kreuzreagieren, dann sind orale Bakterien in der Lage, als Bindeglied zwischen parodontopathogenen Erkrankungen und kardiovaskulären Erkrankungen zu fungieren und atherosklerotische Prozesse zu verstärken (Loesche and Lopatin, 1998; Ford et al., 2005).

Ein weiterer Aspekt der gegenseitigen Beeinflussung der Parodontitis und der koronaren Herzerkrankung ist die Entzündung. Bei beiden Erkrankungen spielen inflammatorische Prozesse eine entscheidende Rolle bei der Manifestation und Progression der Erkrankung. Es wird vermutet, dass Entzündungsmediatoren, die im Verlauf einer Parodontitis exprimiert werden, sich auf das Fortschreiten anderer entzündlicher Erkrankungen auswirken. In einer Vielzahl von Untersuchungen konnte gezeigt werden, dass Patienten mit einer schweren Form der Parodontitis erhöhte Spiegel systemischer Entzündungsmarker (Interleukin 6, TNF-α, CRP) aufweisen und dass das Risiko für kardiovaskuläre Ereignisse damit assoziiert ist (Ridker et al., 2000; Ridker et al., 2002). In einer aktuellen Studie wurde ein Zusammenhang zwischen der Parodon-

titis und der KHK über das Fibrinogen hergestellt. Es wurde gezeigt, dass die Fibrinogen-Spiegel bei Parodontitis-Patienten im Vergleich zu Probanden ohne Parodontitis erhöht sind (Chandy et al., 2017). Durch höhere Fibrinogen-Level wird das Gerinnungssystem aktiviert: Fibrinogen steht dabei an erster Stelle der Gerinnungskaskade. Durch die in Folge einer endothelialen Dysfunktion geschädigten Gefäßwände führt Fibrinogen zur Bildung eines Thrombus, der letztlich zu einem Verschluss des betroffenen Gefäßes führen kann.

Auch eine Meta-Analyse von 2007 beschäftigte sich mit der Assoziation von Antikörpertitern bzw. Konzentrationen von Entzündungsmediatoren zum KHK-Risiko. Dabei zeigte sich, dass Parodontitis-Patienten mit erhöhten Spiegeln für Entzündungsmarker wie CRP ein 75 % höheres KHK-Risiko besitzen als Vergleichsprobanden ohne Parodontitis. Demzufolge wären solche Antikörpertiter, die gegen parodontopathogene Bakterien gerichtet sind, bzw. die Spiegel von Entzündungsmarkern besser als klinische Parameter (Attachmentverlust, Sondiertiefen) geeignet, um eine Assoziation zwischen kardiovaskulären und parodontalen Erkrankungen einzuschätzen (Mustapha et al., 2007).

1.5 C-reaktives Protein (CRP)

1.5.1 Struktur und Funktion

Das Capsel-reaktive-Protein (CRP) wurde erstmalig 1930 von William Tillet und Thomas Francis als eine Substanz beschrieben, die sich im Serum von Patienten mit akuten Entzündungen findet. Es verdankt seinen Namen der Fähigkeit mit dem C-Polysaccharid von *Streptococcus pneumoniae* zu reagieren. Primär findet die CRP-Produktion, angeregt durch Interleukin 6, in der Leber statt. Neuere Daten deuten jedoch daraufhin, dass CRP auch an anderen Orten wie in der Niere, in Neuronen, im Alveolarknochen und interessanterweise auch in Makrophagen und glatten Muskelzellen der Koronararterien gebildet wird (Bassuk et al., 2004). Schon 1996 fanden Dong und Wright heraus, dass die Spiegel von CRP-messenger-Ribonukleinsäure (mRNA) in atherosklerotisch veränderten Gefäßen 7-10 mal höher sind als Spiegel, die in der Leber oder in intakten Blutgefäßen gefunden werden (Dong und Wright, 1996). Auch die Gruppe um Yasojima konnten 2001 die CRP-Produktion in atherosklerotischen Plaques aufzeigen (Yasojima et al., 2001).

Das C-reaktive Protein ist ein Pentamer bestehend aus 23 Kilodalton (kD)-Untereinheiten, die zu einem Ring zusammengelagert sind. Es gehört zur Pentraxin-Familie der Proteine des erworbenen Immunsystems. Als klassisches Akute-Phase-Protein stellt es einen hochsensitiven Inflammationsmarker dar. Auf einen inflammatorischen Stimulus wie einer Infektion oder einer akuten Verletzung steigt der CRP-Spiegel innerhalb von 24-48 Stunden um das 1000-fache

an (Gabay and Kushner, 1999). Die CRP-Plasmakonzentration ist einzig abhängig von seiner Syntheserate, da die CRP-Halbwertszeit mit vier bis sechs Stunden sehr kurz und unter allen Bedingungen identisch ist.

Da CRP eine Calcium-abhängige Bindungsspezifität für Phosphocholin besitzt, welches ein Bestandteil bakterieller Polysaccharide und biologischer Membranen ist, ist die biologische Hauptfunktion des CRP naheliegend: sie liegt in der Abwehr bakterieller Pathogene sowie der Beseitigung nekrotischer und durch Apoptose zugrunde gegangener Zellen (Volanakis, 2001). Gebundenes CRP wird von C1q des Komplementsystems erkannt und kann somit den klassischen Weg des Komplementsystems aktivieren.

1.5.2 CRP und Parodontitis

Zahlreiche Studien zeigen einen Zusammenhang zwischen erhöhten CRP-Serumwerten und dem Vorkommen einer Parodontitis.

Die Querschnittsstudie von Slade et al. untersuchte den Zusammenhang zwischen Parodontitis, CRP-Werten und den bekannten CRP-erhöhenden Risikofaktoren. Personen mit stark ausgeprägter Parodontitis wiesen durchschnittlich 1/3 höhere CRP-Konzentrationen auf als diejenigen Patienten mit gesunden oder nur geringfügig betroffenen parodontalen Strukturen. Es konnte gezeigt werden, dass die Parodontitis in einem direkten Zusammenhang zu einer gesteigerten CRP-Entzündungsantwort steht (Slade et al., 2003).

2008 wurde eine Studie von Pitiphat et al. veröffentlicht, deren Ziel es war, den Zusammenhang zwischen chronischer Parodontitis unter Einbeziehung von *P. gingivalis* und dem CRP-Spiegel im Serum allgemein gesunder Thailänder zu prüfen. Es zeigte sich, dass der CRP-Wert positiv mit den bekannten Parodontitisparametern (Attachmentverlust, BOP) sowie der Prozent-Häufigkeit der mit *P. gingivalis* infizierten Taschen assoziiert ist. Pitiphat et al. zeigten zudem in einer multivariaten linearen Regressionsanalyse, dass eine positive Assoziation zwischen der Parodontitis und erhöhten CRP-Konzentrationen besteht (Pitiphat et al., 2008).

Auch eine Studie aus dem Iran im Jahr 2015 wies die Assoziation zwischen CRP-Level und der Progression einer Parodontitis bei Atherosklerose-Patienten nach. Patienten mit höheren CRP-Werten hatten auch signifikant erhöhte Sondiertiefen sowie gesteigerten Attachmentverlust als Patienten mit niedrigem CRP-Spiegel (Etemadifar et al., 2015).

1.5.3 CRP und atherosklerotische Prozesse

Wie bereits erwähnt, bindet CRP an Plasmamembranen geschädigter Zellen und aktiviert über den klassischen Weg das Komplementsystem. Durch die Bindung des CRPs an den Komplementrezeptoren glatter Muskelzellen (VSMC) kann CRP die Akkumulation der Bakterien in Gefäßen verstärken. Buono et al. zeigten in einer Tierstudie, dass die Aktivierung von Komplement möglicherweise eine entscheidende Rolle bei der Plaqueprogression darstellt und CRP somit an der Entstehung der Arteriosklerose beteiligt sein könnte (Buono et al., 2002). Auf monozytärer Ebene induziert CRP die Produktion inflammatorischer Zytokine und führt zu einer erhöhten Expression des tissue-factors (Gewebethromboplastin) und fördert so die Thrombusbildung. Des Weiteren regt CRP die zelluläre Aufnahme von oxidiertem LDL an und führt zu einer erhöhten Chemotaxis der Immunzellen (Libby, 2001). An Endothelzellen vermindert CRP die Aktivität von endothelialer Stickstoffmonoxid-Synthase (eNOS) und Prostacyclin, gleichzeitig steigert es die Expression von Adhäsionsmolekülen wie VCAM1 und E-Selektin. Aufgrund dieser Wirkung des CRPs an den Gefäßzellen kann die Entstehung atherosklerotischer Prozesse begünstigt werden (Szalai et al., 1997). CRP steigert außerdem die Proliferation und Migration von vaskulären glatten Muskelzellen (VSMCs) und die Produktion von Matrixproteinen in der Intima. VSMCs triggern die Entzündung in subendothelialen Bereichen (Mazer and Rabbani, 2004). In klinischen Untersuchungen konnte durch einen akuten Entzündungsprozess eine endotheliale Dysfunktion induziert und eine Assoziation zwischen erhöhtem CRP-Level und Gefäßschädigungen ermittelt werden (Fichtlscherer and Zeiher, 2000). Somit ist das CRP ein aktiver Mediator der Gewebsschädigung und ist damit mehr als nur ein Entzündungsmarker (Abb. 5).

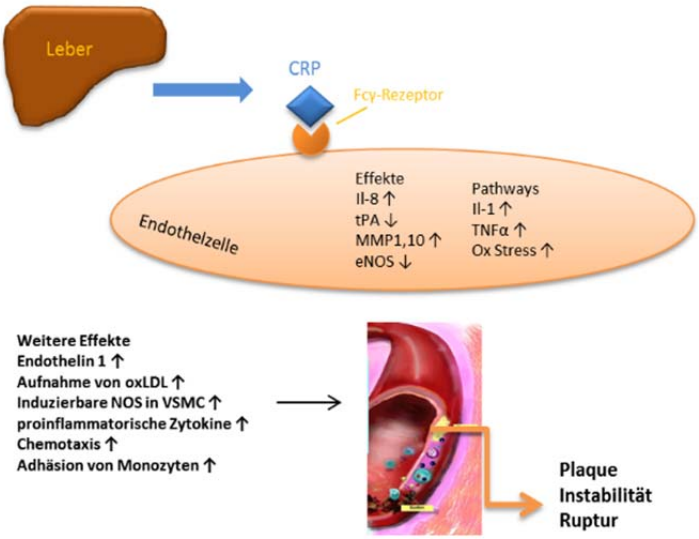

Abb. 5: Einfluss des C-reaktiven Proteins als Mediator.
CRP: C-reaktive Protein; Il: Interleukin; tPA: tissue plasminogen activator; TNFα: Tumornekrosefaktor α; MMPs: Matrixmetalloproteasen; eNOS: endotheliale Stickstoffmonoxid-Synthase; oxLDL: oxidiertes low density Lipoprotein; VSMC: vaskuläre glatte Muskelzellen

1.5.4 Bedeutung des CRPs als diagnostischer Marker

In mehreren epidemiologischen Langzeitstudien, bei denen vorwiegend kardiale Ereignisse untersucht wurden, konnte zwischen erhöhten CRP-Spiegeln im Blut und gesteigertem kardiovaskulären Risiko ein Zusammenhang gefunden werden. Die Hälfte aller Myokardinfarkte zeigt sich bei Patienten, bei denen keine Dyslipoproteinämie diagnostiziert wurde. Auch viele zuvor scheinbar gesunde Patienten versterben an der Primärsymptomatik kardialer Ereignisse (Bassuk et al., 2004). Deswegen ist es sinnvoll auf andere, nicht offensichtliche Risikomarker wie das CRP zurückzugreifen. CRP gilt bei der WHO als zuverlässigster inflammatorischer Marker im klinischen Gebrauch (Libby and Ridker, 1999).

In einer von Ridker 2000 veröffentlichten Studie wurden 28263 gesunde, postmenopausale Frauen hinsichtlich des kardiovaskulären Risikos untersucht. Das Überleben ohne kardiovaskuläres Ereignis war bei Patientinnen mit hohem LDL und niedrigem CRP signifikant besser als bei Patientinnen mit niedrigem LDL und hohem CRP. Zur Abschätzung des kardiovaskulären Risikos ist es demnach sinnvoll, bei der LDL-Messung auch das CRP als diagnostischen Marker mit heranzuziehen (Ridker et al. , 2000).

Danesh et. al fassten 2000 ebenfalls die Ergebnisse von Langzeitstudien in einer Metaanalyse zusammen. Dabei fanden sie heraus, dass Probanden, deren CRP-Konzentration sich im oberen Tertil der Verteilung (> 3 mg/l) befand, ein doppelt so hohes Risiko für ein zukünftiges kardiovaskuläres Ereignis (tödlicher und nicht-tödlicher Myokardinfarkt) hatten als Probanden, de-

ren CRP-Konzentration im unteren Drittel (< 1mmg/l) lag. Demzufolge kann ein erhöhter CRP-Spiegel prognostisch für das Auftreten eines akuten Myokardinfarktes relevant sein (Danesh et al., 2000).

In einer weiteren, sehr umfangreichen Metaanalyse wurde 2010 analysiert, ob erhöhte CRP-Serumspiegel als unabhängige Risikofaktoren für KHK und Schlaganfall gelten und ob das Risiko für die kardiovaskuläre Mortalität dadurch erhöht wird. Aus 54 prospektiven Verlaufsstudien wurden insgesamt 160309 Patienten auf den Einfluss der CRP-Level sowie der etablierten Risikofaktoren auf die Häufigkeit der kardialen Endpunkte untersucht. Dabei stellte sich heraus, dass die CRP-Konzentration, ähnlich wie die klassischen Risikofaktoren, mit einem höheren kardiovaskulären Risiko assoziiert ist. Mit einer Multivarianzanalyse wurde die Unabhängigkeit des CRP-Spiegels von anderen Risikofaktoren auf kardiale Endpunkte analysiert. Es zeigte sich, dass der Einfluss der CRP-Konzentration auf KHK-Events stratifiziert für traditionelle Risikofaktoren nur sehr gering war. Außerdem waren erhöhte CRP-Serumwerte auch mit nicht-kardiovaskulärem Tod assoziiert. Somit scheint CRP kein spezifischer Risikofaktor für KHK zu sein (Kaptoge et al., 2010).

1.5.5 Polymorphismen im CRP-Gen

Ein Polymorphismus beschreibt das Vorkommen einer oder mehrerer Genvarianten innerhalb einer Population. Man unterscheidet zwischen dem häufigen Einzelnukleotidpolymorphismus (single nucleotide polymorphism – SNP), dem Insertions- und Deletionspolymorphismus sowie Strukturvarianten. Beim SNP erfolgt ein Austausch einer Nukleotidbase im DNA-Molekül. Dies kann Auswirkungen auf die Funktion des daraus resultierenden Proteins haben, sofern sich der Polymorphismus innerhalb einer proteinkodierenden DNA-Sequenz befindet. Liegt der SNP außerhalb der proteinkodierenden Sequenz, beispielsweise im Promoterbereich, wirkt sich dies auf die Aktivität des Gens aus. Dies kann zu Veränderungen in der Transkriptionsregulierung und zur Transkriptionsrate führen.

Zwischen verschiedenen Individuen besteht eine große Variabilität bezüglich des CRP-Spiegels. Da die CRP-Konzentration abhängig von inflammatorischen Reizen ist, liegen die basalen CRP-Spiegel bei gesunden Menschen bei durchschnittlich 0,9 mg/l, im akuten Zustand können jedoch Werte von bis zu 500 mg/l erreicht werden (Lagrand et al., 1999). Welcher basale Ausgangswert bei einem gesunden Menschen ermittelt wird, unterliegt verschiedenen Einflüssen. Eine erhöhte CRP-Konzentration kann durch eine unerkannte Entzündung im Körper hervorgerufen werden oder durch eine genetische Variante im CRP-Gen, wie sie bei einem

Einzelnukleotidpolymorphismus vorliegt. Der genetische Einfluss auf die Konzentration des CRPs im Blut ist Gegenstand zahlreicher Untersuchungen (Tab. 2).

So untersuchten MacGregor et al. 2004 die CRP-Werte von weiblichen Zwillingen. Die CRP-Spiegel der monozygoten Zwillinge zeigten eine höhere Konkordanz als in zweieiigen Zwillingen. Man kann davon ausgehen, dass diese Beobachtung auf Polymorphismen im CRP-Gen bzw. auf Gene, die die Expression des CRP-Gens beeinflussen, zurückzuführen ist (MacGregor et al., 2004).

Zee et al. 2004 prüfte den Einfluss des SNPs rs1800947 auf den CRP-Spiegel sowie auf das Risiko eine arterielle Thrombembolie zu entwickeln. Es konnte der Zusammenhang zwischen dem SNP rs1800947 zum CRP-Level gezeigt werden. 12 % der männlichen Probanden der Studie waren Träger des selteneren C-Allels und besaßen im Gegensatz zu den GG-homozygoten Probanden niedrigere CRP-Konzentrationen im Serum. Die Assoziation des CRP-Polymorphismus rs1800947 zur Thrombembolie konnte hingegen nicht bestätigt werden (Zee et al., 2004).

In den Untersuchungen von Suk et al. 2005 wurde neben dem SNP rs1800947 auch rs1417938 analysiert. Beide Polymorphismen waren auch hier signifikant zur Höhe des CRP-Serumspiegels assoziiert. Probanden, die den Genotyp GG des rs1800947 hatten, wiesen die höchsten CRP-Spiegel auf. Bei dem Polymorphismus rs1417938 wiesen A-Allel-Träger die höchsten Level auf (Suk et al., 2005).

In der Studie von Carlson wurden 2005 mehrere Polymorphismen des CRP-Gens untersucht. Dabei konnten gezeigt werden, dass Probanden, die Träger des SNP rs3091244 waren, niedrigere CRP-Spiegel aufwiesen als Probanden mit dem SNP rs3093058. Sie hatten die höchsten CRP-Level (Carlson et al., 2005). Auch die Gruppe um Kathiresan bestätigte 2006 den Einfluss des Polymorphismus rs30921244 auf den CRP-Serumspiegel (Kathiresan, 2006).

Auch bei Crawford et al. waren die CRP-Polymorphismen und deren Auswirkung auf den CRP-Serumspiegel Gegenstand ihrer Studie. Der SNP rs3093058 besaß hierbei den höchsten CRP-Level. Einen niedrigen Spiegel wies dagegen der Polymorphismen rs1205 auf. Als Besonderheit erwies sich der Polymorphismus rs3091244: dieser konnte bei den 7159 untersuchten Probanden in dieser Studie eine Assoziation zur CRP-Konzentration und zum Arteriosklerose-Risiko zeigen (Crawford et al., 2006).

Tab. 2: Polymorphismen des CRP-Gens und deren Einfluss auf den CRP-Serumspiegel (modifiziert nach Crawford und Kathiresan)

SNP	Genregion	SNP Position	Relative Allelfrequenz	Mit höheren CRP-Spiegeln assoziiertes Allel
rs3093058	Promotor	-757	T > C	T
rs3091244	Promotor	-390	C > T > A	A
rs1417938	Intron	+29	A > T	A
rs1800947	Exon 2	+1059	G > C	G
rs1205	3‘ flanking	+1846	C > T	C

Die aufgeführten CRP-Polymorphismen, für die eine Assoziation zum peripheren CRP-Level nachgewiesen wurde, könnten möglicherweise als Prädikatoren für kardiovaskuläre Ereignisse geeignet sein.

2 Zielstellung

In den letzten Jahren belegten verschiedene Studien, dass es einen biologisch plausiblen Zusammenhang zwischen parodontalen und kardiovaskulären Erkrankungen gibt. Diverse klinische Untersuchungen zeigten dabei die Abhängigkeit der Manifestation und Progression beider Erkrankungen von entzündlichen Prozessen.

Das C-reaktive Protein als Marker der unspezifischen Immunantwort wird sowohl bei der Parodontitis als auch bei der KHK auf einen entzündlichen Reiz hin exprimiert. Klinische Studien haben bereits gezeigt, dass die CRP-Serumkonzentration durch Polymorphismen im CRP-Gen beeinflusst wird. SNPs im CRP-Gen könnten deshalb sowohl bei der Parodontitis als auch bei der KHK eine mögliche Schnittstelle in der Pathogenese beider Erkrankungen sein. Folgende Aspekte sollten im Verlauf dieser Arbeit berücksichtigt werden:

Hauptziele

1. CRP-Polymorphismen können einen Einfluss auf die CRP-Serumkonzentration ausüben. Möglicherweise wirken sich die beiden Polymorphismen im CRP-Gen rs1800947 und rs1417938 ebenfalls auf die Höhe der CRP-Spiegel im Blut von stationären Patienten mit KHK aus.

   Hypothese 1: Das G-Allel des rs1800947 und das A-Allel des rs1417938 sind mit einem erhöhten CRP-Level bei Koronarpatienten assoziiert.

2. Genetische Risikofaktoren beeinflussen die Pathogenese der Parodontitis. Möglicherweise gibt es eine Assoziation der beiden CRP-Polymorphismen rs1800947 und rs1417938 zum Schweregrad der Parodontitis.

   Hypothese 2: Die Allele (G: rs1800947 und A: rs1417938), die mit erhöhten CRP-Spiegeln assoziiert sind, sind vermutlich auch indikativ für die Prävalenz einer schweren Parodontitis unter Koronarpatienten.

3. Die CRP-Polymorphismen rs1800947 und rs1417938 könnten eine prognostische Bedeutung für das Auftreten neuer kardiovaskulärer Ereignisse (Myokardinfarkt, Schlaganfall/TIA, kardiovaskulärer Tod) unter stationären Koronarpatienten nach einem Jahr Follow-up haben.

   Hypothese 3: Träger des G-Allels bei rs1800947 und Träger des A-Allels bei rs1417938 sind mit einem erhöhten CRP-Spiegel im Blut assoziiert und können deshalb prädiktiv für erneute kardiovaskuläre Ereignisse unter KHK-Patienten sein.

Nebenziele

4. Parodontopathogene Bakterien sind ein entscheidender Faktor in der Ätiologie der Parodontitis. Deshalb sollte überprüft werden, ob die CRP-SNPs rs1800947 und rs1417938 mit dem Auftreten bestimmter parodontaler Bakterien assoziiert sind.

   Hypothese 4: Es ist zu vermuten, dass Träger des G-Allels (bei rs1800947) und Träger des A-Allels (bei rs1417938) eine höhere subgingivale Last an parodontopathogenen Bakterien aufweisen.

5. Beide CRP-Polymorphismen rs1800947 und rs1417938 könnten auch zum Zeitpunkt der Basisuntersuchung zu anamnestisch bekannten Vorerkrankungen der Koronarpatienten assoziiert sein.

   Hypothese 5: Das G-Allel (rs1800947) und das A-Allel (rs1417938) sind mit einer erhöhten CRP-Serumkonzentration assoziiert. Deshalb können Patienten, die Träger dieser Allele sind, verstärkt unter entzündungsbedingten Vorerkrankungen leiden.

Sollte sich ein Zusammenhang zwischen den CRP-Polymorphismen rs1800947 und rs1417938 und dem Auftreten parodontaler und kardiovaskulärer Erkrankungen bestätigen, könnte durch eine Analyse der individuellen Allel/Genotyp-Konstellation die Identifizierung von Risikopatienten verbessert werden. Um ein weiteres Fortschreiten der Erkrankungen aufzuhalten, müssten die Patienten mit erhöhtem Risiko in engmaschige Recall-Systeme integriert werden, bei der neben einer kardiologischen auch eine parodontologische Diagnostik und Therapie sinnvoll wäre. Die Reduzierung der CRP-Konzentration im Patientenserum wäre dabei ein Therapieziel.

3 Material und Methodik

Für die vorliegende Studie wurden von Oktober 2009 bis Februar 2011 konsekutiv-prospektiv 1002 Patienten mit angiographisch gesicherter Koronarstenose in der Universitätsklinik und Poliklinik für Innere Medizin III untersucht. Ein Jahr nach der Erstuntersuchung der Patienten schloss sich eine Follow-up-Datenerhebung an, die im April 2012 erfolgreich beendet wurde.

3.1 Studiendesign

Die vorliegende monozentrische, longitudinale Kohortenstudie „Periodontitis and Coronary Heart Disease“ (ClinicalTrials.gov Identifier: NCT01045070) ist in Zusammenarbeit der Universitätsklinik und Poliklinik für Innere Medizin III mit der Universitätspoliklinik für Zahnerhaltungskunde und Parodontologie entstanden. Die Rekrutierung der Patienten erfolgte in der Universitätsklinik und Poliklinik für Innere Medizin III der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg unter Verantwortung von apl. Prof. Dr. Axel Schlitt. Jeder der 1002 stationär aufgenommenen Patienten wurde vor den Untersuchungen mündlich und anhand eines Informationstextes über die Ziele der Studie aufgeklärt. Mit unterschriebener Einverständniserklärung stimmten die Patienten der Studienteilnahme zu. Zunächst wurde die Herzkatheteruntersuchung durch Mitarbeiter der Universitätsklinik und Poliklinik für Innere Medizin III durchgeführt, danach schloss sich die zahnmedizinische Untersuchung, persönlich oder unter Aufsicht von apl. Professor Dr. med. dent Stefan Reichert, an. Nach einem Jahr erfolgte die Reevaluierung der Patienten bezüglich eines kardiovaskulären Folgeereignisses (Myokardinfarkt, Schlaganfall/transistorische ischämische Attacke (TIA), kardiovaskulärer Tod). Die Datenerhebung für das Ein-Jahres-Follow-up erfolgte mit Hilfe eines Fragebogens, der per Post verschickt wurde. Antwortete der Patient nicht, wurde ein Telefoninterview durchgeführt oder versucht, die Daten durch Hausärzte oder Gesundheitsämter zu erfassen.

Von den 1002 zum Zeitpunkt der Basisuntersuchung rekrutierten Patienten standen bei 940 dieser Patienten Blutproben zur Analyse der CRP-Polymorphismen zur Verfügung.

3.2 Ein- und Ausschlusskriterien für die KHK-Patienten

Voraussetzung für den Studieneinschluss war, dass die Patienten das 18. Lebensjahr erreicht hatten und von ihnen die schriftliche Einverständniserklärung über die Studienteilnahme vorlag. Außerdem musste angiografisch durch den Prüfarzt apl. Prof. Dr. A. Schlitt der Universitätsklinik und Poliklinik für Innere Medizin III bei der Herzkatheteruntersuchung eine ≥ 50%-ige Stenose mindestens einer dominanten Koronararterie festgestellt werden. Aufgrund der geplanten genetischen Untersuchungen wurden nur Kaukasier europäischer Herkunft eingeschlossen. Sie mussten insgesamt 4 eigene Zähne haben.

Ein Studienausschluss erfolgte bei Krankheiten oder Funktionsstörungen, die nach Beurteilung des Prüfarztes eine Teilnahme nicht erlaubten. Weiterhin wurden Probanden ausgeschlossen, die innerhalb der letzten 30 Tage an einer klinischen Prüfung teilgenommen hatten. Ein subgingivales Scaling und Root planing in den letzten 6 Monaten sowie die Einnahme von Antibiotika in den letzten 3 Monaten führten ebenfalls zum Studienausschluss, da dies die bakterielle Zusammensetzung der subgingivalen Plaque und parodontale Befunde wie Sondierblutung, Sondiertiefen und Attachmentverlust beeinflussen könnte. Auch die Einnahme von Medikamenten, die Gingivahyperplasien als Nebenwirkung aufweisen, führte zum Studienausschluss. Schwangere und zahnlose Patienten sowie Patienten mit mangelnder Kooperationsbereitschaft wurden ebenfalls aus der Studie ausgeschlossen.

3.3 Anamnese

Alle Patienten wurden mit Hilfe eines ausführlichen Fragebogens entsprechend ihres Alters, Geschlechts, der Körpergröße und des Körpergewichts sowie hinsichtlich der aktuellen Medikation evaluiert. Für die Erhebung der Follow-up-Daten waren die Angaben des Hausarztes sowie die aktuelle Telefonnummer von Bedeutung. Im weiteren Verlauf wurde die Aufnahme vorbestehender Erkrankungen (bereits erlittener Myokardinfarkt, Apoplex) und kardiovaskulärer Risikofaktoren wie arterieller Hypertonie, Diabetes mellitus, Nikotinabusus und der Body Mass Index (BMI) erfasst. Als Raucher wurden alle Personen bezeichnet, die zum Untersuchungszeitpunkt aktive Raucher waren. Der BMI wurde entsprechend der WHO-Einteilung als Quotient aus der Körpermasse in Kilogramm und dem Quadrat der Körpergröße in Metern ermittelt. Anschließend erfolgte die zahnmedizinische Anamnese. Hierbei wurde die Anzahl der Zahnarztbesuche sowie die Häufigkeit des Zähneputzens pro Tag und die Zuhilfenahme von Interdentalbürsten/Zahnseide zur Reinigung der Interdentalräume erfragt. Die Patienten gaben weiterhin an, ob sie an Zahnfleischbluten und/oder parodontalen Erkrankungen litten und ob eine Parodontaltherapie bereits erfolgte. Angaben zu Zahnverlust durch Zahnlockerung innerhalb von Verwandten ersten Grades wurden ebenfalls dokumentiert.

3.4 Zahnmedizinisch klinische Untersuchung

Im klinischen Teil der Untersuchung wurde neben dem zahnärztlichen Befund auch der Parodontalstatus erhoben.

Kariologischer Befund-DMF/T-Index

Hierbei wird die Summe aller kariösen (D=decayed), fehlenden (M=missing) und gefüllten (F=filling) Zähne (T=teeth) gebildet. Der DMF/T-Index dient v.a. epidemiologischen Zwecken, um die Kariesanfälligkeit einer Population zu ermitteln. Je höher der Index liegt, desto mehr Zähne sind von einer Karies befallen.

Plaque-Index (PI) nach Silness und Loe (1964)

Die Erfassung der Plaque erfolgte mit Hilfe des Plaque-Indexes nach Silness und Loe (1964). Bei dieser Methode wird unter optischer Beurteilung ohne Anfärben mit Hilfe einer Sonde die supragingivale Plaqueablagerung auf den Zahnflächen vestibulär (mesial, Mitte, distal) und oral (Mitte) beurteilt. Die Plaquemenge wurde folgendermaßen kodiert: bei Grad 0 gibt es keine Plaque, bei Grad 1 liegt ein dünner Plaquefilm entlang des Gingivarandes vor, bei Grad 2 ist ein mäßiger Plaquefilm am Gingivarand zu sehen, die Interdentalräume sind frei von Plaque und bei Grad 3 lagert sich die Plaque sowohl in den Approximalräumen sowie entlang des Gingigvarandes ab. Zur Berechnung des Plaqueindexes wurde die Summe der Bewertungsgrade durch die Anzahl der bewerteten Zahnflächen dividiert.

Blutungsindex nach Ainamo und Bay (1975)

Um den Entzündungsgrad des Parodonts zu bestimmen, wurde analog zum Plaqueindex durch eine 4-Punktmessung das Auftreten einer Sondierblutung (BOP= Bleeding on Probing) nach 20 bis 30 Sekunden an jedem Zahn überprüft. Im Anschluss an jede Messung wurde der Anteil von Zahnflächen mit Sondierblutung prozentual ermittelt.

Sondiertiefe und Attachmentverlust

Mit Hilfe der Sechs-Punkt-Messung an jedem Zahn (mesio-vestibulär, vestibulär Mitte, disto-vestibulär, disto-oral, oral Mitte, mesio-oral) wurden die Sondiertiefen (PD = marginale Gingiva bis zum apikalen Stopp der Sonde) und der klinische Attachmentverlust (CAL = Distanz Schmelz-Zement-Grenze bis zum apikalen Stopp der Sonde) mit einer druckkalibrierten Parodontalsonde (DB764R Aesculap AG & Co. KG, Tuttlingen, Deutschland) bestimmt. Für die Mittelwertberechnungen wurden für jeden Zahn die höchsten Werte für PD und CAL addiert und durch die Zahnanzahl dividiert. Die sensitive und qualitative Parodontitisdiagnostik erfolgte anschließend nach Kriterien von Tonetti und Claffey: eine Parodontitis liegt laut Definition vor, wenn an mindestens zwei nicht aneinander grenzenden Zähnen ein approximaler Attachmentverlust von ≥ 3mm er-

mittelt wurde. Eine schwere Parodontitis wurde als approximaler Attachmentverlust von ≥5mm an mindestens 30 % der Zähne definiert (Tonetti and Claffey, 2005).

3.5 Mikrobiologische Untersuchung

Zur Überprüfung der Markerkeime der Parodontitis *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Tannerella forsythia*, *Treponema denticola*, *Peptostreptococcus micros*, *Fusobacterium nucleatum*, *Campylobacter rectus*, *Eubacterium nodatum*, *Eikenella corrodens*, *Capnocytophaga ssp* wurden den Patienten Proben aus dem Sulkus mit Hilfe des micro-IDent plus Probenentnahmesets entnommen. Das Set bestand aus 4 sterilen Papierspitzen, einem Röhrchen zum Transport sowie einem Auftragsformular. Aus den tiefsten Zahnfleischtaschen jedes Quadranten erfolgte die Probenentnahme. War ein Quadrant zahnlos, so konnte aus einem anderen bezahnten Quadranten eine zusätzliche Probe entnommen werden, um insgesamt 4 Proben zu erhalten. Diese 4 Proben eines Patienten wurden in einem Röhrchen gepoolt. Vor der Probenentnahme erfolgte eine supragingivale Zahnreinigung mit einer sterilen Kürette an den Testzähnen. Anschließend wurde das Entnahmegebiet mit Wattenrollen relativ trockengelegt. Die beigefügten Papierspitzen wurden dann in den Sulkus bis zum Taschengrund eingebracht und für 20 Sekunden belassen. Die Entnahmestellen mit Bezeichnung des jeweiligen Zahnes, der Zahnfläche sowie der Sondiertiefe und dem klinischen Attachmentlevel wurden anschließend notiert. Nach Auftragseingang wurden die Proben durch die Firma Hain Lifescience Nehren, Deutschland über die DNA-Strip-Technik auf die 11 parodontalen Markerkeime hin untersucht. Das Analyseergebnis war nach 3 Werktagen online verfügbar.

3.6 Medizinisch klinische Untersuchung

Nach Erhebung der allgemein- und zahnmedizinischen Daten wurde den KHK-Patienten zur Bestimmung der serologischen und genetischen Parameter venöses Blut abgenommen. Neben dem CRP-Spiegel wurden auch die Konzentrationen an Leukozyten, Interleukin-6, Kreatinin, Gesamtcholesterin, HDL- und LDL-Cholesterin sowie Triglyceride bestimmt. Die Erfassung von metabolischen und hämostaseologischen Parametern erfolgte im Zentrallabor der Medizinischen Fakultät der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg.

3.7 Gentische Untersuchung - Bestimmung der CRP-Polymorphismen

DNA-Isolation

Die Isolation der DNA aus venösem Blut erfolgte mittels QIAamp DNA Mini Kit (Qiagen, Hilden, Deutschland) im Labor der Universitätspoliklinik für Zahnerhaltungskunde und Parodontologie der Martin-Luther-Universität. Zunächst wurden 200 µl Citrat-Blut, 20 µl Proteinase K und 200 µl Puffer AL in ein 1,5 ml Tube gegeben und anschließend 15 min bei 56°C schüttelnd inkubiert. Nach der Inkubation wurde das Tube gevortext (Vortex Genie, Bender & Hobein AG, Bruchsal, Deutschland) und mit 200 µl Ethanol versetzt. Der Ansatz wurde nun auf ein Säulchen pipettiert und 1 Minute lang bei 8000 rpm (Heraeus, Hanau, Deutschland) zentrifugiert. Das Säulchen wurde danach auf ein Sammeltube gesetzt und mit 500 µl Puffer AW1 gewaschen und 3 min lang bei 13000 rpm zentrifugiert. Anschließend wurde die DNA mit 500 µl Puffer AW2 versetzt und ebenfalls zentrifugiert (3 min, 13000 rpm). Nach dem Trocknen der Säulchen wurde die DNA mit 200 µl Aqua dest. 5 min inkubiert, 1 min bei 13000 rpm zentrifugiert und schließlich von der Säule eluiert. Die Lagerung der DNA erfolgt bis zur Verwendung bei -20°C.

PCR (Polymerase-Chain-Reaction)

Die PCR dient der Amplifizierung eines genau definierten Abschnitts isolierter DNA. Zunächst wurde die DNA mit spezifischen Forward- und Reverse-Primern, thermostabiler Taq-Polymerase, dNTPs (Desoxyribosenukleosidtriphosphate), Aqua dest. und Puffer versetzt. Das DNA-Gemisch wurde anschließend in einen Thermocycler (Biometra, Göttingen, Deutschland) gegeben und in 3 Schritten vervielfältigt. Beim ersten Schritt wird die DNA denaturiert, sodass sich die Doppelstränge lösen, damit sich darauffolgend die Primer an die einzelsträngige DNA anlagern können (2. Schritt: Annealing). In der letzten Phase der Amplifizierung, dem Elongationsschritt, wird die DNA mit Hilfe der Taq-Polymerase und freien komplementären Nukleotiden zu einer doppelsträngigen DNA ergänzt. Dieser Kreislauf wird 25-bis 35-mal wiederholt.

PCR zur Amplifizierung des rs1800947-Polymorphismus im CRP-Gen

Für die PCR wurden 12,5 µl Mix (Promega, Madison, Wisconsin, USA), 0,5 µl Forward-Primer (3‘-CAG TTT TAC AGT GGG TGG GTC-5‘), 0,5 µl Reverse-Primer (3‘-CCC GCC AGT TCA GGA CAT TAG-5‘), 10,5 µl Aqua dest. und 1 µl genomische DNA gemischt. Zu jedem PCR-Ansatz wurde auch eine Nullkontrolle mitgeführt, die keine Patienten-DNA enthielt. Somit konnte ausgeschlossen werden, dass sich Fremd-DNA in den genutzten Reagenzien befand. Die 35 Zyklen umfassende PCR ist in Tabelle 3 zusammengefasst. Bei dieser PCR entstand ein 347 Basenpaare langes DNA-Fragment. Das PCR-Produkt wurde anschließend auf ein 1%-iges

Agarosegel (0,5 g Agarose, 50 ml TBE-Puffer, 50 µl Ethidiumbromid, Elektrophoresekammer (Peqlab, Erlangen, Deutschland)) aufgetragen und bei 200 V 10 min aufgetrennt.

Tab. 3: Zusammenfassung der PCR des CRP-SNPs rs1800947

Denaturierung	2 min, 95 °C
Denaturierung Annealing Elongation	30 s, 92 °C 30 s, 50°C 30 s, 72 °C } 10 Zyklen
Delay	1s
Denaturierung Annealing Elongation	30 s, 92 °C 30 s, 45 °C 30 s, 72 °C } 25 Zyklen
Delay	1 s
Elongation	5 min, 72 °C
Hold	10 °C

PCR zur Amplifizierung des rs1417938-Polymorphismus im CRP-Gen

Der Ansatz für die PCR bestand ebenfalls aus 12,5 µl Mix (Promega, Madison, Wisconsin, USA), 0,5 µl Forward-Primer (3‘-ACC CCC ATA CCT CAG ATC GAA-5‘), 0,5 µl Reverse-Primer (3‘-GAC GTG ACC ATG GAG AAG CT-5‘), 10,5 µl Aqua dest. und 1 µl genomische DNA. Der Forward-Primer wurde im Vorfeld so umgewandelt, dass er durch Bindung an die Gensequenz die Erkennungsstelle für das Restriktionsenzym Tfi I enthielt. Auch bei dieser PCR wurde eine Nullkontrolle mitgeführt. Die 35 Zyklen umfassende PCR ist in Tabelle 4 zusammengefasst. Bei dieser PCR entstand ein 120 Basenpaare langes DNA-Fragment. Zur Überprüfung der PCR wurden die Produkte auf ein 1%-iges Agarosegel aufgetragen und bei 200 V 10 min aufgetrennt.

Tab. 4: Zusammenfassung der PCR des CRP-SNPs rs1417938

Denaturierung	2 min, 95 °C
Denaturierung Annealing Elongation	30 s, 92 °C 30 s, 55 °C 30 s, 72 °C } 10 Zyklen
Delay	1s
Denaturierung Annealing Elongation	30 s, 92 °C 30 s, 50 °C 30 s, 72 °C } 25 Zyklen
Delay	1 s
Elongation	5 min, 72 °C
Hold	10 °C

Restriktions-Fragment-Längen-Polymorphismus (RFLP) und Agarose-Gelelektrophorese

Die Auswertung der Polymorphismen rs1800947 und rs1417938 nach der PCR erfolgte mit dem Restriktions-Fragment-Längen-Polymorphismus (RFLP). Bei dieser Methode schneidet ein spezifisches Restriktionsenzym an einer bestimmten Gensequenz des PCR-Produktes. Die Erkennungssequenz des Restriktionsenzyms muss die polymorphe Region beinhalten. Dadurch entstehen

einzelne DNA-Fragmente, die mit Hilfe der Agarose-Gelelektrophorese dargestellt werden können. Das Schneiden der DNA erfolgte 4 Stunden lang bei 65 °C im PCR-Thermocycler. Nach dem Restrikionsverdau wurden die Ansätze mit den enthaltenen DNA-Fragmenten auf ein Agarosegel aufgetragen. Bei einer Spannung von 120 V (20 min) wurden die DNA-Stränge ihrer Größe nach aufgetrennt. Kürzere Fragmente bewegten sich im Vergleich zu längeren Fragmenten schneller durch die Matrix. Nach beendeter Gelelektrophorese wurde der Verdau unter dem UV-Transilluminator (AGS, Heidelberg, Deutschland) bei einer Wellenlänge von 320 nm begutachtet. Durch das Mitlaufen einer DNA-Leiter, die DNA-Stränge bekannter Basenlänge enthält, konnten die einzelnen Fragmente bestimmt und der vorliegende Polymorphismus somit identifiziert werden.

RFLP des Polymorphismus rs1800947 im CRP-Gen

Für den Restriktionsverdau wurden 17 µl des PCR-Produktes mit 0,8 µl BsiHKAI (5000 units/µl), 2 µl 10xPuffer und 0,2 µl 100x Rinderalbumin (BSA = Bovine serum albumin) versetzt. Das Enzym schneidet immer an der Stelle GWGCW/C (Abb. 6), sodass man nach dem 4-stündigen Verdau 3 Genotypen diagnostizieren konnte. Zunächst wurden die DNA-Fragmente auf ein 2%-iges Agarosegel aufgetragen und unter Spannung in die Gelelektrophoresekammer überführt. Unter UV-Licht konnten die DNA-Fragmente sichtbar gemacht werden. Beim homozygoten Genotyp CC entstanden 2 Banden bei 68 bp und 279 bp. Lag der homozygote Genotyp GG vor, wurde nur eine Bande bei 347 bp sichtbar. Drei Banden entstanden hingegen beim heterozygoten Genotyp CG: 68 bp, 279 bp und 347 bp (Abb.7).

CAGTTTTACAGTGGGTGGGTCTGAAATATTATTCGAGGTTCCTGAAGT
CACAGTAGCTCCAGTACACATTTGTACAAGCTGGGAGTCCGCCTCAG
GGATCGTGGAGTTCTGGGTAGATGGGAAGCCCAGGGTGAGGAAGAG
TCTGAAGAAGGGATACACTGTGGGGGCAGAAGCAAGCATCATCTTGG
GGCAGGAGCAGGATTCCTTCGGTGGGAACTTTGAAGGAAGCCAGTC
CCTGGTGGGAGACATTGGAAATGTGAACATGTGG
C
GACTTT**GTGCTG**TCACCAGATGAGATTAACACCATCTATCTTGGCGGG
CCCTTCAGTCCTAATGTCCTGAACTGGCGGG

Abb. 6: Gensequenz des CRP-Gens,
rot = ausgetauschte Base, grün = Primerbindungsstellen,
fett gedruckt = Erkennungssequenz Restriktionsenzym BsiHKAI

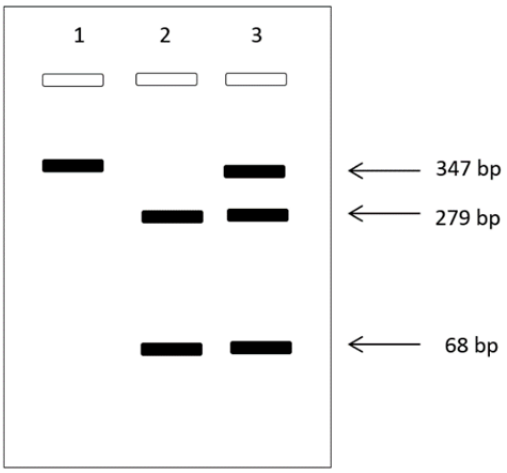

Abb. 7: Agarosegelelektrophorese zum Nachweis verschiedener Genotypen des rs1810947
1 = homozygot GG, 2 = homozygot CC, 3 = heterozygot CG

RFLP des Polymorphismus rs1417938 im CRP-Gen

Der Ansatz für den Restriktionsverdau beinhaltete 17 µl des PCR-Produktes, 1,5 µl Tfi I (2500 units), 1,4 µl 10xPuffer und 0,1 µl 100xBSA. Das Restriktionsenzym Tfi I schneidet bei der Basenabfolge G/AWTC (Abb. 8). Nach 4-stündigem Verdau und erfolgter Gelelektrophorese (3%-iges Agarosegel, 120V, 20 min) konnten 3 Genotypen unter UV-Licht identifiziert werden. Beim homozygoten Genotyp AA wurde eine Bande bei 120 bp sichtbar. Zwei Banden (19 bp und101 bp) konnten hingegen beim homozygoten Genotyp TT beobachtet werden. Lag der heterozygote Genotyp AT vor, so waren drei Banden bei 19 bp, 101 bp und 120 bp zu sehen (Abb. 9).

A
ACCCCCATACCTCAGATC**G**AA**T**CTCTCCCATAGCCTGGGGTGGCCC
TTACCTGTCTGGCCAAAAGCATGAGAGAGGCTGGTCAAGACCAAGA
AACACAACAGCTTCTCCATGGTCACGTC

Abb. 8: Gensequenz des CRP-Gens,
rot = ausgetauschte Base, grün = Primerbindungsstellen,
fett gedruckt = Erkennungssequenz Restriktionsenzym Tfi

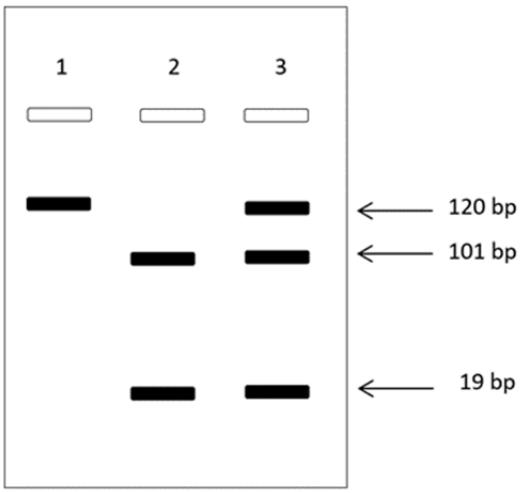

Abb. 9: Agarosegelelektrophorese zum Nachweis verschiedener Genotypen des rs1417938
1 = homozygot AA, 2 = homozygot TT, 3 = heterozygot AT

3.8 Follow-Up

Ein Jahr nach Einschluss wurden die Patienten schriftlich kontaktiert und gebeten anhand eines Fragebogens Auskunft über die aktuelle Medikation, Krankenhausaufenthalte sowie über kardiovaskuläre Folgeereignisse zu geben: dieser beinhaltete Angaben über Myokardinfarkt und Schlaganfall/transistorische ischämische Attacke (TIA). Antworteten die Patienten nicht, wurde versucht ein Telefoninterview durchzuführen. Falls die Patienten aufgrund eines kardialen oder nicht kardialen Todes verstorben waren, wurden die zuletzt behandelnden Ärzte oder Gesundheitsämter zur Todesursache befragt.

3.9 Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung erfolgte mit dem Computerprogramm Microsoft SPSS Version 19.0 (IMB Corp.,USA, 2010). Die metrischen Daten wurden durch den Kolmogorov-Smirnov-Test auf Normalverteilung und mit Hilfe des Levene-Tests auf Varianzhomogenität überprüft. Metrische Daten wurden bei Nicht-Normalverteilung mit dem Mann-Whitney-U-Test verglichen und bei Normalverteilung mit dem T-Test nach Students. Die Auswertung kategorialer Daten erfolgte durch Kreuztabellen/Chi^2-Test. Diese Werte wurden anschließend mittels Yates-Korrektur korrigiert. Wurden Mehrfachvergleiche durchgeführt, sind die p-Werte mit der Bonferroni-Korrektur berichtigt worden. Mit Hilfe von Regressionsanalysen (schrittweise vorwärts) wurde der Einfluss mehrerer Faktoren auf eine dichotome (binäre logistische Regression) oder auf eine metrische Variable (lineare Regression) geprüft.

Die Berechnung der Überlebenswahrscheinlichkeiten auf Basis der Follow-up-Daten erfolgte durch Kaplan-Meier-Kurven und den Log-Rank Test. Die gleichzeitige Einbeziehung mehrerer Fak-

toren in ein Überlebensmodell und Berechnung adjustierter Hazard Ratios erfolgte mit der Cox-Regression. Das Signifikanzniveau wurde auf $p \leq 0{,}05$ festgelegt.

4 Ergebnisse

4.1 Basisdaten – Charakterisierung der Koronarpatienten

Von den 1002 Patienten, die zu Beginn in die Studie aufgenommen wurden, konnten die Blutproben von 940 Patienten mit nachgewiesener Koronarerkrankung in die Untersuchungen einbezogen werden.

4.1.1 Demografische und biochemische Parameter

Von den 940 untersuchten KHK-Patienten litten 448 Koronarpatienten unter der schweren Form der Parodontitis. Nur 20 Patienten wiesen keine Parodontitis auf. Da diese Gruppengröße zu gering für eine aussagekräftige statistische Untersuchung ist, wurden die parodontal gesunden Patienten der Gruppe der Patienten mit einer leichten Parodontitis (n=472) zugeordnet. 492 Koronarpatienten bildeten somit die Gruppe „keine oder leichte Parodontitis“. In dieser Patientengruppe ohne bzw. mit leichter Parodontitis waren signifikant häufiger Frauen. Patienten mit einer schweren Parodontitis waren signifikant häufiger Raucher und hatten erhöhte Serumspiegel für C-reaktives Protein, Interleukin-6 und Kreatinin. Die demografischen und biochemischen Parameter sind in Tabelle 5 zusammengefasst.

Tab. 5: Demografische, anamnestische und biochemische Daten der Koronarpatienten

	Gesamtgruppe (n = 940)	**Keine oder leichte Parodontitis (n = 492)**	**Schwere Parodontitis (n = 448)**	**p-Wert**
Demografische und anamnestische Parameter				
Alter in Jahre (Median, Perzentile 25 %/75 %)	68,7 (59,6/74,9)	68,7 (59,3/74,9)	68,7 (60,0/74,6)	0,423**
Geschlecht (weiblich, %)	26,1	30,3	21,4	**0,003***
Raucher (%)	12,3	8,9	16,1	**0,001***
BMI, kg/m² (Median, Perzentile 25 %/75 %)	28,1 (25,3/30,8)	28,1 (25,4/30,5)	28,1 (25,2/30,1)	0,878**
Biochemische Parameter				
C-reaktives Protein (mg/l) (Median, Perzentile 25 %/75 %) Ref.: < 5mg/l	9,0 (3,7/32,9)	7,5 (3,2/28,0)	10,3 (5,0/38,1)	**0,008****
Leukocyten (Gpt/l) (Median, Perzentile 25 %/75 %) Ref.: 3,8-9,8 Gpt/l	7,9 (6,4/9,7)	7,7 (6,4/9,7)	8,0 (6,4/9,7)	0,558**
Interleukin-6 (pg/ml) (Median, Perzentile 25 %/75 %) Ref.: < 11pg/ml	7,4 (3,7/15,7)	6,8 (3,4/13,8)	8,2 (4,2/18,0)	**0,003****
Kreatinin (µmol/l) (Median, Perzentile 25 %/75 %) Ref.: M<102; F<88 µmol/l	87,0 (72,0/107,0)	85,0 (72,0/104,0)	88,0 (73,0/111,8)	**0,035****
Gesamtcholesterin (mmol/l) (Median, Perzentile 25 %/75 %) Ref.: < 6,2 mmol/l	4,3 (3,7/5,3)	4,4 (3,7/5,4)	4,3 (3,7/5,3)	0,313**
HDL-Cholesterin (mmol/l) (Median, Perzentile 25 %/75 %) Ref.: > 1,5 mmol/l	1,0 (0,8/1,2)	1,0 (0,8/1,2)	1,0 (0,8/1,2)	0,635**
LDL-Cholesterin (mmol/l) (Median, Perzentile 25 %/75 %) Ref.: < 3,9 mmol/l	2,6 (2,0/3,3)	2,6 (2,1/3,4)	2,6 (2,0/3,3)	0,387**
Triglyceride (mmol/l) (Median, Perzentile 25 %/75 %) Ref.: M < 1,6, F < 2,3 mmol/l	1,4 (1,0/1,9)	1,3 (0,9/1,9)	1,4 (1,0/1,9)	0,193**

Ref.: laborinterne Referenzwerte, M: Männer, F: Frauen

* Yates Korrektur, ** Mann-Whitney-U-Test

4.1.2 Vorerkrankungen

Anschließend wurde der Zusammenhang zwischen dem Schweregrad der Parodontitis zu aus der Anamnese bekannten Vorerkrankungen untersucht. Die Gruppe der Patienten mit schwerer Parodontitis war signifikant häufiger von einem Myokardinfarkt betroffen als Patienten mit der leichten Parodontitisform. Die Prävalenz anderer Erkrankungen war dagegen nicht signifikant unterschiedlich in Abhängigkeit der parodontalen Diagnose. Das prozentuale Auftreten weiterer Erkrankungen unter Berücksichtigung einer Parodontitisform ist in Abbildung 10 dargestellt.

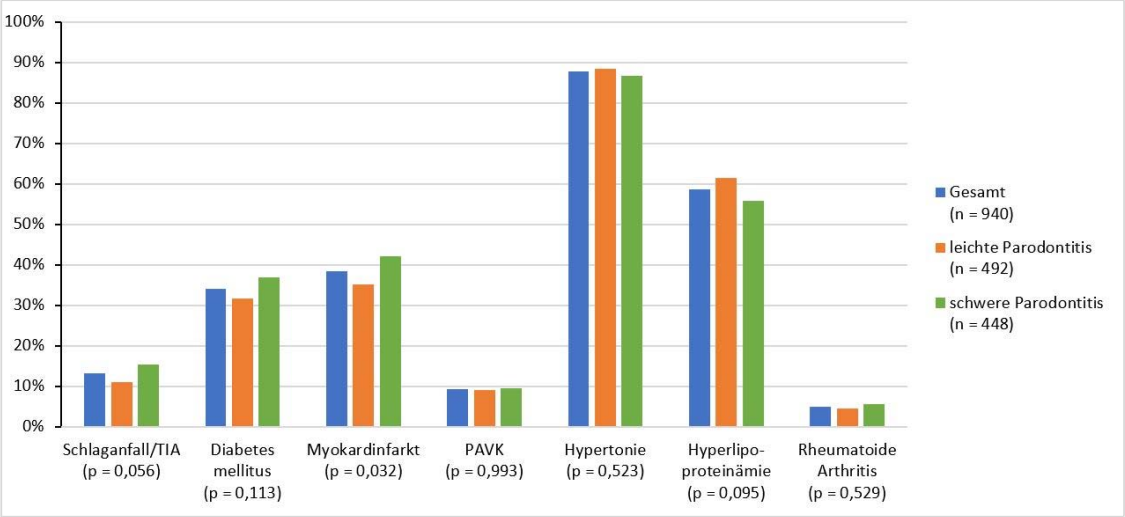

Abb. 10: Bekannte Vorerkrankungen zum Zeitpunkt der Basisuntersuchung in Abhängigkeit von der parodontalen Diagnose,
TIA = transitorische ischämische Attacke, PAVK = periphere arterielle Verschlusskrankheit

4.1.3 Zahnärztliche Parameter und mikrobielle Belastung

Die Koronarpatienten wurden hinsichtlich zahnärztlich-klinischer Parameter untersucht. So konnten in der Gruppe mit schwerer Parodontitis ein höherer Plaque-, Blutungs- und DMFT-Index sowie erwartungsgemäß höhere Werte für Sondiertiefen und Attachmentverlust festgestellt werden (Tab. 6). Auch das Vorkommen von Bakterien des roten und orangenen Komplexes (außer *F. nucleatum*) wurde bei Patienten mit schwerer Parodontitis signifikant häufiger nachgewiesen. Nur *P. intermedia* zeigte signifikant höhere Werte bei Patienten mit keiner bzw. mit leichter Parodontitis. Die Detektionsfrequenz von Bakterien des grünen Komplexes (*E. corrodens*, *C. ssp.*) und *A. actinomycetemcomitans* war dagegen nicht signifikant unterschiedlich in Abhängigkeit von der parodontalen Diagnose (Tab. 7).

Tab. 6: Zahnärztlich klinische Daten der Koronarpatienten

Zahnärztliche Parameter	Gesamtgruppe (n = 940)	Keine oder leichte Parodontitis (n = 492)	Schwere Parodontitis (n = 448)	p-Wert
Plaqueindex (Median, Perzentile 25 %/75 %)	0,8 (0,5/1,4)	0,6 (0,4/0,9)	1,2 (0,8/2,0)	**<0,001***
Blutungsindex (Median, Perzentile 25 %/75 %)	5,6 (1,9/12,5)	3,7 (0/8,2)	8,3 (3,6/15,3)	**<0,001***
Sondiertiefe in mm (Median, Perzentile 25 %/75 %)	3,5 (2,9/4,1)	3,1 (2,5/3,5)	4,1 (3,6/4,6)	**<0,001***
Klinischer Attachment-verlust in mm (Median, Perzentile 25 %/75 %)	4,1 (3,3/5,1)	3,3 (2,8/3,8)	5,1 (4,5/6,2)	**<0,001***
Fehlende Zähne (Median, Perzentile 25 %/75 %)	10,0 (5,0/19,0)	7,0 (3,0/13,0)	15,0 (8,0/21,0)	**<0,001***
Kariöse Zähne (MW±SD)	0,3±0,91**	0,21±0,67**	0,39±1,11**	**0,004***
Gefüllte Zähne (Median, Perzentile 25 %/75 %)	5,0 (2,0/8,0)	7,0 (4,0/10,0)	4,0 (1,0/6,0)	**<0,001***
DMFT-Index (Median, Perzentile 25 %/75 %)	18,0 (12,0/23,0)	16,0 (11,0/21,0)	21,0 (14,0/24,0)	**<0,001***

DMFT = decayed, missed, filled tooth

* Mann-Whitney-U-Test

** keine Normalverteilung, trotzdem Angabe in Mittelwert und Standardabweichung, da die Werte zu niedrig sind und die Angabe in Median und Perzentilen (25 %/75 %) keine Aussage-kraft hätte

Tab. 7: Subgingivale Besiedlung der Koronarpatienten mit parodontopathogenen Bakterien

Bakterienspezies	**Gesamtgruppe (n = 940)**	**Keine oder leichte Parodontitis (n = 492)**	**Schwere Parodontitis (n = 448)**	**p-Wert**
A. actinomycetemco-mitans (%)	10,0	10,8	9,2	0,473*
Roter Komplex				
P. gingivalis (%)	63,5	55,3	72,5	**<0,001***
T. forsythia (%)	76,9	72,8	81,5	**0,002***
T. denticola (%)	60,2	55,7	65,2	**0,004***
Oranger Komplex				
P. intermedia (%)	76,7	80,1	73,0	**0,013***
P. micros (%)	78,4	75,2	81,9	**0,016***
F. nucleatum (%)	97,8	97,2	98,4	0,268*
C. rectus (%)	61,8	57,3	66,7	**0,004***
E. nodatum (%)	30,6	24,6	37,3	**<0,001***
Grüner Komplex				
E. corrodens (%)	70,2	69,1	71,4	0,480*
C. sputigena, C. gingivalis, C. ochracea (%)	69,0	69,9	68,1	0,590*

* Chi^2-Test mit Yates Korrektur

4.2 Basisdaten- Genetische Untersuchung der Koronarpatienten im CRP-Gen

Die 940 Koronarpatienten wurden hinsichtlich ihrer Genetik im CRP-Gen untersucht. Die CRP-Polymorphismen rs1800947 und rs1417938 wurden dabei in dieser Arbeit genauer betrachtet.

4.2.1 Assoziation zwischen den CRP-Polymorphismen rs1800947 bzw. rs1417938 und dem Schweregrad der Parodontitis bei Koronarpatienten

Die Genotyp- und Allelverteilung der CRP-Polymorphismen rs1800947 und rs1417938 wurde in Abhängigkeit der Schwere der parodontalen Erkrankung bei den Patienten mit koronaren Herzerkrankungen untersucht. Dabei zeigte sich, dass weder die Genotyp- noch die Allelverteilung mit dem Schweregrad der Parodontitis signifikant assoziiert waren (Abb. 11).

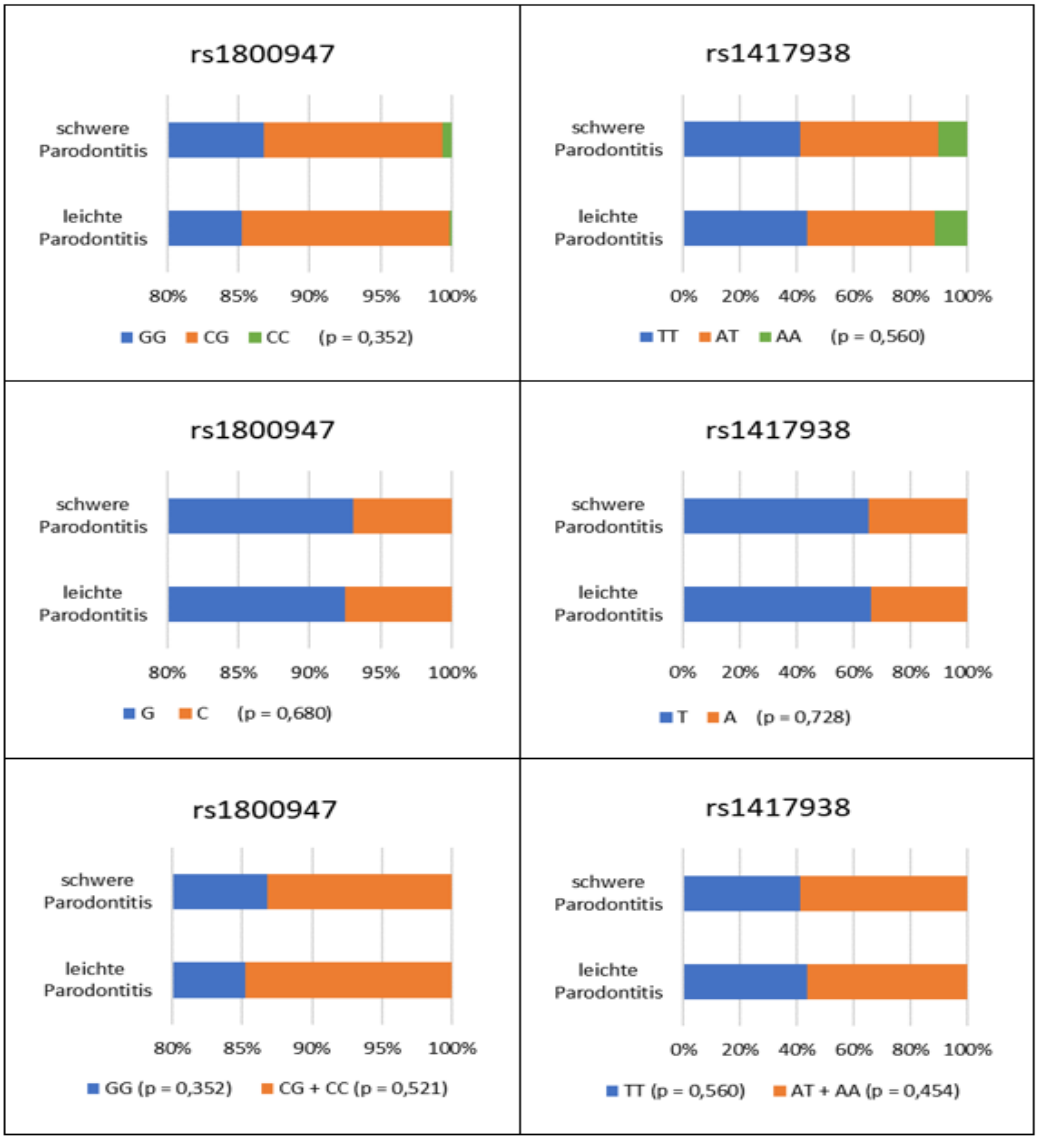

Abb. 11: Genotyp- und Allelverteilung der CRP-Polymorphismen rs1800947 und rs1417938 in Abhängigkeit von der parodontalen Diagnose

4.2.2 Assoziation der CRP-Polymorphismen rs1800947 und rs1417938 zur Anzahl nachgewiesener Bakterienspezies in der subgingivalen Plaque bei Koronarpatienten

Zunächst wurde untersucht, ob die Expression bestimmter Allel- oder Genotypen des CRP-Gens zur Anzahl nachgewiesener subgingivaler Bakterienspezies assoziiert war. Im Ergebnis konnten jedoch keine signifikanten Zusammenhänge nachgewiesen werden (Abb. 12).

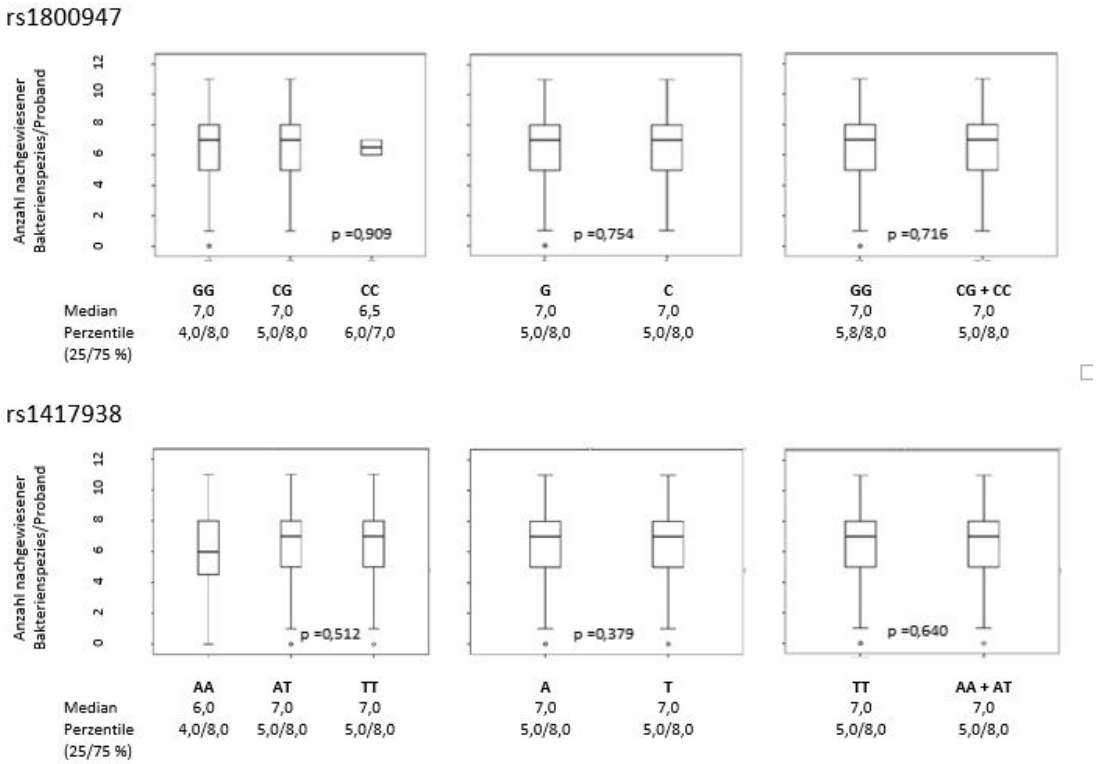

Abb. 12: Anzahl verschiedener nachgewiesener Bakterienspezies pro Patient in Abhängigkeit von der Expression verschiedener Allele und Genotypen im CRP-Gen (rs1800947 und rs1417938)

4.2.3 Assoziationen der CRP-Polymorphismen rs1800947 und rs1417938 zum Nachweis einzelner Bakterien in der subgingivalen Plaque

Ob es eine Assoziation zwischen dem genetischen Hintergrund und der subgingivalen Bakterienbesiedlung gibt, wurde in weiteren bivariaten Vergleichen untersucht. Insgesamt konnten 13 verschiedene Bakterienspezies in der subgingivalen Plaque analysiert werden, wobei *C. sputigena*, *C. gingivalis* und *C. ochracea* zu C. spezies zusammengefasst wurden. Der Genotyp CG des CRP-Polymorphismus rs1800947 war mit einer signifkant höheren Nachweisfrequenz von *T. denticola* assoziiert (GG = 60,1 %, CG = 62,5 %, CC = 0 %; p = 0,042). Nach Bonferroni-Korrektur lag jedoch keine Signifikanz mehr vor. Für alle anderen Bakterien sowie bei Betrachtung der einzelnen Allele konnte kein signifikanter Zusammenhang aufgezeigt werden.

Der CRP-Polymorphismus rs1417938 wurde ebenfalls hinsichtlich möglicher Assoziationen zum Nachweis parodontaler Bakterien untersucht. Das T-Allel war mit einer signifikant höheren Nachweisfrequenz für *E.corrodens* und *F. nucleatum* assoziiert. Nach Bonferroni-Korrektur für multiple Vergleiche lag jedoch keine Signifikanz mehr vor (Tab. 8). Weitere signifikante Assoziationen zu anderen Bakterien konnten nicht detektiert werden. Bei der Betrachtung der Genotypen des CRP-Polymorphismus rs1417938 waren ebenfalls keine signifikanten Assoziationen feststellbar.

Tab. 8: Beziehung zwischen der individuellen Allelkonstellation von rs1417938 und dem subgingivalen Vorkommen von *E. corrodens* und *F. nucleatum* in der Gesamtstudiengruppe

rs1417938	***E. corrodens* positive Personen (%)**	**p-Wert* Odds Ratio (95 % Konfidenzintervall)**
Allel		0,028*
T-Allel (n=1236)	71,9	1,266 (1,031-1,555)
A-Allel (n=644)	66,9	**0,308****
	***F. nucleatum* positive Personen (%)**	
Allel		0,044*
T-Allel (n=1236)	98,3	1,95 (1,057-3,598)
A-Allel (n=644)	96,7	**0,484****

* Chi^2-Test mit Yates Korrektur, ** Bonferroni-Korrektur

Weitergehende Untersuchungen im multivariaten Modell sollten zeigen, ob die genetische Konstellation im CRP-SNP rs1417938 als unabhängiger Risikoindikator für das Auftreten von *E. corrodens* und *F. nucleatum* bestätigt werden konnte. Zu den Kofaktoren zählten hierbei Plaque-Index, Geschlecht, Rauchen, Diabetes mellitus, Alter, BMI und schwere Parodontitis. Ein signifikant höheres Risiko für die Besiedlung mit *E. corrodens* und *F. nucleatum* zeigten T-Allel-Träger. Für die Besiedlung mit *E. corrodens* war zusätzlich zum Allel das Geschlecht signifikant positiv assoziiert. Das Alter verminderte signifikant das Risiko für die Besiedlung mit *E. corrodens* (Tab.9). Diabetes mellitus war signifikant positiv mit einer Besiedlung von *F. nucleatum* assoziiert während der Kofaktor Patientenalter negativ mit dem Nachweis einer Besiedlung mit *F. nucleatum* assoziiert war (Tab. 10).

Tab. 9: Binäre logistische Regression (schrittweise vorwärts) für das Auftreten von *E. corrodens* unter Berücksichtigung der Kofaktoren (Plaque-Index, Geschlecht, Rauchen, Diabetes mellitus, Alter, BMI und Parodontitis) und des T-Allels des CRP-SNPs rs1417938

Signifikante Variable	**Regressions-koeffizient**	**Standardfehler**	**p-Wert**	**Odds Ratio**	**95 % Konfidenz-intervall**
Alter	-0,029	0,005	**<0,001**	0,972	0,962-0,981
Geschlecht (männlich)	0,243	0,114	**0,034**	1,275	1,019-1,596
T-Allel	0,242	0,106	**0,023**	1.274	1,034-1,569

Tab. 10: Binäre logistische Regression (schrittweise vorwärts) für das Auftreten von *F. nucleatum* unter Berücksichtigung der Kofaktoren (Plaque-Index, Geschlecht, Rauchen, Diabetes mellitus, Alter, BMI und Parodontitis) und des T-Allels des CRP-SNPs rs1417938

Signifikante Variable	Regressions-koeffizient	Standardfehler	p-Wert	Odds Ratio	95 % Konfidenz-intervall
Alter	-0,033	0,015	**0,030**	0,967	0,939-0,997
Diabetes mellitus	0,897	0,398	**0,024**	2,451	1,125-5,348
T-Allel	0,662	0,313	**0,035**	1,938	1,049-3,584

4.2.4 Assoziation der CRP-Polymorphismen rs1800947 und rs1417938 zu klinischen Variablen sowie zu zum Zeitpunkt der Basisuntersuchung bekannten Vorerkrankungen

Mögliche Assoziationen der Polymorphismen rs1800947 und rs1417938 zu demografisch, zahnärztlich-klinischen sowie biochemischen Variablen wurden mit bivariaten Vergleichen untersucht. Dabei wurden keine signifikanten Zusammenhänge zwischen der genetischen Komponente und den untersuchten Parametern Alter, Geschlecht, aktuelles Rauchen, BMI, PI, BOP, PD, CAL, Anzahl fehlender Zähne, Anzahl kariöser Zähne, Anzahl gefüllter Zähne und dem DMFT-Index sowie den Serumspiegeln für Leukocyten, Interleukin 6, Kreatinin, Gesamtcholesterin, HDL, LDL und Triglyceride festgestellt. Des Weiteren wurde die gesamte Studiengruppe auf Assoziationen der CRP-Polymorphismen zur Prävalenz der zum Zeitpunkt der Basisuntersuchung bekannten Vorerkrankungen Schlaganfall/TIA, Diabetes mellitus, Myokardinfarkt, periphere arterielle Verschlusskrankheit, Hypertonie, Hyperlipoproteinämie und rheumatoide Arthritis analysiert. Ein signifikant erhöhtes Risiko für das Vorkommen eines Schlaganfalls/TIA konnte für C-Allel-Träger des SNPs rs1800947 beobachtet werden (Tab. 11). Der AA-Genotyp des SNPs rs1417938 war mit dem Auftreten der peripheren arteriellen Verschlusskrankheit (PAVK) signifikant assoziiert (Tab. 12). Alle anderen untersuchten Vorerkrankungen wiesen keine Assoziationen zu den CRP-Polymorphismen auf.

Tab. 11: Beziehung zwischen der individuellen Genotyp- und Allelkonstellation des CRP-SNPs rs1800947 und dem Auftreten eines Schlaganfalls/TIA in der Gesamtstudiengruppe

rs1800947	Schlaganfall/TIA (%)	p-Wert Odds Ratio (95 % Konfidenzintervall)
Genotyp		0,067*
GG (n=808)	12,3	
CG (n=128)	17,2	
CC (n=4)	50,0	
Allel		**0,042*** 1,637 (1,044-2,568)
G-Allel (n=1744)	12,6	
C-Allel (n=136)	19,1	

* Chi^2-Test mit Yates-Korrektur, TIA= transitorische ischämische Attacke

Tab. 12: Beziehung zwischen der individuellen Genotyp- und Allelkonstellation des CRP-SNPs rs1417938 und dem Auftreten der PAVK in der Gesamtstudiengruppe

rs1417938	**PAVK (%)**	**p-Wert Odds Ratio (95 % Konfidenzintervall)**
Genotyp		**0,032* **0,504 (0,281-0,906)
AA (n=103)	15,5	
AT+TT (n=837)	8,5	
Allel		0,185*
T-Allel (n=1236)	8,6	
A-Allel (n=644)	10,6	

* Chi^2-Test mit Yates-Korrektur, PAVK= periphere arterielle Verschlusskrankheit

4.2.5 Assoziation der CRP-Genpolymorphismen rs1800947 und rs1417938 zur Höhe des CRP-Serumspiegels

Bei der Untersuchung der Koronarpatienten hinsichtlich des CRP-Serumspiegels konnte eine Assoziation zur individuellen CRP-Genkonstellation gezeigt werden. G-Allelträger und Träger des GG-Genotyps des Polymorphismus rs1800947 hatten einen signifikant erhöhten CRP-Serumspiegel während die Träger, die mindestens ein Allel C exprimierten, einen niedrigeren CRP-Level aufzeigten. Auch für rs1417938 konnte eine signifikante Assoziation zum CRP-Serumspiegel ermittelt werden. Träger des A-Allels wiesen signifikant erhöhte Serumwerte für CRP auf als T-Allel-Träger (Abb. 13).

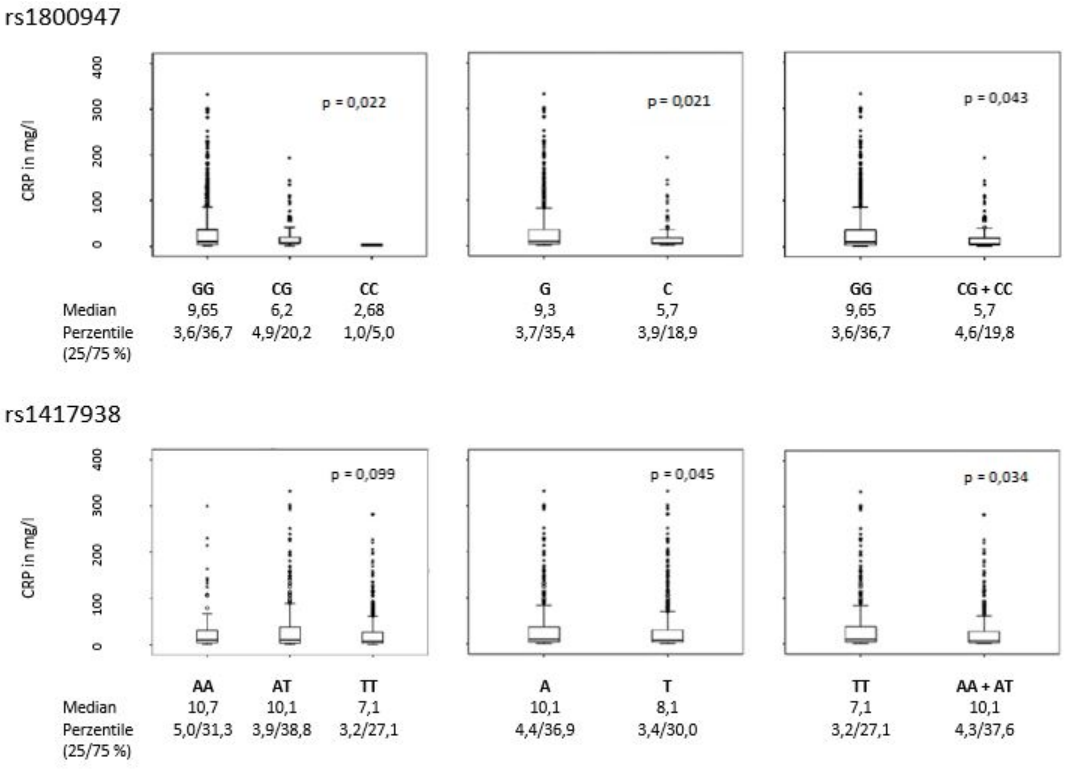

Abb. 13: Abhängigkeit des CRP-Serumspiegels von den Genpolymorphismen rs1800947 und rs1417938 im CRP-Gen in der Gruppe der Koronarpatienten

Mit Hilfe der multivariaten linearen Regression (Einschluss) unter Berücksichtigung der Kofaktoren Alter, Geschlecht, BMI, Raucherstatus, Diabetes mellitus, schwere Parodontitis und genetischer Hintergrund wurde der Einfluss der beiden Polymorphismen auf den CRP-Serumspiegel untersucht. Beim SNP rs1800947 konnte gezeigt werden, dass G-Allelträger und der GG-Genotyp unabhängige Risikoindikatoren für eine Erhöhung des CRP-Spiegels darstellen. Unter Betrachtung der Allele konnten die schwere Parodontitis sowie das männliche Geschlecht zusätzlich als weitere signifikante Risikoindikatoren für einen erhöhten CRP-Spiegel gezeigt werden (Tab. 13). Für den CRP-Polymorphismus rs1417938 konnte weder der Genotyp (TT vs. AT+AA) noch das T-Allel als unabhängiger Risikoindikator für einen erhöhten CRP-Serumlevel bestätigt werden. Einzig das Auftreten einer schweren Parodontitis und das männliche Geschlecht waren signifikante Risikoindikatoren unter Betrachtung der Allele.

Tab. 13: Lineare logistische Regression (Einschluss) zur Untersuchung einer möglichen Assoziation des rs1800947 Polymorphismus zum CRP-Serumspiegel unter Berücksichtigung der Kofaktoren (Alter, Geschlecht, BMI, aktuelles Rauchen, Diabetes mellitus, schwere Parodontitis)

a) Genotyp GG vs. CG+CC

rs1800947	**Standardisierter Regressionskoeffizient**	**p-Wert**
Alter	-0,009	0,806
Geschlecht (männlich)	0,053	0,109
BMI	-0,017	0,625
Rauchen	-0,047	0,196
Diabetes mellitus	0,025	0,463
schwere Parodontitis	0,072	**0,031**
GG-Genotyp	0,088	**0,007**

Modellzusammenfassung	**R^2**	**p-Wert**	**SE**
	0,019	0,014	48,59

b) G-Allel

rs1800947	**Standardisierter Regressionskoeffizient**	**p-Wert**
Alter	-0,012	0,655
Geschlecht (männlich)	0,053	**0,025**
BMI	-0,019	0,417
Rauchen	-0,047	0,066
Diabetes mellitus	0,024	0,307
schwere Parodontitis	0,073	**0,002**
G-Allel	0,064	**0,006**

Modellzusammenfassung	**R^2**	**p-Wert**	**SE**
	0,015	<0,001	48,57

4.3 Follow-up-Daten

4.3.1 Klinische Charakterisierung der Patienten entsprechend eines erneuten kardiovaskulären Ereignisses

Von November 2010 bis April 2012 wurde das 1-Jahres-Follow-up durchgeführt. Von den 1002 zu Studienbeginn eingeschlossenen Probanden konnten von 1000 Patienten Follow-up-Daten erhoben werden (Drop-out 0,2 %). Unter den 940 Patienten, bei denen zu Beginn der Studie die CRP-Genpolymorphismen bestimmt werden konnten, gab es keinen Drop-out. Das Auftreten der kardiovaskulären Ereignisse nichttödlicher Myokardinfarkt, Schlaganfalls/TIA und kardiovaskuläre Tod während des 1-Jahres-Follow-ups wurde als kombinierter Endpunkt der Studie definiert. Die Inzidenz von neuen kardiovaskulären Ereignissen ist in Abbildung 14 dargestellt.

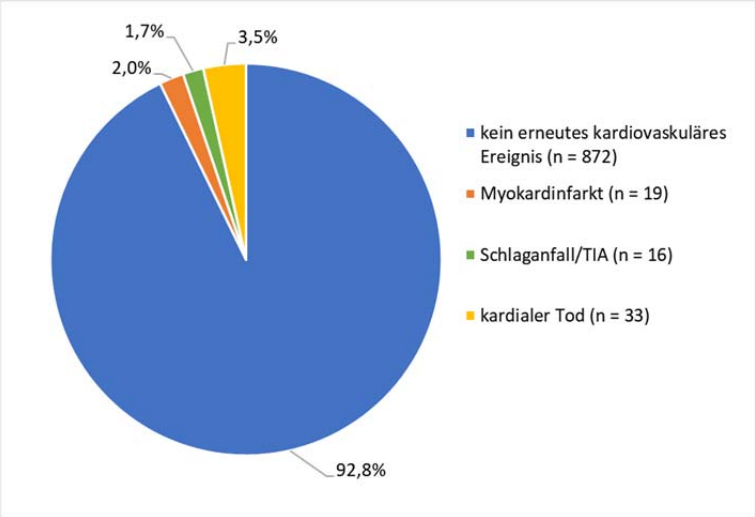

Abb. 14: Inzidenz neuer kardiovaskulärer Ereignisse unter Patienten mit koronarer Herzerkrankung während des einjährigen Follow-ups

4.3.2 Die Polymorphismen rs1800947 und rs1417938 im CRP-Gen als mögliche Prädikatoren für die Inzidenz des kombinierten Endpunkts

Nach Kaplan-Meier-Kurven und Log-Rank Test konnten weder die zwei möglichen Allele noch die drei möglichen Genotypen der CRP-Polymorphismen rs1800947 und rs1417938 als signifikante Risikoindikatoren für den kombinierten Endpunkt identifiziert werden. Tendenziell waren im Polymorphismus rs1800947 der Genotyp GG und das G-Allel mit einem höheren Risiko für den kombinierten Endpunkt assoziiert (Abb. 15). Beim CRP-Polymorphismus rs1417938 zeigten tendenziell das A-Allel und Genotypen bei denen mindestens ein A-Allel vorkam eine positive Assoziation zum kombinierten Endpunkt (Abb. 16).

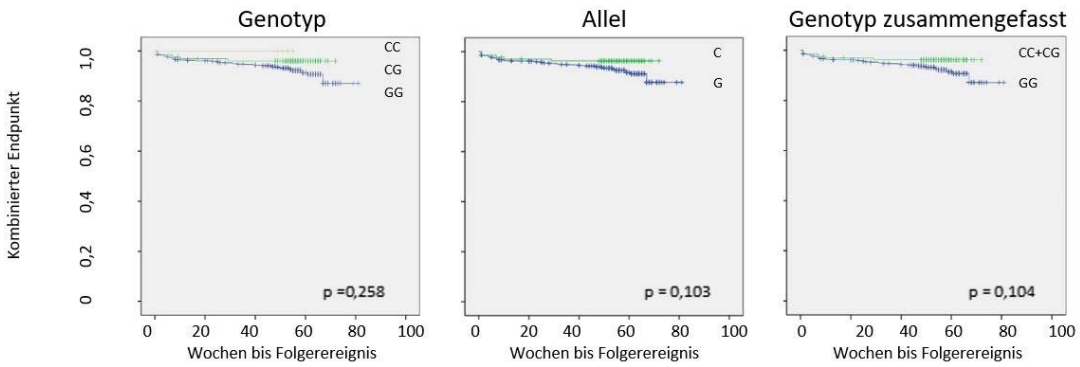

Abb. 15: Kaplan-Meier-Plot zur Untersuchung des Einflusses der Genotyp- und Allelkonstellation des CRP-Polymorphismus rs1800947 auf die Inzidenz des kombinierten Endpunkts

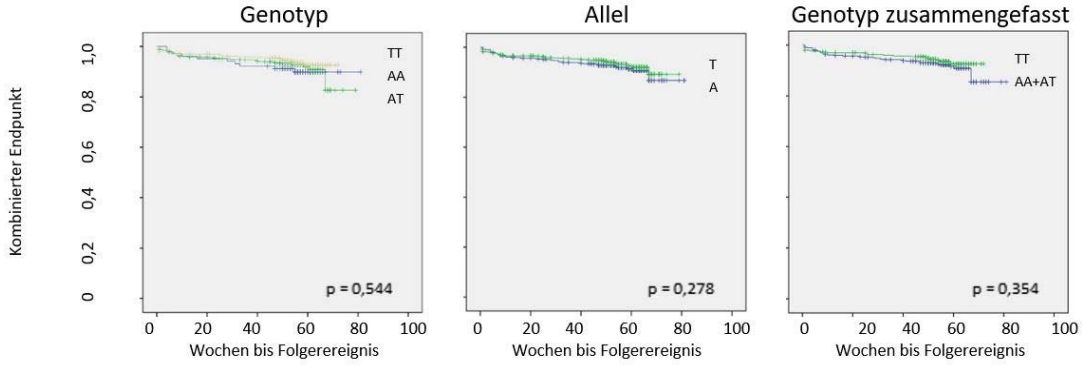

Abb. 16: Kaplan-Meier-Plot zur Untersuchung des Einflusses der Genotyp- und Allelkonstellation des CRP-Polymorphismus rs1417938 auf die Inzidenz des kombinierten Endpunkts

Um adjustierte Hazard Ratios für den kombinierten Endpunkt zu berechnen, wurde die Cox-Regression angewandt. Neben den CRP-Genpolymorphismen wurden weitere Kofaktoren wie Alter, Geschlecht, Raucherstatus, Diabetes mellitus, BMI und das Vorliegen einer schweren Parodontitis mit in die Analyse einbezogen. Die genetische Konstellation im CRP-Gen (rs1800947 und rs1417938) konnte nicht als Prädikator für die Inzidenz des kardiovaskulären Endpunkts identifiziert werden. Die Identifizierung einer schweren Parodontitis als Risikofaktor für neue kardiovaskuläre Ereignisse wurde in einer Parallelstudie untersucht (Dissertation Andrea Lutze „Die Prävalenz von schwerer Parodontitis bei Patienten mit koronarer Herzerkrankung und ihre prognostische Bedeutung für erneute kardiovaskuläre Folgeereignisse – eine Longitudinalstudie“). Diabetes mellitus und ein erniedrigter BMI erwiesen sich bei den beiden CRP-Polymorphismen rs1800947 und rs1417938 als einzige signifikante Prädiktoren für das Eintreten eines erneuten kardiovaskulären Ereignisses. Bei Berücksichtigung der Allelkonstellation zeigte sich zusätzlich das Vorliegen einer schweren Parodontitis als signifikant prognostischer Faktor (Tab. 14 und 15).

Tab. 14: Cox-Regression (schrittweise vorwärts) für die Inzidenz des kombinierten Endpunkts unter Berücksichtigung der Kofaktoren Alter, Geschlecht, Raucherstatus, Diabetes mellitus, BMI, schwere Parodontitis und

a) der Genotypverteilung des rs1800947 **GG vs. CG+CC**

b) der Allelverteilung des rs1800947 **G vs. C**

Signifikante Variable	Regressions-koeffizient	Standard-fehler	p-Wert	Hazard Ratio	Konfidenz-intervall (95 %)
a) eingeschlossene Variablen					
BMI	-0,060	0,030	**0,047**	0,942	0,887-0,999
Diabetes mellitus	0,586	0,256	**0,022**	1,795	1,087-2,967
ausgeschlossene Variablen					
GG-Genotyp	0,709	0,466	0,128	2,033	0,816-5,063
b) eingeschlossene Variablen					
BMI	-0,062	0,021	**0,004**	0,942	0,902-0,980
Diabetes mellitus	0,584	0,181	**0,001**	1,792	1,258-2,558
schwere Parodontitis	0,352	0,177	**0,047**	1,422	1,010-2,012
ausgeschlossene Variablen					
G-Allel	0,701	0,456	0,124	2,017	0,825-4,931

Tab. 15: Cox-Regression (schrittweise vorwärts) für die Inzidenz des kombinierten Endpunkts unter Berücksichtigung der Kofaktoren Alter, Geschlecht, Raucherstatus, Diabetes mellitus, BMI, schwere Parodontitis und

a) der Genotypverteilung des rs1417938 **TT vs. AT+AA**

b) der Allelverteilung des rs1417938 **T vs. A**

Signifikante Variable	Regressions-koeffizient	Standard-fehler	p-Wert	Hazard Ratio	Konfidenz-intervall (95 %)
a) eingeschlossene Variablen					
BMI	-0,061	0,030	**0,041**	0,940	0,887-0,998
Diabetes mellitus	0,582	0,256	**0,023**	1,789	1,083-2,958
ausgeschlossene Variablen					
TT-Genotyp	-0,184	0,253	0,466	0,832	0,507-1,364
b) eingeschlossene Variablen					
BMI	-0,062	0,021	**0,004**	0,940	0,902-0,980
Diabetes mellitus	0,584	0,181	**0,001**	1,792	1,258-2,558
schwere Paro-dontitis	0,357	0,177	**0,044**	1,428	1,010-2,020
ausgeschlossene Variablen					
T-Allel	-0,168	0,176	0,340	0,845	0,598-1,193

4.4 Zusammenfassung der Ergebnisse unter Berücksichtigung der aufgestellten Hypothesen

Hypothese 1:

Das G-Allel des rs1800947 und das A-Allel des rs1417938 sind mit einem erhöhten CRP-Level bei Koronarpatienten assoziiert.

Sowohl der CRP-Polymorphismus rs1800947 als auch der CRP-Polymorphismus rs1417938 waren bei Koronarpatienten zur Höhe der CRP-Serumkonzentration assoziiert. Signifikant höhere CRP-Spiegel zeigten beim CRP-Polymorphismus rs1800947 G-Allelträger sowie Träger des GG-Genotyps, niedrige CRP-Konzentrationen wiesen dagegen Träger der C-assoziierten Genotyps auf (Abb. 13). Unter Berücksichtigung weiterer Kofaktoren konnte mit Hilfe der multivariaten Regression (Einschluss) das G-Allel und der GG-Genotyp als unabhängige Risikoindikatoren für die Erhöhung des CRP-Spiegels identifiziert werden (Tab. 13). Koronarpatienten, die Träger des A-Allels des CRP-SNPs rs1417938 waren, hatten signifikant höhere CRP-Serumwerte als Patienten, die das T-Allel exprimierten (Abb. 13). Der SNP rs1417938 konnte im multivariaten Vergleich aber nicht als unabhängiger Risikoindikator für die Höhe des CRP-Serumlevels detektiert werden.

Hypothese 2:

Die Allele (G: rs1800947 und A: rs1417938), die mit erhöhten CRP-Spiegeln assoziiert sind, sind vermutlich auch indikativ für die Prävalenz einer schweren Parodontitis unter Koronarpatienten.

Die CRP-Polymorphismen rs1800947 und rs1417938 waren nicht zum Schweregrad der Parodontitis assoziiert (Abb. 11).

Hypothese 3:

Träger des G-Allels bei rs1800947 und Träger des A-Allels bei rs1417938 sind mit einem erhöhten CRP-Spiegel im Blut assoziiert und können deshalb prädiktiv für erneute kardiovaskuläre Ereignisse unter KHK-Patienten sein.

Die Polymorphismen rs1800947 und rs1417938 des CRP-Gens sind nach Kaplan-Meier-Kurven und Log-Rank-Test keine Prädikatoren für die Inzidenz weiterer kardiovaskulärer Ereignisse nach einem Jahr Follow-up. Tendenziell waren das G-Allel sowie der GG-Genotyp des CRP-Polymorphismus rs1800947 mit dem kombinierten Endpunkt assoziiert (Abb. 15). Beim CRP-Polymorphismus rs1417938 galt dies für das A-Allel sowie für A-assoziierte Genotypen (Abb. 16). Da in dieser Arbeit nur das Ein-Jahres-Follow-up berücksichtigt wurde, soll in diesem Abschnitt ein Ausblick auf die erworbenen Kenntnisse des 3-Jahres-Follow-ups gegeben werden.

Im Rahmen des 3-Jahres-Follow-ups konnte ein signifikanter Zusammenhang zwischen dem CRP-Polymorphismen rs1800947 und der Inzidenz des kombinierten Endpunkts festgestellt werden. Der GG-Genotyp des SNP rs1800947 wurde dabei als unabhängiger Risikoindikator für erneute kardiovaskuläre Ereignisse detektiert, was sich bereits in dieser Arbeit tendenziell zeigte. Des Weiteren wurde der Einfluss der CRP-Serumkonzentration auf die Entstehung neuer kardiovaskulärer Events untersucht. Hierbei zeigte sich, dass ein CRP-Level >5 mg/l ebenfalls signifikant mit dem kombinierten Endpunkt assoziiert ist (Schulz et al., 2016).

Hypothese 4:

Es ist zu vermuten, dass Träger des G-Allels (bei rs1800947) und Träger des A-Allels (bei rs1417938) eine höhere subgingivale Last an parodontopathogenen Bakterien aufweisen.

Die Expression bestimmter Allele oder Genoytpen der CRP-Polymorphismen rs1800947 und rs1417938 ist nicht zur Anzahl verschiedener nachgewiesener Bakterien in der subgingivalen Plaque assoziiert (Abb. 12). Im multivariaten Modell konnten T-Allel-Träger des CRP-Polymorphismus rs1417938 ein signifikant höheres Risiko für die Besiedlung mit *E. corrodens* und *F. nucleatum* zeigen (Tab. 8). Für die Besiedlung mit *E. corrodens* war zusätzlich zum Allel das Geschlecht signifikant positiv assoziiert, das Alter verminderte das Risiko dagegen signifikant (Tab. 9). Für die Besiedlung mit *F. nucleatum* zeigte der Diabetes mellitus eine signifikant positive Assoziation während der Kofaktor Patientenalter sich signifikant negativ auf die Besiedlung mit *F. nucleatum* auswirkte (Tab. 10)

Hypothese 5:

Das G-Allel (rs1800947) und das A-Allel (rs1417938) sind mit einer erhöhten CRP-Serumkonzentration assoziiert. Deshalb können Patienten, die Träger dieser Allele sind, verstärkt unter entzündungsbedingten Vorerkrankungen leiden.

Die Prävalenz von schon zum Zeitpunkt der Basisuntersuchung bekannten Vorerkrankungen war teilweise signifikant mit den genetischen Konstellationen der CRP-Polymorphismen rs1800947 und rs1417938 assoziiert. Wider Erwarten zeigte sich, dass C-Allel-Träger des rs1800947, und nicht wie vermutet Träger des G-Allels, ein erhöhtes Risiko für das Auftreten eines Schlaganfalls/TIA hatten (Tab. 11). Der AA-Genotyp des CRP-Polymorphismus rs1417938 war dagegen mit der Prävalenz einer PAVK signifikant assoziiert (Tab. 12). Für die anderen Vorerkrankungen Diabetes mellitus, Myokardinfarkt, Hyperlipoproteinämie und rheumatoide Arthritis konnten keine signifikanten Zusammenhänge detektiert werden.

5 Diskussion

5.1 Methodendiskussion

In die Studie (ClinicalTrials.gov Identifier: NCT01045070) wurden konsekutiv-prospektiv 1002 Patienten mit angiographisch gesicherter Koronarstenose aufgenommen. Bei 940 dieser Patienten konnte die DNA aus den Blutproben extrahiert und die Polymorphismen rs1800947 und rs1417938 des CRP-Gens bestimmt werden. Die Probanden wurden zudem zahnärztlich untersucht und hinsichtlich ihres Parodontalstatus differenziert. Die Beurteilung der dentalen Plaqueakkumulation erfolgte in der Studie durch den Plaqueindex nach Silness und Löe. Dieser ist im Rahmen wissenschaftlicher Untersuchungen besonders geeignet, da er exakte Beurteilungskriterien durch die Graduierung der Menge und Lokalisation der Plaque sowie durch die Bewertung des Plaquebefalls an allen vier Zahnflächen zulässt. Eine vermeintlich einfachere Überprüfung der Plaqueansammlung mit dem Approximalraumplaqueindex (API) ist hingegen für die Beurteilung der Plaqueanlagerung zu ungenau, da nur die Approximalflächen mit einer einfachen Ja/Nein-Entscheidung betrachtet werden. Die Beurteilung des Schweregrades der Parodontitis wurde durch den approximalen Attachmentverlust nach der Parodontitis-Fall-Definition von Tonetti und Claffey (2005) festgelegt. Eine Parodontitis liegt bei Tonetti und Claffey vor, wenn an mindestens zwei nicht aneinander grenzenden Zähnen ein approximaler Attachmentverlust von ≥ 3mm ermittelt wurde. Eine schwere Parodontitis ist als approximaler Attachmentverlust von ≥ 5mm bei ≥ 30 % der Zähne definiert. Diese Parodontitisdefinition wurde für wissenschaftliche Studien zur Risikofaktoranalyse entwickelt. Die zweistufige Diagnostik ist dafür geeignet, sehr sensitiv Parodontitispatienten zu diagnostizieren. Durch die qualitative Diagnostik wurden Fälle mit schwerer Parodontitis abgegrenzt, von denen anzunehmen ist, dass sie ein entscheidender Risikofaktor für Allgemeinerkrankungen sein könnten.

Da zur Beurteilung des Schweregrades der Parodontitis die Approximalflächen untersucht wurden, können Attachmentverluste, die aufgrund von vestibulären Gingivarezessionen oder infolge von traumatischen Zähneputzen entstehen würden, ausgeschlossen werden. 448 Koronarpatienten wiesen eine schwere Form der Parodontitis auf. 20 Patienten waren parodontal gesund und wurden der Gruppe der Probanden mit leichter Parodontitis zugeordnet (n = 492), da eine Gruppengröße von 20 Personen für aussagekräftige Statistiken zu gering ist. Aufgrund dieser Einteilung erfolgten die Querschnittsuntersuchungen unter Berücksichtigung demografischer Daten, biochemischer Parameter, Vorerkrankungen und zahnärztlich klinischer Parameter hinsichtlich ihrer Assoziation zum Schweregrad der Parodontitis.

Um die Genauigkeit und Plausibilität der Messergebnisse zu gewährleisten, wurden Patienten, die in den letzten 3 Monaten unter Antibiotikatherapie standen, aus der Studie ausgeschlos-

sen. Die Verminderung der Bakterienzahl, die sich aus der Wirkung des Antibiotikums ergibt, hätte einen Einfluss auf die parodontologische Untersuchung (Sondiertiefen, Blutungsindex) und die mikrobiologische Analyse der subgingivalen Plaque haben können. Gleiches galt für Patienten, die unter medikamentöser Einnahme von Arzneimitteln standen, welche Gingivahyperplasien hervorrufen können (Nifedipin, Cyclosporin A, etc.). Parodontalchirurgische Therapien innerhalb der letzten 6 Monate führten ebenfalls zum Studienausschluss, da diese beispielsweise durch die Beseitigung von pardontalen Taschen die für die Untersuchung wichtigen Parameter Sondiertiefe und Attachmentverlust maßgeblich beeinflussen könnten. Durch die hormonelle Umstellung während einer Schwangerschaft werden vermehrt Gingivitiden beobachtet. Eine Steigerung von Progesteron und Östrogen im Blut führt zu einer erhöhten Gefäß- und Zellproliferation. Die Arbeitsgruppe von Carillo de Albornoz stellte zudem einen Zusammenhang zwischen der Speichel-Progesteron-Konzentration und dem erhöhten Vorkommen von *P. gingivalis* in parodontalen Taschen her (Carrillo-de-Albornoz et al, 2010). Schwangere Probandinnen konnten aus diesen Gründen nicht an der Studie teilnehmen.

5.2 Ergebnisdiskussion – Auswertung der Querschnittsuntersuchung im Bezug zur parodontalen Diagnose

5.2.1 Diskussion demografischer Daten im Bezug zur parodontalen Diagnose

Alter

In dieser Studie wurde gezeigt, dass die Patienten mit koronarer Herzerkrankung mit einem Durchschnittsalter von 67 Jahren zu 47,6 % an einer schweren Parodontitis litten. Im Vergleich zur 5. Deutschen Mundgesundheitsstudie (DMS) vom Jahr 2015 lag die Zahl unserer Patienten mit schweren Parodontitiden deutlich über dem in der DMS ermittelten Wert von 19,8 % bei den 65-74 Jährigen (Jordan et al., 2015). Dass unter unseren KHK-Patienten mehr Patienten mit schwerer Parodontitis zu finden sind als in der „Normalbevölkerung“, stützt unsere Annahme, dass die Parodontitis ein Risikofaktor für die Progression der koronalen Herzerkrankung ist.

Einschränkend muss jedoch erwähnt werden, dass die Unterschiede zwischen den Daten der DMS V zu unserer Studie auch auf Unterschiede in der Methodik (Definition schwere Parodontitis, Messung der parodontalen Parameter) zurückzuführen sein könnte. Deshalb lassen unsere Ergebnisse nicht die Aussage zu, dass Patienten mit KHK generell häufiger an einer schweren Parodontitis leiden als Patienten ohne KHK.

Raucherstatus

Der Raucherstatus war signifikant mit dem Auftreten einer schweren bzw. leichten Parodontitis assoziiert. 16,1 % der Patienten mit schwerer Parodontitis waren aktive Raucher. In der Gruppe mit keiner bzw. leichter Parodontitis waren 8,9% aktive Raucher. Dass Raucher ein signifikant höheres Risiko an einer schweren Parodontitis zu erkranken zeigen, steht auch im Einklang mit anderen Studien (Albandar, 2002; Palmer et al., 2005). Rauchen ist mit einer verringerten Immunantwort assoziiert, sodass es bei einem bakteriellen Befall bei Rauchern zu einer verstärkten Zytokin-Ausschüttung mit überschießender Entzündungsreaktion kommen kann. Folglich gilt Rauchen als einer der Hauptrisikofaktoren für die Progression einer Parodontitis (Genco, 1996). Zusätzlich ist bei Rauchern die Mikrozirkulation in der Gingiva verringert (Hanioka et al., 2000).

Geschlecht

Signifikant waren in dieser Studie mehr Männer an einer schweren Parodontitis betroffen als Frauen (78,6 % vs. 21,4 %). Dass ein geschlechterspezifischer Unterschied in der Ausprägung des Schweregrades der Parodontitis zu verzeichnen ist, könnte an dem signifikant höheren Plaqueindex bei Männern liegen. Im Vergleich zu Frauen lag der Median des Plaqueindex bei Männern bei 0,9(0,6/1,6), Frauen wiesen dagegen einen niedrigeren Plaqueindex von 0,7(0,4/1,15) ($p<0,001$) auf. Tendenziell waren Männer zudem häufiger aktive Raucher (13,5 % vs. 9,5 %, $p=0,063$).

Body-Mass-Index (BMI)

Der BMI der Koronarpatienten lag im Gesamtkollektiv bei 28,33±4,47 kg/m^2. Dies entspricht laut der WHO-Klassifikation dem Stadium der Präadipositas. Es gibt Studien, die Zusammenhänge zwischen Adipositas und Parodontopathien nachweisen (Haffajee and Socransky, 2009; Morita et al., 2011). In dieser Arbeit konnte jedoch kein signifikanter Zusammenhang zwischen dem BMI und dessen Auswirkung auf den Schweregrad der Parodontitis gezeigt werden.

5.2.2 Diskussion biochemischer Parameter im Bezug zur parodontalen Diagnose

Da die Parodontitis eine Infektionskrankheit ist, steigen in deren Verlauf die Werte der klassischen Entzündungsparameter (Zytokine etc.) an: Interleukin 6 induziert in der Leber die Synthese von Akute-Phase-Proteinen, zu denen das CRP zählt. In dieser Arbeit wurde gezeigt, dass Patienten mit einer schweren Parodontitis signifikant höhere Spiegel an CRP und IL-6 hatten als Patienten mit einer leichten Form. Andere Studien belegen ebenfalls, dass erhöhte CRP- und IL-6-Werte mit dem Schweregrad der Parodontitis assoziiert sind (Paraskevas et al., 2008;

Wohlfeil et al., 2012). Auch erhöhte Serumlevel an CRP und IL-6 werden als Risikomarker für parodontale und kardiovaskuläre Erkrankungen diskutiert (Helfand et al., 2009; Haba et al., 2011). Deswegen unterstützen die Ergebnisse unserer Arbeit die Annahme, dass parodontale Infektionen durch gesteigerte CRP- und IL-6-Spiegel vaskuläre inflammatorische Prozesse der Arteriosklerose entstehung beeinflussen.

Darüber hinaus war der Kreatinin-Wert bei Patienten mit schwerer Parodontitis signifikant erhöht. Die erhöhte Kreatinin-Konzentration im Serum lässt Rückschlüsse darauf zu, dass bei den Koronarpatienten mit einer Parodontitis die Nierenfunktion und damit die Clearance von Kreatinin vermindert ist. Eine frühere Studie verdeutlicht ebenfalls, dass Parodontopathien Nierenfunktionsstörungen bedingen können (Fisher et al., 2011).
Die anderen untersuchten biochemischen Parameter wie Leukozytenzahl, Gesamtcholesterin, HDL-und LDL-Cholesterin sowie Triglyceride zeigten keinen Zusammenhang zur Schwere der Parodontitis.

5.2.3 Assoziation anamnestisch erhobener Vorerkrankungen zur parodontalen Diagnose

Die Gruppe der Patienten mit schwerer Parodontitis war in dieser Studie signifikant häufiger von einem Myokardinfarkt betroffen als die Patienten mit leichter Parodontitis. Mattila et al. zeigten bereits Ende 1980er Jahre, dass es einen Zusammenhang zwischen dem Auftreten einer Parodontopathie und dem Myokardinfarkt gibt (Mattila et al., 1989). Die Parodontitis gilt im gleichen Maße als Risikofaktor für Myokardinfarkt und Schlaganfall wie die „klassischen" Risikofaktoren (Hypertonie, Hyperlipidämie etc.). Eine Meta-Analyse aus dem Jahr 2008 unterstützt ebenfalls die Ergebnisse unserer Arbeit: sie zeigt eine Assoziation zwischen einer schweren Parodontitis und der KHK bzw. einem Myokardinfarkt (Humphrey et al., 2008). Auch aktuelle Studien belegen, dass die Parodontitis signifikant mit einem erhöhten Risiko einen Myokardinfarkt zu erleiden assoziiert ist (Rydén et al., 2016; Xu et al., 2017).

Die Prävalenz anderer Vorerkrankungen in Abhängigkeit von der parodontalen Diagnose war dagegen nicht signifikant unterschiedlich. Auffällig ist dabei die fehlende Signifikanz in der Prävalenz des Diabetes mellitus zur Schwere der Parodontitis ($p = 0{,}113$). Es ist weitgehend bekannt, dass sich die Parodontitis und der Diabetes mellitus in bidirektionaler Beziehung zueinander befinden (Bascones-Martínez et al., 2015). In unserer Studie waren unter den Koronarpatienten mit schwerer Parodontitis tendenziell häufiger Diabetiker, die Insulin benötigten, als bei Probanden mit milder oder ohne Parodontitis (20,5 % vs. 14,6 %; $p = 0{,}105$). Bei insulinpflichtigen Patienten wird häufig eine schlechtere glykämische Einstellung beobachtet (Bashan et al., 2015). Bei chronischer Hyperglykämie werden vermehrt AGEs

gebildet. Diese binden an ihre spezifischen Rezeptoren (RAGE) auf Zelloberflächen und lösen eine proinflammatorische Reaktion mit Sekretion von Entzündungsmediatoren aus, welche dann zu einer beschleunigten Progression parodontaler Erkrankungen führen kann (Salvi et al., 2008). Die Akkumulation von AGEs fördert auch eine Quervernetzung von Kollagen, sodass es einerseits zu Funktionsstörungen in Umbauprozessen des parodontalen Bindegewebes und andererseits zu einer zunehmenden Steifigkeit des arteriellen Gefäßsystems kommt (Zieman et al., 2004).

5.2.4 Diskussion zahnärztlicher Parameter im Bezug zur parodontalen Diagnose

Erwartungsgemäß wiesen die Patienten mit einer schweren Parodontitis signifikant stärkere parodontale Symptome auf als Patienten mit keiner bzw. mit der leichten Form der Parodontitis. Die Plaque- und Blutungsindizes lagen bei den Probanden mit einer schweren Parodontitis höher, was zu erwarten war, da die Entstehung und Ausprägung einer Parodontopathie durch die pathogene Plaqueanlagerung induziert wird und mit den klassischen Entzündungszeichen einhergeht. Auch eine andere Studien bestätigt den Zusammenhang zwischen erhöhten Plaque- bzw. Blutungsindizes und der Progression einer Parodontitis (Camelo-Castillo et al., 2015). Dass der klinische Attachmentverlust und die Anzahl fehlender Zähne bei den Probanden mit schwerer Parodontitis erhöht sind im Vergleich zur Gruppe mit keiner bzw. einer leichten Parodontitis, steht im Einklang mit einer 2002 veröffentlichen Studie von Gilbert et al.. Auch hier ist ein erhöhter Attachmentverlust konsistent mit einem gesteigerten Risiko für Zahnverlust assoziiert (Gilbert et al., 2002).

Anhand des erhöhten DMF-T-Indexes (21,0 vs. 16,0; $p < 0{,}001$) wurde bei Patienten mit schwerer Parodontitis signifikant mehr fehlende Zähne, mehr kariöse und weniger gefüllte Zähne als bei Patienten mit leichter Parodontitis festgestellt. Eine mögliche Schlussfolgerung dafür wäre, dass Patienten mit einer schweren Parodontitis durch fehlende zahnärztliche Prophylaxe nicht ausreichend auf ihren Mundgesundheits- sowie Gebisszustand sensibilisiert sind und sich so die erhöhten klinischen Werte für den DMF-T erklären.

5.2.5 Differenzierung des Patientenkollektivs bezüglich parodontopathogener Bakterien

Der entscheidende Faktor für die Ätiologie der Parodontitis ist die bakterielle Mundflora. Wie zu erwarten, wiesen die Patienten mit einer ausgeprägten Parodontalerkrankung eine insgesamt höhere subgingivale bakterielle Last auf als die Patienten ohne bzw. mit leichter Parodontitis. Da es sich bei der Parodontitis um eine opportunistische Infektion handelt, kommen die parodontopathogenen Bakterienstämme ebenso bei parodontal gesunden Patienten vor (Ximénez-Fyvie et al., 2000). Zu den Leitkeimen der Parodontitis zählen *P. gingivalis*, *T. forsy-*

thia und *T. denticola*. Diese drei Bakterienspezies bilden den roten Komplex, welchem stark parodontopathogene Eigenschaften zugeschrieben werden (Socransky et al., 1998). In dieser Arbeit wiesen Patienten mit schwerer Parodontitis im Gegensatz zu Patienten mit einer milden Verlaufsform einen signifikant höheren Befall mit Bakterien des roten Komplexes auf. Auch das Auftreten der Bakterien des orangenen Komplexes (außer *F. nucleatum*) war signifikant mit dem Schweregrad der Parodontitis assoziiert. *P. intermedia* kam als einziger Parodontalkeim bei Patienten mit einer leichten Parodontitisform häufiger vor als bei Patienten, die unter einer schweren Parodontitis litten (80,1 % vs. 73,0 %). *P. intermedia*, *P. micros*, *C. rectus* und *E. nodatum* gehören zu den sogenannten Brückenkeimen, die die Grundlage für das Wachstum der Spätbesiedler des roten Komplexes bilden und denen eine wichtige Bedeutung in der Pathogenese der Parodontitis zukommen. Die in dieser Arbeit festgestellten Ergebnisse bezüglich der subgingivalen Bakterienlast stehen im Einklang mit anderen Studien. Die Gruppe um Rescala zeigten das gesteigerte Auftreten von Bakterien des roten und orangenen Komplex bei schweren Parodontopathien (Rescala et al., 2010). Dass die Bakterien des grünen Komplexes keine signifikante Assoziation zur Schwere der Parodontitis aufwiesen, wurde in dieser Arbeit ebenfalls belegt. Die Keime des grünen Komplexes (*E. corrodens*, *C. sputigena*, *C. gingivalis*, *C. ochracea*) und *A. actinomycetemcomitans* haben eine wichtige Rolle in der Ätiologie von aggressiven Parodontitiden. So belegte auch eine weitere Studie ein vermehrtes Auftreten von *A. actinomycetemcomitans*, *C. sputigena*, und *C. ochracea* bei Patienten mit aggressiver Parodontitis im Vergleich zu Patienten, die unter einer chronischen Form litten (Silva-Boghossian et al., 2012). Mit Betrachtung der Ergebnisse dieser Arbeit, in der der grüne Komplex keine Signifikanz zum Schweregrad der Parodontitis zeigte, lässt sich vermuten, dass die hier untersuchten Patienten mit schwerer Parodontitis womöglich unter der chronischen Form litten und aus diesem Grund keine signifikante Assoziation zu verzeichnen war. Das Durchschnittsalter der Patienten in unserer Studie lag außerdem bei 67 Jahren. *A. actinomycetemcomitans* tritt vor allem bei Jugendlichen, die an einer lokalisierten aggressiven Parodontitis leiden auf und bei jungen Erwachsenen (<30 Jahre) in Form einer generalisierten aggressiven Parodontitis (Könönen and Müller, 2014). Vermutlich ist das verringerte Vorkommen von *A. actinomycetemcomitans* auch darin zu begründen. Des Weiteren lässt sich aufgrund des mikrobiellen Befundes allein nicht auf die parodontale Diagnose schließen, auch wenn *A. actinomycetemcomitans* als Leitkeim der Parodontitis gilt.

In dieser Arbeit konnte gezeigt werden, dass die gesteigerte Besiedlung von pathogenen Parodontalkeimen in subgingivalen Taschen mit dem Schweregrad der Parodontitis bei Koronarpatienten assoziiert ist.

5.3 Ergebnisdiskussion – Genetische Untersuchung der CRP-Polymorphismen rs1800947 und rs1417938 des CRP-Gens in den Querschnittsuntersuchungen

5.3.1 Beziehung der CRP-Polymorphismen rs1800947 und rs1417938 zur parodontalen Diagnose bei Koronarpatienten

In dieser Arbeit sollte überprüft werden, ob die Genotyp- und Allelverteilung der CRP-Polymorphismen rs1800947 und rs1417938 eine signifikanten Beziehung zur parodontalen Diagnose aufweisen. Bei den untersuchten Koronarpatienten konnte jedoch kein Zusammenhang zwischen Varianten im CRP-Gen und der Ausprägung einer Parodontitis gefunden werden. Der Einfluss der beiden CRP-Polymorphismen auf die Parodontitis ist wenig erforscht. Liu et al. untersuchten den Einfluss des SNPs rs1800947 auf die chronische Parodontitis. Hier konnte ebenfalls keine signifikante Assoziation festgestellt werden (Liu et al., 2010). Derzeit liegen keine Studien bezüglich eines möglichen Zusammenhangs des CRP-Polymorphismus rs1417938 zur Prävalenz oder Inzidenz parodontaler Erkrankungen vor.

Dass die beiden Polymorphismen in dieser Studie in keiner signifikanten Beziehung zum Schweregrad der Parodontitis stehen, könnte an der Auswahl der Kohorte liegen. Da die Probanden kardiovaskulär und mit Erkrankungen wie Diabetes mellitus vorbelastet sind, ist anzunehmen, dass diese Einflussfaktoren den möglichen genetischen Effekt auf die Manifestation der Parodontitis maskiert haben.

5.3.2 Assoziation der CRP-Polymorphismen rs1800947 und rs1417938 zum Bakteriennachweis in der subgingivalen Plaque

Genetische Faktoren können über das körpereigene Immunsystem Einfluss auf die Ausprägung einer Parodontopathie nehmen. Dies könnte auch die Besiedlung mit parodontopathogenen Bakterien beeinflussen. Aufgrund dessen wurde in dieser Arbeit der Einfluss der CRP-Polymorphismen rs1800947 und rs1417938 auf die Anzahl der Bakterienspezies überprüft. Es wurde bei beiden Polymorphismen keine signifikante Assoziation zur Anzahl verschiedener nachgewiesener Keimspezies nachgewiesen. Daher wurde der Zusammenhang der Polymorphismen mit dem Auftreten einzelner subgingivaler Bakterien untersucht. Der Genotyp CG des CRP-Polymorphismus rs1800947 war mit einer signifikant höheren Nachweisfrequenz von *T. denticola* assoziiert (GG = 60,1 %, CG = 62,5 %, CC = 0 %; p = 0,042). Der CRP-Polymorphismus rs1417938 zeigte beim T-Allel ein signifikant höheres subgingivales Aufkommen für die Bakterienspezies *E. corrodens* (p = 0,028) und *F. nucleatum* (p = 0,044). Wurden die p-Werte jedoch nach Bonferroni korrigiert, um zufällige Assoziationen auszuschließen, lag keine Signifikanz mehr vor. Weiterführende Untersuchungen im multivariaten Vergleich unter Einbeziehung zusätzlicher Kofaktoren zeigten, dass das männliche Geschlecht bei dem SNP rs1417938 eine signifikante Auswirkung auf das

Vorkommen von *E. corrodens* hatte, wohingegen sich das Alter der Probanden vermindernd auf die Besiedlung beider Bakterienspezies (*E. corrodens* und *F. nucleatum*) auswirkte. Das Vorkommen von *F. nucleatum* war zudem signifikant erhöht, wenn die Patienten zusätzlich an einem Diabetes mellitus erkankt waren. Letztlich konnte der CRP-Polymorphismus rs1417938 unter T-Allel-Betrachtung in dieser Arbeit als unabhängiger Risikoindikator für das Auftreten von *E. corrodens* und *F. nucleatum* bestätigt werden. Bisher fehlen jedoch vergleichbare Studien, die zur Bedeutung der genetischen Konstellation im CRP-Gen für die subgingivale Besiedlung mit *T. denticola*, *E. corrodens* und *F. nucleatum* eine Aussage treffen. Es ist zu vermuten, dass beide CRP-Polymorphismen, bei rs1800947 durch den CG-Genotyp und bei rs1417938 durch das T-Allel, die Immunantwort des Patienten so stark verändern, dass es zu einer gesteigerten Präsenz von *T. denticola* bei rs1800947 sowie zu einem erhöhtem Vorkommen von *E. corrodens* und *F. nucleatum* bei rs1417938 kommt.

5.3.3 Assoziation der CRP-Polymorphismen rs1800947 und rs1417938 zu klinischen Parametern sowie zu anamnestisch bekannten Vorerkrankungen

Mögliche Assoziationen der Polymorphismen rs1800947 und rs1417938 zu demografischen, biochemischen und zahnärztlich-klinischen Variablen konnten in dieser Arbeit nicht belegt werden. Vermutlich hatten andere Parameter (Mundhygiene, Entzündung der Gingiva, Diabetes mellitus) mehr Bedeutung auf die klinischen Daten als der von den CRP-Polymorphismen ausgehende Einfluss auf den CRP-Serumspiegel.

Bei weiteren Untersuchungen auf signifikante Zusammenhänge der CRP-Polymorphismen zur Prävalenz der anamnestisch erhobenen Vorerkrankungen konnten Assoziationen festgestellt werden. Ein signifikant erhöhtes Risiko für die Prävalenz eines Schlaganfalls/TIA wurde bei C-Allel-Trägern ($p = 0{,}042$) des SNP rs1800947 beobachtet. Dieses Ergebnis zeigt Ähnlichkeiten mit einer Studie von Morita et al. von 2006. Hierbei gab es zwei Patientengruppen: die eine Gruppe hatte noch keinen Schlaganfall erlitten, die Patienten der anderen Gruppe hatten bereits einen Schlaganfall. Nach Genotypisierung der Gruppen stellte sich die CC+CG Variante des rs1800947 als unabhängiger Risikofaktor für einen Schlaganfall dar (Morita et al., 2006). 2015 erforschte eine weitere Arbeitsgruppe den Einfluss des CRP-Polymorphismus rs1800947 auf das Vorkommen eines Schlaganfalls/TIA. Der GC-Genotyp wies eine signifikante Assoziation mit dem Risiko eines Schlaganfalls/TIA auf. Zusätzlich war dieser Genotyp (GC) auch zum Raucherstatus und zum Alkoholkonsum signifikant assoziiert (Chen et al., 2015).

Für den CRP-Polymorphismus rs1417938 ließ sich über den AA-Genotyp ($p = 0{,}032$) eine signifikante Assoziation zum gesteigerten Auftreten der peripheren arteriellen Verschlusskrankheit (PAVK) festgestellen. Bis zum jetztigen Zeitpunkt fehlen in der Literatur

andere klinische Studien, die sich mit diesem CRP-Polymorphismus und dessen Auswirkung auf die PAVK beschäftigen. In einer aktuellen Studie konnte lediglich der Einfluss des CRP-Levels, ohne spezifische Betrachtung der in dieser Arbeit untersuchten CRP-Polymorphismen, auf die Progredienz der PAVK signifikant nachgewiesen werden (Cauley et al, 2016). Doch diese Resultate lassen keine Rückschlüsse auf die Einflussnahme der genetischen Varianten im CRP-Gen auf die PAVK zu.

5.3.4 Assoziationen der CRP-Polymorphismen rs1800947 und rs1417938 zum CRP-Serumspiegel

Zwischen Individuen besteht eine große Variabilität bezüglich der Höhe des CRP-Spiegels. So kann sie durch eine unerkannte Entzündung im Körper hervorgerufen werden oder durch eine genetische Variante im CRP-Gen. Der genetische Einfluss der CRP-Polymorphismen auf die Konzentration des CRPs im Blut ist Gegenstand zahlreicher Untersuchungen und wurde auch in dieser Arbeit geprüft. Bei der Analyse aller Koronarpatienten bezüglich des CRP-Serumlevels bestätigten sich Assoziationen zur individuellen CRP-Genkonstellation. Bei dem CRP-Polymorphismus rs1800947 waren die G-Allel-Träger ($p = 0,021$) und die GG-Genotypen ($p = 0,022$) signifikant mit erhöhten CRP-Serumspiegeln assoziiert. Träger der selteneren C- assoziierten Genotyp- und Allelkonstellationen wiesen signifikant niedrigere CRP-Konzentrationen auf. Die Resultate dieser Untersuchung stehen im Einklang mit anderen klinischen Studien. So zeigten Zee et al. 2004, dass der SNP rs1800947 einen Einfluss auf die Höhe der CRP-Konzentration nimmt. Auch hier wiesen die Probanden, die Träger des selteneren C-Allels waren, niedrigere CRP-Konzentrationen auf als die GG-homozygoten Probanden, die die höchsten Konzentrationen hatten (Zee et al., 2004). Die Studie von Suk et al. untermauerte ebenfalls den Zusammenhang der Genkonstellation des rs1800947 mit der Höhe der CRP-Spiegel bei Koronarpatienten. Die höchsten Konzentrationen an CRP im Serum fanden sich bei Probanden mit dem homozygoten GG-Genotyp (Suk et al., 2005). Eine zu unserer Arbeit vergleichbare Studie von Singh et al. untersuchte 180 Patienten mit angiografisch gesicherter KHK sowie 175 Kontrollprobanden ohne KHK. Es stellte sich ebenfalls heraus, dass der SNP rs1800947 zur Höhe des CRP-Levels assoziiert war (Singh et al., 2014).

Anschließend sollte in dieser Arbeit mit Hilfe der multivariaten linearen Regression der Einfluss der beiden CRP-Polymorphismen auf den CRP-Serumspiegel unter Berücksichtigung der Kofaktoren Alter, Geschlecht, BMI, Raucherstatus, Diabetes mellitus, schwere Parodontitis und genetischer Hintergrund untersucht werden. Bei dem SNP rs1800947 wurden das G-Allel ($p = 0,006$) sowie der GG-Genotyp ($p = 0,007$) als unabhängige Risikofaktoren für eine Erhöhung des CRP-Spiegels detektiert. Auch das Auftreten einer schweren Parodontitis ($p = 0,002$)

wurde als weiterer signifikanter Risikofaktor für einen höheren CRP-Spiegel bestätigt. Bei Betrachtung der Allele stellte sich bei G-Allel-Trägern zusätzlich das männliche Geschlecht ($p = 0,025$) als unabhängiger Risikofaktor für einen erhöhten CRP-Spiegel heraus. Durch die Verdopplung der Werte unter Allelbetrachtung ist der Einfluss des männlichen Geschlechts kritisch auf die CRP-Konzentration zu betrachten, denn unter Einbeziehung des GG-Genotyps ergab sich das männliche Geschlecht ($p = 0,109$) nicht als signifikanter Risikofaktor.

Für den CRP-Polymorphismus rs1417938 konnte ebenfalls eine signifikante Assoziation zur Höhe der CRP-Konzentration hergestellt werden. Träger des A-Allels wiesen signifikant höhere Werte auf als T-Allel-Träger ($p = 0,045$). Unter Genotypbetrachtung wurden allerdings keine signifikanten Zusammenhänge zum CRP-Serumspiegel bestätigt. Wie beim SNP rs1800947 ist auch beim SNP rs1417938 die Assoziation durch die Verdopplung der Werte unter Allelbetrachtung kritisch zu sehen. Trotzdem zeigt eine weitere klinische Studie ähnliche Ergebnisse wie die hier festgestellten: KHK-Probanden mit dem AA-Genotyp hatten signifikant höhere CRP-Konzentrationen als Träger des AT- und TT-Genotypen (Suk et al., 2005). Nach multivariater linearer Regression unter Berücksichtigung der erwähnten Risikofaktoren konnte in unserer Studie für den SNP rs1417938 weder die Genotyp- noch die Allelkonstellation als unabhängiger Risikofaktor nachgewiesen werden. Dagegen stellten sich das Auftreten einer schweren Parodontitis sowie das männliche Geschlecht als unabhängige Risikofaktoren für die Höhe der CRP-Konzentration dar. Der bei beiden Polymorphismen ermittelte unabhängige Einfluss der schweren Parodontitis auf die CRP-Serumkonzentration steht im Einklang mit den in der Einleitung erwähnten Studien (siehe 1.5.2), die ebenfalls eine Assoziation zwischen der CRP-Serumkonzentration und dem Schweregrad der Parodontitis feststellten (Slade et al., 2003; Ptiphat et al., 2008; Etemadifar et al., 2015).

5.4 Diskussion der Follow-up-Ergebnisse

Genetische Varianten des CRP-Gens könnten über das körpereigene Immunsystem Effekte auf atherosklerotische Geschehnisse bewirken, sodass sich das Risiko für kardiovaskuläre Folgeereignisse erhöht. Ein weiteres Ziel dieser Arbeit war nun die Überprüfung, ob die CRP-Polymorphismen rs1800947 und rs1417938 zur Inzidenz des kombinierten Endpunkts (Myokardinfarkt, Schlaganfall/TIA, kardialer Tod) assoziiert sind und sie somit als prognostische Marker für ein kardiales Folgeereignis stehen.

5.4.1 Differenzierung des Patientenkollektivs entsprechend des kardiovaskulären Events

Alle Patienten der Querschnittsuntersuchungen wurden postalisch nach einem Jahr (52 bis 81 Wochen) kontaktiert, um in einem standardisierten Fragebogen Auskunft über kardiovaskuläre

Ereignisse und erfolgte Parodontalbehandlungen zu geben. Patienten, bei denen eine Antwort ausblieb, wurden angerufen bzw. bei Versterben der Patienten wurden die Informationen über Kliniken, behandelnde Ärzte oder über Verwandte eingeholt. Die Drop-out- Rate war mit 0,2 % sehr niedrig. Unter den 940 Patienten, bei denen zu Studienbeginn die CRP-Polymorphismen bestimmt werden konnten, gab es keinen Drop-out. Bei diesen Probanden erlitten vergleichsweise wenig Patienten (n = 68; 7,2 %) den kardiovaskulären Endpunkt. In einer anderen vergleichbaren Studie zeigten bereits 12,7 % der Patienten nach 3 Monaten ein erneutes kardiovaskuläres Ereignis (Gullestad et al., 2012). Möglicherweise wurden unsere Patienten im Laufe dieser Arbeit durch die aufwendige ärztliche/zahnärztliche Befragung bezüglich ihres Gesundheitszustandes sensibilisiert und waren deshalb motiviert ihr Gesundheitsverhalten zu verbessern. Somit ließe sich auch erklären, dass sich der Anteil der Raucher von 12,3 % zu Studienbeginn auf 8,3 % im Follow-up reduzierte und sich 6,4 % der Probanden einer Parodontaltherapie unterzogen.

5.4.2 Assoziationen der CRP-Polymorphismen rs1800947 und rs1417938 zum Auftreten erneuter kardiovaskulärer Ereignisse

Nach der Kaplan-Meier-Analyse konnten die beiden Polymorphismen weder unter Genotyp- noch unter Allelbetrachtung als signifikante Risikoindikatoren für den kombinierten Endpunkt identifiziert werden. Für den CRP-Polymorphismus rs1800947 waren tendenziell häufiger die Patienten von einem tödlichen kardiovaskulären Event betroffen, die Träger des GG-Genotyps und des G-Allels waren. In der Literatur gibt es Studien, die eine Assoziation des CRP-Polymorphismus rs1800947 zu kardiovaskulären Ereignissen zeigen. Eine Meta-Analyse aus dem Jahr 2013 untersuchte die Auswirkung des CRP-Polymorphismus rs1800947 auf die Prävalenz der KHK aus insgesamt 13 Studien. Unter Einschluss aller Ethnizitäten stellte man zunächst keinen signifikanten Zusammenhang fest. Nach Aufteilung der Probanden in ihre jeweiligen ethnischen Gruppen bestätigte sich jedoch bei Kaukasiern eine signifikante Assoziation des SNP rs1800947 zum Risiko der KHK (Li et al., 2013). In unserer Arbeit zeigte der SNP rs1800947 keinen signifikanten Zusammenhang zum kardiovaskulären Risiko, obwohl die untersuchte Kohorte ebenfalls kaukasischer Abstammung ist. Möglicherweise haben andere aktuelle Einflussfaktoren (Diabetes mellitus, BMI) den Effekt des SNPs auf kardiovaskuläre Ereignisse maskiert. Balistreri et al. prüften 2006 den Einfluss des CRP-Polymorphismus rs1800947 auf das Vorkommen eines Myokardinfarkts. Es stellte sich heraus, dass der Polymorphismus mit dem Auftreten eines akuten Myokardinfarktes assoziiert ist (Balistreri et al., 2006). Die Studiengruppe um Ghattas konnte diese Assoziation bei der Untersuchung einer anderen Kohorte nicht bestätigen (Ghattas et al., 2012). Vermutlich sind die unterschiedlichen Ergebnisse in der Auswahl der Kohorte begründet. Das Studienkollektiv von Ghattas et al. enthielt beide Ge-

schlechter, wohingegen Balistreri et al. nur Männer in ihre Studie einbezogen. Möglicherweise hat bei Kaukasiern das Geschlecht unter Betrachtung der genetischen Konstellation des CRP einen weiteren Einfluss auf die Prävalenz eines Myokardinfarktes. Die zitierten Assoziationsstudien beziehen sich auf bereits erfolgte kardiovaskuläre Events und nicht auf zukünftige Ereignisse, wie sie in dieser Arbeit durch Kaplan-Meier-Analysen ermittelt wurden.

Bei dem CRP-Polymorphismus rs1417938 hatten tendenziell Träger des A-Allels in der Kaplan-Meier-Analyse ein höheres Risiko für das Auftreten des kombinierten Endpunkts. Signifikanzen konnten allerdings nicht nachgewiesen werden. Der CRP-Polymorphismus rs1417938 ist nur sehr wenig erforscht. Es gibt keine vergleichbaren Studien zur Assoziation des Polymorphismus zu kardiovaskulären Ereignissen, die eine Wertung der hier detektierten Ergebnisse gewährleisten würden.

Auch in der multivariaten Cox-Regression unter Einbeziehung der bekannten Risikofaktoren ließen sich die genetischen Konstellationen beider CRP-Polymorphismen nicht als signifikante Prädikatoren für die Inzidenz des kombinierten Endpunkts identifizieren. Ein erniedrigter BMI und das Vorkommen eines Diabetes mellitus hingegen erwiesen sich bei beiden CRP-Polymorphismen als signifikante Risikofaktoren für das Eintreten des kombinierten Endpunkts. Bei der Analyse der Allele der beiden Polymorphismen konnte zusätzlich das Auftreten einer schweren Parodontitis als signifikanter Prädikator für die Inzidenz eines erneuten kardiovaskulären Events detektiert werden.

Das in der Literatur häufig beschriebene „Adipositas-Paradoxon“ traf also auch unter den in dieser Arbeit untersuchten Koronarpatienten auf. Definitionsgemäß ist das Adipositas-Paradoxon ein epidemiologisches Phänomen, bei dem die Überlebenschancen von übergewichtigen Patienten bei Erkrankungen wie der KHK höher sind als bei Normalgewichtigen. Es gibt zahlreiche Studien, die sich mit dem Einfluss des BMI auf kardiovaskuläre Ereignisse beschäftigen. Stellvertretend für all diese Untersuchungen, soll die Querschnittsuntersuchung der schwedischen Arbeitsgruppe um Angerås et al. aus dem Jahr 2013 näher erläutert werden. Das Patientenkollektiv bestand aus 64436 Probanden, die unter dem Verdacht eines akuten Koronarsyndroms standen. Nach angiografischer Analyse stellte man bei 54419 Patienten signifikante Koronarstenosen fest. Betreffend ihres BMIs wurden alle Probanden in verschiedene Gruppen aufgeteilt. In den folgenden 21 Monaten verstarben 3018 Patienten (4,7 %) des gesamten Patientenpools. Besonders auffällig war dabei die Korrelation zwischen Sterblichkeit und BMI. Probanden mit Untergewicht (<18,5 kg/m^2) zeigten das höchste Sterberisiko, gefolgt von den Normalgewichtigen. Die adipösen Patienten (>25 kg/m^2) hatten unterdessen die beste Prognose zu überleben (Angerås et al., 2013). Dass übergewichtige und adipöse Menschen ein

niedrigeres Sterberisiko zeigen, ist nicht nur bei der KHK belegt. Das Adipositas-Paradoxon wurde ebenfalls bei Patienten mit Diabetes mellitus, Herzinsuffizienz, schweren Nierenerkrankungen und Hypertonie beobachtet. Erklärungsansätze, weshalb die Überlebenschancen adipöser Menschen besser sind, gibt es viele, bewiesen sind sie bisher aber nicht: so soll das Fett als metabolische Energiereserve dienen, welche sich vor allem bei malignen Tumorerkrankungen mit einhergehender Kachexie positiv auswirkt. Durch die Fettreserven sollen vermehrt Lipoproteine im Blut zirkulieren, die zur verbesserten Immunabwehr und Eliminierung von Endotoxinen beitragen. Adipöse Menschen stehen im Allgemeinen auch unter einer engmaschigen und intensiven ärztlichen Betreuung, sodass gesundheitliche Unregelmäßigkeiten höchstwahrscheinlich früher auffallen und behandelt werden.

Der Diabetes mellitus beeinflusst neben der Glucose-Konzentration im Körper auch über einen längeren Zeitraum die Makro- und Mikrozirkulation. Eine Studie von Turner et al. untersuchte die Gefäße von Patienten 9 Jahre nach der Erstdiagnose „Diabetes“. Dabei wiesen 20 % der Probanden makrovaskuläre Veränderungen und 9 % Störungen bei der Mikrovaskularisation auf (Turner et al., 1996). Wenn Blutgefäße in ihrer Funktion eingeschränkt sind, steigt das Risiko für die Entstehung einer KHK. Dies bewiesen Schächinger et al.: Patienten mit geschädigten Endothel, induziert durch einen Diabetes mellitus, erlitten häufiger kardiovaskuläre Ereignisse als Patienten mit intakten Endothel (Schächinger et al., 2000). Der Diabetes mellitus gilt folglich als Risikofaktor für die Entstehung kardiovaskulärer Ereignisse, was in dieser Arbeit ebenfalls aufgezeigt werden konnte.

Durch die Verdopplung der Patientenwerte unter Allelbetrachtung in der Cox-Regression konnte die schwere Parodontitis zusätzlich als unabhängiger Risikoindikator für die Inzidenz des kombinierten Endpunkts (Myokardinfarkt, Schlaganfall/TIA, kardialer Tod) bei den beiden CRP-Polymorphismen detektiert werden. Diese Ergebnisse stehen in Einklang mit anderen Studien, welche die Assoziation der Parodontitis mit dem Auftreten kardiovaskulärer Ereignisse bereits nachgewiesen haben. So konnte kürzlich die Parodontitis als signifikanter Risikofaktor für die Progredienz des akuten Myokardinfarkts identifiziert werden (Górski et al., 2016). In einer Meta-Analyse wurde ebenfalls der Einfluss der Parodontitis auf Schlaganfälle deutlich (Leira et al., 2017).

5.5 Schlussfolgerung

In dieser Arbeit konnte die signifikante Assoziation der beiden CRP-Polymorphismen rs1800947 und rs1417938 zur Höhe der CRP-Konzentration nachgewiesen werden. Für den CRP-Polymorphismus rs1800947 konnte dieser Zusammenhang auch im multivariaten Ver-

gleich unter Einbeziehung weiterer etablierter Risikofaktoren bestätigt werden. Dass beide CRP-Polymorphismen einen Einfluss auf die Höhe der CRP-Spiegel nehmen, ließ vermuten, dass sich durch die gesteigerte CRP-Konzentration im Blut die Entzündungsbereitschaft vergrößern müsste und damit auch eine Assoziation zur Schwere der Parodontitis und zur Inzidenz neuer kardiovaskulärer Ereignisse steigen sollte. Es konnte jedoch kein signifikanter Zusammenhang zum Schweregrad der Parodontitis detektiert werden. Trotzdem war es möglich, die Assoziation beider Polymorphismen mit dem Auftreten verschiedener parodontopathogener Bakterien nachzuweisen. Auch die Assoziation beider CRP-Polymorphismen zu verschiedenen anamnestisch bekannten Vorerkrankungen der Koronarpatienten konnte in dieser Arbeit detektiert werden. Der Polymorphismus rs1800947 zeigte ein signifikant erhöhtes Risiko für das Auftreten eines Schlaganfalls/TIA. Der Polymorphismus rs1417938 hatte dagegen eine signifikante Assoziation zum Auftreten einer PAVK. Nach einjährigem Follow-up wies wider Erwarten keiner der beiden CRP-Polymorphismen eine Assoziation zum kombinierten Endpunkt (Myokardinfarkt, Schlaganfall/TIA, kardialer Tod) auf. Die SNPs rs1800947 und rs1417038 sind somit keine prognostischen Marker für erneute kardiovaskuläre Ereignisse nach einem Jahr. Möglicherweise führte die vorliegende, ausgeprägte basale Inflammation des hier untersuchten Studienkollektivs dazu, dass die Feinregulierung des CRP-Spiegels durch die untersuchten SNPs in den Hintergrund trat. Des Weiteren ist die Auswirkung eines einzelnen Polymorphismus wahrscheinlich nicht ausschlaggebend für die Entstehung parodontaler oder kardiovaskulärer Geschehnisse, viel mehr beeinflusst eine Vielzahl von Genen und deren Interaktion die Progression einer Erkrankung.

In der wissenschaftlichen Literatur gibt es wenig (rs1800947) bis gar keine (rs1417938) Anhaltspunkte über den Einfluss der genetischen Konstellation der CRP-Polymorphismen auf kardiovaskuläre Folgeereignisse. Die bisher veröffentlichten Studien, die sich mit dem Polymorphismus rs1800947 befassen, sind in ihren Ergebnissen nicht konsistent. Nur die Auswirkung der CRP-Serumkonzentration auf kardiovaskuläre Ereignisse ist sehr detailliert erforscht, wie beispielsweise anhand der Meta-Analyse von Kaptoge zu sehen ist. Hier wurde gezeigt, dass erhöhte CRP-Spiegel als unabhängige Risikofaktoren für KHK und Schlaganfall gelten und dass dadurch das Risiko für die kardiovaskuläre Mortalität erhöht wird (Kaptoge et al., 2010). Das sich an unsere Arbeit anschließende 3-Jahres-Follow-up konnte ähnliche Ergebnisse erzielen: es wurde ein signifikanter Zusammenhang zwischen dem CRP-Polymorphismen rs1800947 und der Inzidenz des kombinierten Endpunkts festgestellt. Der GG-Genotyp des SNP rs1800947 konnte dabei als unabhängiger Risikoindikator für erneute kardiovaskuläre Ereignisse detektiert werden. Des Weiteren wurde gezeigt, dass CRP-Level >5 mg/l ebenfalls signifikant mit dem kombinierten Endpunkt assoziiert sind (Schulz et al., 2016).

6 Zusammenfassung

Die Parodontitis ist eine durch mikrobielle Plaque verursachte, entzündliche Erkrankung des Zahnhalteapparates. Neben der Qualität und Quantität der subgingivalen Plaque beeinflussen auch genetische und nicht-genetische Faktoren die Pathogenese der Parodontitis. Die durch die körpereigene Immunantwort freigesetzten Entzündungsmediatoren und Proteasen veranlassen die Destruktion des Parodonts. Die koronare Herzerkrankung (KHK) und deren Folgen zählen zu den Haupttodesursachen in den Industriestaaten. Die Entstehung und Pathogenese der atherosklerotischen Plaques werden maßgeblich durch das Immunsystem und dessen modulierende Effekte in der Entzündungsreaktion beeinflusst. Bereits seit längeren wird ein biologisch plausibler Zusammenhang zwischen parodontalen und kardiovaskulären Erkrankungen vermutet. Zahlreiche Studien belegen, dass parodontopathogene Bakterien und deren Toxine über das Parodont in die Blutbahn gelangen und so die Entstehung von atherosklerotischen Plaques beeinflussen. Diverse klinische Studien zeigten auch eine Assoziation zwischen erhöhten Spiegeln von Entzündungsmarkern im Blut und dem Auftreten einer Parodontitis sowie dem Vorkommen einer KHK. Die mögliche Schnittstelle beider Erkrankungen liegt demnach in der Expression der beteiligten Entzündungsmediatoren. Es wurde für beide Krankheitsbilder ein erhöhter Serumspiegel an proinflammatorischen Zytokinen und Akute-Phase-Proteinen nachgewiesen. Daher wird dem CRP in der Entzündungsdiagnostik eine wichtige Rolle zugeschrieben. Klinische Untersuchungen haben bereits bestätigt, dass Polymorphismen im CRP-Gen einen Einfluss auf den CRP-Spiegel haben. Im Rahmen dieser Arbeit sollte das CRP als mögliche Schnittstelle zwischen Parodontitis und kardiovaskulären Ereignissen untersucht werden.

Eines der Hauptziele dieser Arbeit war die Überprüfung einer möglichen Assoziation der beiden CRP-Polymorphismen rs1800947 und rs1417938 zum Schweregrad der Parodontitis bei Koronarpatienten. Es sollte weiterhin analysiert werden, ob die beiden Polymorphismen des CRP-Gens einen Effekt auf die CRP-Serumkonzentration ausüben. Ein weiteres Ziel der Arbeit beinhaltete die Untersuchung der Assoziation beider Polymorphismen im Rahmen einer Longitudinalstudie zu kardiovaskulären Folgeereignissen. Nebenziele der Arbeit waren mögliche Auswirkungen der CRP-Polymorphismen auf klinisch-parodontologische Parameter, parodontopathogene Bakterien und anamnestisch erhobene Vorerkrankungen zu untersuchen.

In die vorliegende Studie wurden 1002 Patienten mit mindestens 50%-iger Koronarstenose aufgenommen. Die Polymorphismen des CRP-Gens konnten bei 940 dieser Patienten bestimmt werden. Darauf folgte die Einteilung der Probanden bezüglich ihres Parodontalstatus nach Kri-

terien von Tonnetti und Claffey (2005): 492 Patienten bildeten die Gruppe „keine/leichte Parodontitis“, 448 Patienten wurden der Gruppe „schwere Parodontitis“ zugeordnet. Um den Einfluss der beiden CRP-Polymorphismen rs1800947 und rs1417938 sowie den Effekt der Parodontitis auf erneute kardiovaskuläre Ereignisse zu überprüfen, schloss sich nach einem Jahr ein Follow-up der Koronarpatienten an.

Die Untersuchung der Koronarpatienten bezüglich der CRP-Polymorphismen wurde mittels PCR und anschließender Restriktions-Fragment-Längen-Analyse durchgeführt. Die statistische Auswertung der ermittelten Daten erfolgte mit dem Computerprogramm Microsoft SPSS Version 19.0.

Für die untersuchten CRP-Polymorphismen rs1800947 und rs1417938 konnten innerhalb der Querschnittsuntersuchungen keine Assoziationen zum Schweregrad der Parodontitis detektiert werden. Allerdings zeigten beide Polymorphismen signifikante Zusammenhänge zum Nachweis einzelner Bakterien in der subgingivalen Plaque. Der Genotyp CG des CRP-Polymorphismus rs1800947 war mit einer signifikant höheren Nachweisfrequenz von *T. denticola* assoziiert (GG = 60,1 %, CG = 62,5 %, CC = 0 %). Der CRP-Polymorphismus rs1417938 zeigte beim T-Allel ein signifikante Assoziationen zu einem vermehrten Aufkommen für die Bakterienspezies *E. corrodens* ($p = 0{,}028$) und *F. nucleatum* ($p = 0{,}044$) des orangenen Komplexes. Wurden die p-Werte jedoch nach Bonferoni korrigiert, um zufällige Assoziationen auszuschließen, lag keine Signifikanz mehr vor. Trotzdem konnte das T-Allel im multivariaten Vergleich unter Einbeziehung zusätzlicher Kofaktoren (Plaque-Index, Geschlecht, Rauchen, Diabetes mellitus, Alter, BMI, Parodontitis) als unabhängiger Risikoindikator für das Auftreten von *E. corrodens* und *F. nucleatum* bestätigt werden. In weiteren Untersuchungen zeigte sich bei C-Allel-Trägern des SNP rs1800947 ein signifikant höheres Risiko für das Entstehen eines Schlaganfalls/TIA. Es gibt andere klinische Studien, die mit diesem Ergebnis im Einklang stehen (Chen et al., 2015; A. Morita et al., 2006). Für den CRP-Polymorphismus rs1417938 konnte über den AA-Genotyp eine signifikante Assoziation zum Auftreten der peripheren arteriellen Verschlusskrankheit (PAVK) aufgezeigt werden. Hier fehlen jedoch vergleichbare Studien. Weiterhin konnten signifikante Assoziationen der beiden CRP-Polymorphismen zum CRP-Serumspiegel festgestellt werden. Bei dem CRP-Polymorphismus rs1800947 waren die G-Allel-Träger und die GG-Genotypen signifikant mit erhöhten CRP-Serumspiegeln assoziiert. Träger der selteneren C-assoziierten Genotyp- und Allelkonstellationen zeigten dagegen signifikant niedrigere CRP-Konzentrationen. Auch in anderen Studien wurde eine Assoziation zwischen dem SNP rs1800947 und der CRP-Konzentration belegt (Suk et al., 2005; Zee et al., 2004; Singh et al., 2014). Mit Hilfe der multivariaten linearen Regression wurde das G-Allel sowie der GG-

Genotyp des CRP-Polymorphismus rs1800947 als unabhängige Risikofaktoren für eine Erhöhung des CRP-Spiegels detektiert. Für den CRP-Polymorphismus rs1417938 konnte ebenfalls im univariaten Vergleich eine signifikante Assoziation zur Höhe der CRP-Konzentration hergestellt werden. Träger des A-Allels wiesen signifikant höhere Werte auf als T-Allel-Träger. Eine weitere klinische Untersuchung zeigte ähnlich Ergebnisse: Probanden des AA-Genotyps waren hier signifikant mit dem CRP-Serumlevel assoziiert (Suk et al., 2005). In der 1-Jahres-Follow-up-Studie bestätigten sich beide CRP-Polymorphismen nicht als signifikante Risikofaktoren für das Auftreten erneuter kardiovaskulärer Ereignisse. Hinsichtlich des CRP-Polymorphismus rs1800947 waren tendenziell die Patienten von einem tödlichen Folgeereignis betroffen, die Träger des GG-Genotyps und des G-Allels waren. Bei dem CRP-Polymorphismus rs1417938 hatten tendenziell Träger des A-Allels in der Kaplan-Meier-Analyse ein erhöhtes Risiko für das Auftreten des kombinierten Endpunkts.

7 Literaturverzeichnis

Ainamo, J., & Bay, I. (1975). Problems and proposals for recording gingivitis and plaque. *International Dental Journal*, *25*(4), 229–35. Retrieved from http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1058834

Albandar, J. M. (2002). Global risk factors and risk indicators for periodontal diseases. *Periodontology 2000*, *29*, 177–206. Retrieved from http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12102708

Angerås, O., Albertsson, P., Karason, K., Råmunddal, T., Matejka, G., James, S., … Omerovic, E. (2013). Evidence for obesity paradox in patients with acute coronary syndromes: a report from the Swedish Coronary Angiography and Angioplasty Registry. *European Heart Journal*, *34*(5), 345–53. http://doi.org/10.1093/eurheartj/ehs217

Arowojolu, M. O., Dosumu, E. B., Onyeaso, C. O., & Lawoyin, J. O. (2002). Effects of some risk factors and immunodeficiencies on the periodontium--a review. *African Journal of Medicine and Medical Sciences*, *31*(3), 195–9. Retrieved from http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12751556

Asai, K., Yamori, M., Yamazaki, T., Yamaguchi, a., Takahashi, K., Sekine, a., … Yamaguchi, a. (2014). Tooth Loss and Atherosclerosis: The Nagahama Study. *Journal of Dental Research*, *94*(3 Suppl), 52S–58S. http://doi.org/10.1177/0022034514559127

Baldi, D., Izzotti, A., Bonica, P., Pera, P., & Pulliero, A. (2009). Degenerative periodontal-diseases and oral osteonecrosis: the role of gene-environment interactions. *Mutation Research*, *667*(1-2), 118–31. http://doi.org/10.1016/j.mrfmmm.2008.11.005

Balistreri, C. R., Vasto, S., Listì, F., Grimaldi, M. P., Lio, D., Colonna-Romano, G., … Candore, G. (2006). Association between +1059G/C CRP polymorphism and acute myocardial infarction in a cohort of patients from Sicily: a pilot study. *Annals of the New York Academy of Sciences*, *1067*(1), 276–81. http://doi.org/10.1196/annals.1354.036

Bascones-Martínez, A., Muñoz-Corcuera, M., & Bascones-Ilundain, J. (2015). [Diabetes and periodontitis: A bidirectional relationship]. *Medicina Clinica*, *145*(1), 31–5. http://doi.org/10.1016/j.medcli.2014.07.019

Bashan, E., Harper, R., Bi, Y., & Hodish, I. (2015). A novel approach to optimise glycaemic control in insulin users, *BMJ Case Reports*, 1–7. http://doi.org/10.1136/bcr-2015-209356

Bassuk, S. S., Rifai, N., & Ridker, P. M. (2004). High-sensitivity C-reactive protein. *Current Problems in Cardiology*, *29*(8), 439–493. http://doi.org/10.1016/j.cpcardiol.2004.03.004

Buono, C., Come, C. E., Witztum, J. L., Maguire, G. F., Connelly, P. W., Carroll, M., & Lichtman, A. H. (2002). Influence of C3 deficiency on atherosclerosis. *Circulation*, *105*(25), 3025–3031. http://doi.org/10.1161/01.CIR.0000019584.04929.83

Caldwell, D. E., Atuku, E., Wilkie, D. C., Wivcharuk, K. P., Karthikeyan, S., Korber, D. R., … Wolfaardt, G. M. (1997). Germ theory vs. community theory in understanding and controlling the proliferation of biofilms. *Advances in Dental Research*, *11*(1), 4–13. Retrieved from http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9524437

Camelo-Castillo, A. J., Mira, A., Pico, A., Nibali, L., Henderson, B., Donos, N., … Anna, M. (2015). Subgingival microbiota in health compared to periodontitis and the influence of smoking. *Frontiers in Microbiology*, *6*(February), 1–12. http://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00119

Carlson, C. S., Aldred, S. F., Lee, P. K., Tracy, R. P., Schwartz, S. M., Rieder, M., … Reiner, A. P. (2005). Polymorphisms within the C-reactive protein (CRP) promoter region are associated with plasma CRP levels. *American Journal of Human Genetics*, *77*(1), 64–77. http://doi.org/10.1086/431366

Carrillo-de-Albornoz, A., Figuero, E., Herrera, D., & Bascones-Martínez, A. (2010). Gingival changes during pregnancy: II. Influence of hormonal variations on the subgingival biofilm. *Journal of Clinical Periodontology*, *37*(3), 230–40. http://doi.org/10.1111/j.1600-051X.2009.01514.x

Cauley, J. A., Kassem, A. M., Lane, N. E., Thorson, S., & Osteoporotic Fractures in Men (MrOS) Study Research Group. (2016). Prevalent peripheral arterial disease and inflammatory burden. *BMC Geriatrics*, *16*(1), 213. http://doi.org/10.1186/s12877-016-0389-9

Chandy, S., Joseph, K., Sankaranarayanan, A., Issac, A., Babu, G., Wilson, B., & Joseph, J. (2017). Evaluation of C-Reactive Protein and Fibrinogen in Patients with Chronic and Aggressive Periodontitis: A Clinico-Biochemical Study. *Journal of Clinical and Diagnostic Research : JCDR*, *11*(3), ZC41–ZC45. http://doi.org/10.7860/JCDR/2017/23100.9552

Chen, Z., Yu, D., Xu, Z., Li, S., Li, X., Li, J., & Yang, X. (2015). C-reactive protein gene polymorphisms and gene-environment interactions in ischaemic stroke. *Neurological Research*, *37*(11), 979–984. http://doi.org/10.1179/1743132815Y.0000000053

Cochran, D. L. (2008). Inflammation and Bone Loss in Periodontal Disease. *Journal of Periodontology*, *79*(8s), 1569–1576. http://doi.org/10.1902/jop.2008.080233

Crawford, D. C., Sanders, C. L., Qin, X., Smith, J. D., Shephard, C., Wong, M., … Nickerson, D. A. (2006). Genetic variation is associated with C-reactive protein levels in the Third National Health and Nutrition Examination Survey. *Circulation*, *114*(23), 2458–2465. http://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.106.615740

Danesh, J., Whincup, P., Walker, M., Lennon, L., Thomson, A., Appleby, P., … Pepys, M. B. (2000). Low grade inflammation and coronary heart disease: prospective study and updated meta-analyses. *BMJ (Clinical Research Ed.)*, *321*(7255), 199–204. http://doi.org/10.1136/bmj.321.7255.199

Deshpande, R. G., Khan, M. B., & Attardo Genco, C. (1998). Invasion of Aortic and Heart Endothelial Cells by Porphyromonas gingivalis. *Infect. Immun.*, *66*(11), 5337–5343. Retrieved from http://iai.asm.org/cgi/content/long/66/11/5337

Dietrich, T., Jimenez, M., Kaye, E. A. K., Vokonas, P. S., & Garcia, R. I. (2008). Age-dependent associations between chronic periodontitis/edentulism and risk of coronary heart disease. *Circulation*, *117*(13), 1668–1674. http://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.107.711507

Dong, Q., & Wright, J. R. (1996). Expression of C-reactive protein by alveolar macrophages. *Journal of Immunology (Baltimore, Md. : 1950)*, *156*(12), 4815–20. Retrieved from http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8648129

Drexler, H., & Hornig, B. (1999). Endothelial Dysfunction in Human Disease. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*, *31*(1), 51–60. http://doi.org/10.1006/jmcc.1998.0843

Dukic-Stefanovic, S., Gasic-Milenkovic, J., Deuther-Conrad, W., & Münch, G. (2003). Signal transduction pathways in mouse microglia N-11 cells activated by advanced glycation endproducts (AGEs). *Journal of Neurochemistry*, *87*(1), 44–55. http://doi.org/10.1046/j.1471-4159.2003.01988.x

Ebersole, J. L., Singer, R. E., Steffensen, B., Filloon, T., & Kornman, K. S. (1993). Inflammatory mediators and immunoglobulins in GCF from healthy, gingivitis and periodontitis sites. *Journal of Periodontal Research*, *28*(6 Pt 2), 543–6. Retrieved from http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8263728

Etemadifar, R., Konarizadeh, S., Zarei, A., & Farshidi, H. (2015). Relationship between periodontal status and C-reactive protein and interleuckin-6 levels among atherosclerotic patients in Bandar Abbas, Iran 2014. *Electronic Physician* (ISSN : 2008-5842), 1010–1016. http://doi.org/10.14661/2015.1010-1016

Fichtlscherer, S., & Zeiher, A. M. (2000). Endothelial dysfunction in acute coronary syndromes: association with elevated C-reactive protein levels. *Annals of Medicine*, *32*(8), 515–8. http://doi.org/10.3109/07853890008998830

Fisher, M. A., Borgnakke, W. S. & Taylor, G. W. (2011). Periodontal disease as a risk marker in coronary heart disease and chronic kidney disease. *NIH Public Access*, *19*(6), 519–526. http://doi.org/10.1097/MNH.0b013e32833eda38.Periodontal

Ford, P., Gemmell, E., Walker, P., West, M., Cullinan, M., & Seymour, G. (2005). Characterization of heat shock protein-specific T cells in atherosclerosis. *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology*, *12*(2), 259–67. http://doi.org/10.1128/CDLI.12.2.259-267.2005

Fowler, J. H., & Christakis, N. A. (2008). Dynamic spread of happiness in a large social network: longitudinal analysis over 20 years in the Framingham Heart Study. *Bmj*, *337*, a2338–a2346. http://doi.org/10.1136/bmj.a2338

Friedewald, V. E., Kornman, K. S., Beck, J. D., Genco, R., Goldfine, A., Libby, P., … Roberts, W. C. (2009). The American Journal of Cardiology and Journal of Periodontology Editors' Consensus: periodontitis and atherosclerotic cardiovascular disease. *The American Journal of Cardiology*, *104*(1), 59–68. http://doi.org/10.1016/j.amjcard.2009.05.002

Gabay, C., & Kushner, I. (1999). Acute-Phase Proteins and Other Systemic Responses to Inflammation. *New England Journal of Medicine*, *340*(6), 448–454. http://doi.org/10.1056/NEJM199902113400607

Geerts, S. O., Nys, M., De, M. P., Charpentier, J., Albert, A., Legrand, V., & Rompen, E. H. (2002). Systemic release of endotoxins induced by gentle mastication: association with periodontitis severity. *Journal of Periodontology*, *73*(1), 73–8. http://doi.org/10.1902/jop.2002.73.1.73

Genco, R. J. (1996). Current view of risk factors for periodontal diseases. *Journal of Periodontology*, *67*(10 Suppl), 1041–9. http://doi.org/10.1902/jop.1996.67.10.1041

Ghattas, M. H., Abo-Elmatty, D. M., & El-Eraki, A. Z. (2012). C-reactive protein 1059G/C gene polymorphism, C-reactive protein levels and acute myocardial infarction. *Journal of Cardiovascular Medicine*, *13*(11), 716–719. http://doi.org/10.2459/JCM.0b013e3283577170

Giacona, M. B., Papapanou, P. N., Lamster, I. B., Rong, L. L., D'Agati, V. D., Schmidt, A. M., & Lalla, E. (2004). Porphyromonas gingivalis induces its uptake by human macrophages and promotes foam cell formation in vitro. *FEMS Microbiology Letters*, *241*(1), 95–101. http://doi.org/10.1016/j.femsle.2004.10.009

Gilbert, G. H., Shelton, B. J., Chavers, L. S., & Bradford, E. H. (2002). Predicting tooth loss during a population-based study: role of attachment level in the presence of other dental conditions. *Journal of Periodontology*, *73*(12), 1427–36. http://doi.org/10.1902/jop.2002.73.12.1427

Glass, C. K., & Witztum, J. L. (2001). Atherosclerosis. *Cell*, *104*(4), 503–516. http://doi.org/10.1016/S0092-8674(01)00238-0

Górski, B., Nargiełło, E., Ganowicz, E., Opolski, G., & Górska, R. (2016). The Association Between Dental Status and Risk of Acute Myocardial Infarction Among Poles: Case-control Study. *Advances in Clinical and Experimental Medicine*, *25*(5), 861–870. http://doi.org/10.17219/acem/58866

Grau, A. J., Becher, H., Ziegler, C. M., Lichy, C., Buggle, F., Kaiser, C., … Dörfer, C. E. (2004). Periodontal disease as a risk factor for ischemic stroke. *Stroke; a Journal of Cerebral Circulation*, *35*(2), 496–501. http://doi.org/10.1161/01.STR.0000110789.20526.9D

Graves, D. T., Liu, R., & Oates, T. W. (2007). Diabetes-enhanced inflammation and apoptosis: impact on periodontal pathosis. *Periodontology 2000*, *45*(1), 128–37. http://doi.org/10.1111/j.1600-0757.2007.00219.x

Gullestad, L., Ueland, T., Kjekshus, J., Nymo, S. H., Hulthe, J., Muntendam, P., … CORONA Study Group. (2012). Galectin-3 predicts response to statin therapy in the Controlled Rosuvastatin Multinational Trial in Heart Failure (CORONA). *European Heart Journal*, *33*(18), 2290–2296. http://doi.org/10.1093/eurheartj/ehs077

Guo, Y., Nguyen, K. A., & Potempa, J. (2010). Dichotomy of gingipains action as virulence factors: From cleaving substrates with the precision of a surgeon's knife to a meat chopper-like brutal degradation of proteins. *Periodontology 2000*, *54*(1), 15–44. http://doi.org/10.1111/j.1600-0757.2010.00377.x

Haba, D., Teslaru, S., Ungureanu, D., Hodorog, D., Alecu, C., Benghiac, A. G., … Iordache, C. (2011). Evaluation of serum and gingival crevicular fluid C-reactive protein and IL-6 levels in patients with periodontitis and transient ischemic attacks. *Romanian Journal of Morphology and Embryology = Revue Roumaine de Morphologie et Embryologie*, *52*(4), 1243–7. Retrieved from http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22203929

Haffajee, A. D., & Socransky, S. S. (2009). Relation of body mass index, periodontitis and *Tannerella forsythia*. *Journal of Clinical Periodontology*, *36*(2), 89–99. http://doi.org/10.1111/j.1600-051X.2008.01356.x

Hajishengallis, G. (2011). Complement and Periodontitis, *NIH Public Access. 80*(12), 1992–2001. http://doi.org/10.1016/j.bcp.2010.06.017.Complement

Hanioka, T., Tanaka, M., Ojima, M., Takaya, K., Matsumori, Y., & Shizukuishi, S. (2000). Oxygen Sufficiency in the Gingiva of Smokers and Non-Smokers With Periodontal Disease. *Journal of Periodontology*, *71*(12), 1846–1851. http://doi.org/10.1902/jop.2000.71.12.1846

Hannas, A. R., Pereira, J. C., Granjeiro, J. M., & Tjäderhane, L. (2007). The role of matrix metalloproteinases in the oral environment. *Acta Odontologica Scandinavica*, *65*(1), 1–13. http://doi.org/10.1080/00016350600963640

Helfand, M., Buckley, D. I., Freeman, M., Fu, R., Rogers, K., Fleming, C., & Humphrey, L. L. (2009). Emerging risk factors for coronary heart disease: a summary of systematic reviews conducted for the U.S. Preventive Services Task Force. *Annals of Internal Medicine*, *151*(7), 496–507. Retrieved from http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19805772

Henderson, B., & Poole, S. (1996). Bacterial Modulins : a Novel Class of Virulence Factors Which Cause Host Tissue Pathology by Inducing Cytokine Synthesis, *60*(2), 316–341.

Hiltunen, T. P., & Ylä-Herttuala, S. (1998). Expression of lipoprotein receptors in atherosclerotic lesions. *Atherosclerosis*, *137*, S81–S88. http://doi.org/10.1016/S0021-9150(97)00307-9

Holt, S. C., & Ebersole, J. L. (2005). Porphyromonas gingivalis, Treponema denticola, and Tannerella forsythia: the "red complex", a prototype polybacterial pathogenic consortium in periodontitis. *Periodontology 2000*, *38*(1), 72–122. http://doi.org/10.1111/j.1600-0757.2005.00113.x

Humphrey, L. L., Fu, R., Buckley, D. I., Freeman, M., & Helfand, M. (2008). Periodontal disease and coronary heart disease incidence: A systematic review and meta-analysis. *Journal of General Internal Medicine*, *23*(12), 2079–2086. http://doi.org/10.1007/s11606-008-0787-6

Inagaki, K., Kurosu, Y., Sakano, M., Yamamoto, G., Kikuchi, T., Noguchi, T., … Hachiya, Y. (2007). [Oral osteoporosis: a review and its dental implications]. *Clinical Calcium*, *17*(2), 157–63. http://doi.org/CliCa070215716

Irshad, M., van der Reijden, W. A., Crielaard, W., & Laine, M. L. (2012). In Vitro Invasion and Survival of Porphyromonas gingivalis in Gingival Fibroblasts; Role of the Capsule. *Archivum Immunologiae et Therapiae Experimentalis*, *60*(6), 469–476. http://doi.org/10.1007/s00005-012-0196-8

Jordan, R. A., Bodechtel, C., Hertrampf, K., Hoffmann, T., Kocher, T., Nitschke, I., … Investigators, V. S. (2015). The Fifth German Oral Health Study (Fünfte Deutsche Mundgesundheitsstudie , DMS V) – rationale , design , and methods, 1–12.

Kaptoge, S., Di Angelantonio, E., Lowe, G., Pepys, M. B., Thompson, S. G., Collins, R., & Danesh, J. (2010). C-reactive protein concentration and risk of coronary heart disease, stroke, and mortality: an individual participant meta-analysis. *Lancet (London, England)*, *375*(9709), 132–40. http://doi.org/10.1016/S0140-6736(09)61717-7

Kathiresan, S. (2006). Contribution of Clinical Correlates and 13 C-Reactive Protein Gene Polymorphisms to Interindividual Variability in Serum C-Reactive Protein Level. *Circulation*, *113*(11), 1415–1423. http://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.105.591271

Kerrigan, S. W. (2015). The expanding field of platelet-bacterial interconnections. *Platelets*, *26*(4), 293–301. http://doi.org/10.3109/09537104.2014.997690

Khader, Y. S., Albashaireh, Z. S. M., & Alomari, M. A. (2004). Periodontal Diseases and the Risk of Coronary Heart and Cerebrovascular Diseases: A Meta-Analysis. *Journal of* Periodontology, 75(8), 1046–1053. http://doi.org/10.1902/jop.2004.75.8.1046

Kinane, D. F., Shiba, H., & Hart, T. C. (2005). The genetic basis of periodontitis. *Periodontology 2000*, *39*(1), 91–117. http://doi.org/10.1111/j.1600-0757.2005.00118.x

Kolenbrander, P. E., & London, J. (1993). Adhere today, here tomorrow: Oral bacterial adherence. *Journal of Bacteriology*, *175*(11), 3247–3252.

Könönen, E., & Müller, H.-P. (2014). Microbiology of aggressive periodontitis. Periodontology *2000*, *65*(1), 46–78. http://doi.org/10.1111/prd.12016

Koziel, J., Karim, A. Y., Przybyszewska, K., Ksiazek, M., Rapala-Kozik, M., Nguyen, K. A., & Potempa, J. (2010). Proteolytic inactivation of LL-37 by karilysin, a novel virulence mechanism of Tannerella forsythia. *Journal of Innate Immunity*, *2*(3), 288–293. http://doi.org/10.1159/000281881

Lagrand, W. K., Visser, C. A., Hermens, W. T., Niessen, H. W., Verheugt, F. W., Wolbink, G. J., & Hack, C. E. (1999). C-reactive protein as a cardiovascular risk factor: more than an epiphenomenon? *Circulation*, *100*(1), 96–102. Retrieved from http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10393687

Laine, M. L., Loos, B. G., & Crielaard, W. (2010). Gene polymorphisms in chronic periodontitis. *International Journal of Dentistry*, *2010*, 324719. http://doi.org/10.1155/2010/324719

Lamster, I. B., & Grbic, J. T. (1995). Diagnosis of periodontal disease based on analysis of the host response. *Periodontology 2000*, *7*(1), 83–99. http://doi.org/10.1111/j.1600-0757.1995.tb00038.x

Leira, Y., Seoane, J., Blanco, M., Rodríguez-Yáñez, M., Takkouche, B., Blanco, J., & Castillo, J. (2017). Association between periodontitis and ischemic stroke: a systematic review and meta-analysis. *European Journal of Epidemiology*, *32*(1), 43–53. http://doi.org/10.1007/s10654-016-0170-6

Li, C., Guo, B., Guo, Z., Yang, J., Zheng, H. & Wang, A. (2013). Association between C-reactive protein gene +1059 G/C polymorphism and the risk of coronary heart disease: a meta-analysis. *Chin Med J*, *126*(24), 4780–4785. http://doi.org/10.3760/cma.j.issn.0366-6999.20130965

Libby, P. (2001). What have we learned about the biology of atherosclerosis? The role of inflammation. *The American Journal of Cardiology*, *88*(7B), 3J–6J. Retrieved from http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11595192

Libby, P., & Ridker, P. M. (1999). Novel inflammatory markers of coronary risk: theory versus practice [editorial; comment]. *Circulation*, *100*(11), 1148–1150.

Listgarten, M. A. (1988). The role of dental plaque in gingivitis and periodontitis. *Journal of Clinical Periodontology*, *15*(8), 485–7. Retrieved from http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3053789

Liu, J., Meng, S., Ding, Y., & Wu, Y. (2010). [Relationship between C-reactive protein gene polymorphaisms and chronic periodontitis]. *Zhonghua Kou Qiang Yi Xue Za Zhi = Zhonghua Kouqiang Yixue Zazhi = Chinese Journal of Stomatology*, *45*(6), 331–6. Retrieved from http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21163007

Loesche, W. J., & Lopatin, D. E. (1998). Interactions between periodontal disease, medical diseases and immunity in the older individual. *Periodontology 2000*, *16*, 80–105. Retrieved from http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10337306

Lusis, A. (2000). Atherosclerosis. *Nature*, *407*(6801), 233–241. http://doi.org/10.1038/35025203.Atherosclerosis

MacGregor, A. J., Gallimore, J. R., Spector, T. D., & Pepys, M. B. (2004). Genetic Effects on Baseline Values of C-Reactive Protein and Serum Amyloid A Protein: A Comparison of Monozygotic and Dizygotic Twins. *Clinical Chemistry*, *50*(1), 130–134. http://doi.org/10.1373/clinchem.2003.028258

Marsh, P. D. (2004). Dental plaque as a microbial biofilm. *Caries Research*, *38*(3), 204–11. http://doi.org/10.1159/000077756

Mattila, K. J., Nieminen, M. S., Valtonen, V. V, Rasi, V. P., Kesäniemi, Y. a, Syrjälä, S. L., … Jokinen, M. J. (1989). Association between dental health and acute myocardial infarction. *BMJ (Clinical Research Ed.)*, *298*(6676), 779–81. http://doi.org/10.1136/bmj.298.6676.779

Mazer, S. P., & Rabbani, L. E. (2004). Evidence for C-reactive protein's role in (CRP) vascular disease: atherothrombosis, immuno-regulation and CRP. *Journal of Thrombosis and Thrombolysis*, *17*(2), 95–105. http://doi.org/10.1023/B:THRO.0000037664.77460.d8

Michalowicz, B. S. (1994). Genetic and Heritable Risk Factors in Periodontal Disease. *Journal of Periodontology*, *65*(5s), 479–488. http://doi.org/10.1902/jop.1994.65.5s.479

Michalowicz, B. S., Aeppli, D., Virag, J. G., Klump, D. G., Hinrichs, E., Segal, N. L., … Pihlstrom, B. L. (1991). Periodontal Findings in Adult Twins. *Journal of Periodontology*, *62*(5), 293–299. http://doi.org/10.1902/jop.1991.62.5.293

Morita, A., Nakayama, T., & Soma, M. (2006). Association study between C-reactive protein genes and ischemic stroke in Japanese subjects. *American Journal of Hypertension*, *19*(6), 593–600. http://doi.org/10.1016/j.amjhyper.2005.11.015

Morita, I., Okamoto, Y., Yoshii, S., Nakagaki, H., Mizuno, K., Sheiham, A., & Sabbah, W. (2011). Five-year incidence of periodontal disease is related to body mass index. *Journal of Dental Research*, *90*(2), 199–202. http://doi.org/10.1177/0022034510382548

Mustapha, I. Z., Debrey, S., Oladubu, M., & Ugarte, R. (2007). Markers of systemic bacterial exposure in periodontal disease and cardiovascular disease risk: a systematic review and meta-analysis. *Journal of Periodontology*, *78*(12), 2289–302. http://doi.org/10.1902/jop.2007.070140

Ohki, T., Itabashi, Y., Kohno, T., Yoshizawa, A., Nishikubo, S., Watanabe, S., … Ishihara, K. (2012). Detection of periodontal bacteria in thrombi of patients with acute myocardial infarction by polymerase chain reaction. *American Heart Journal*, *163*(2), 164–7. http://doi.org/10.1016/j.ahj.2011.10.012

Page, R. C., & Kornman, K. S. (1997). The pathogenesis of human periodontitis: an introduction. *Periodontology 2000*, *14*, 9–11. Retrieved from http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9567963

Palmer, R. M., Wilson, R. F., Hasan, A. S., & Scott, D. A. (2005). Mechanisms of action of environmental factors--tobacco smoking. *Journal of Clinical Periodontology*, *32 Suppl 6*(s6), 180–95. http://doi.org/10.1111/j.1600-051X.2005.00786.x

Paraskevas, S., Huizinga, J. D., & Loos, B. G. (2008). A systematic review and meta-analyses on C-reactive protein in relation to periodontitis. *Journal of Clinical Periodontology*, *35*(4), 277–90. http://doi.org/10.1111/j.1600-051X.2007.01173.x

Pitiphat, W., Savetsilp, W., & Wara-Aswapati, N. (2008). C-reactive protein associated with periodontitis in a Thai population. *Journal of Clinical Periodontology*, *35*(2), 120–5. http://doi.org/10.1111/j.1600-051X.2007.01179.x

Preshaw, P. M., Foster, N., & Taylor, J. J. (2007). Cross-susceptibility between periodontal disease and type 2 diabetes mellitus: an immunobiological perspective. *Periodontology 2000*, *45*(1), 138–57. http://doi.org/10.1111/j.1600-0757.2007.00221.x

Ranney, R. R. (1991). Diagnosis of periodontal diseases. *Advances in Dental Research*, *5*, 21–36. Retrieved from http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1819278

Rescala, B., Rosalem, W., Teles, R. P., Fischer, R. G., Haffajee, A. D., Socransky, S. S., … Figueredo, C. M. (2010). Immunologic and microbiologic profiles of chronic and aggressive periodontitis subjects. *Journal of Periodontology*, *81*(9), 1308–16. http://doi.org/10.1902/jop.2010.090643

Ridker, P. M., Hennekens, C. H., Buring, J. E., & Rifai, N. (2000). C-Reactive Protein and Other Markers of Inflammation in the Prediction of Cardiovascular Disease in Women. *New England Journal of Medicine*, *342*(12), 836–843. http://doi.org/10.1056/NEJM200003233421202

Ridker, P. M., Rifai, N., Pfeffer, M., Sacks, F. M., Lepage, S., & Braunwald, E. (2000). Elevation of tumor necrosis factor-alpha and increased risk of recurrent coronary events after myocardial infarction. *Circulation*, *101*(18), 2149–2153. http://doi.org/10.1161/01.CIR.101.18.2149

Ridker, P. M., Rifai, N., Stampfer, M. J., & Hennekens, C. H. (2002). Plasma concentration of interleukin-6 and the risk of future myocardial infarction among apparently healthy men. *Circulation*, 1767–1772.

Roberts, R. (2008). A customized genetic approach to the number one killer: coronary artery disease. *Current Opinion in Cardiology*, *23*(6), 629–33. http://doi.org/10.1097/HCO.0b013e32830e6b4e

Roberts, R., & Stewart, A. F. R. (2012). Genes and coronary artery disease: Where are we? *Journal of the American College of Cardiology*, *60*(18), 1715–1721. http://doi.org/10.1016/j.jacc.2011.12.062

Ross, R. (1999). Atherosclerosis is an inflammatory disease. *American Heart Journal*, *138* (5 Pt 2), S419–20. Retrieved from http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10539839

Roth, G. A., Moser, B., Huang, S. J., Brandt, J. S., Huang, Y., Papapanou, P. N., … Lalla, E. (2006). Infection with a periodontal pathogen induces procoagulant effects in human aortic endothelial cells. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*, *4*(10), 2256–2261. http://doi.org/10.1111/j.1538-7836.2006.02128.x

Rozlog, L. A., Kiecolt-Glaser, J. K., Marucha, P. T., Sheridan, J. F., & Glaser, R. (1999). Stress and immunity: implications for viral disease and wound healing. *Journal of Periodontology*, *70*(7), 786–92. http://doi.org/10.1902/jop.1999.70.7.786

Rydén, L., Buhlin, K., Ekstrand, E., de Faire, U., Gustafsson, A., Holmer, J., … Klinge, B. (2016). Periodontitis Increases the Risk of a First Myocardial Infarction: A Report From the PAROKRANK Study. *Circulation*, *133*(6), CIRCULATIONAHA.115.020324. http://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.115.020324

Salvi, G. E., Carollo-Bittel, B., & Lang, N. P. (2008). Effects of diabetes mellitus on periodontal and peri-implant conditions: update on associations and risks. *Journal of Clinical Periodontology*, *35*(8 Suppl), 398–409. http://doi.org/10.1111/j.1600-051X.2008.01282.x

Salvi, G. E., Lawrence, H. P., Offenbacher, S., & Beck, J. D. (1997). Influence of risk factors on the pathogenesis of periodontitis. *Periodontology 2000*, *14*, 173–201. Retrieved from http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9567971

Schächinger, V., Britten, M. B., & Zeiher, a M. (2000). Prognostic impact of coronary vasodilator dysfunction on adverse long-term outcome of coronary heart disease. *Circulation*, *101*(16), 1899–1906. http://doi.org/10.1161/01.CIR.101.16.1899

Schäfer, A. S., Richter, G. M., Groessner-Schreiber, B., Noack, B., Nothnagel, M., El Mokhtari, N. E., … Schreiber, S. (2009). Identification of a shared genetic susceptibility locus for coronary heart disease and periodontitis. *PLoS Genetics*, *5*(2), 1–8. http://doi.org/10.1371/journal.pgen.1000378

Schäfer, A. S., Jepsen, S., & Loos, B. G. (2011). Periodontal genetics: a decade of genetic association studies mandates better study designs. *Journal of Clinical Periodontology*, *38*(2), 103–7. http://doi.org/10.1111/j.1600-051X.2010.01653.x

Schulz, S., Lüdike, H., Lierath, M., Schlitt, A., Werdan, K., Hofmann, B., … Reichert, S. (2016). C-reactive protein levels and genetic variants of CRP as prognostic markers for combined cardiovascular endpoint (cardiovascular death, death from stroke, myocardial infarction, and stroke/TIA). *Cytokine*, *88*, 71–76. http://doi.org/10.1016/j.cyto.2016.08.021

Silness, J., & Loe, H. (1964). Periodontal Disease in Pregnancy. II. Correlation between Oral Hygiene and Periodontal Condition. *Acta Odontologica Scandinavica*, *22*, 121–35. Retrieved from http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14158464

Silva-Boghossian, C. M., Martins, R., Paula, A., & Colombo, V. (2012). Subgingival microbial profiles of generalized aggressive and chronic periodontal diseases, *Archives of Biology 57,* 973-980. http://doi.org/10.1016/j.archoralbio.2012.02.003

Singh, P., Singh, M., Nagpal, H. S., Kaur, T., Khullar, S., Kaur, G., … Mastana, S. (2014). A novel haplotype within C-reactive protein gene influences CRP levels and coronary heart disease risk in Northwest Indians. *Molecular Biology Reports*, *41*(9), 5851–62. http://doi.org/10.1007/s11033-014-3459-0

Slade, G. D., Ghezzi, E. M., Heiss, G., Beck, J. D., Riche, E., & Offenbacher, S. (2003). Relationship Between Periodontal Disease and C-Reactive Protein Among Adults in the Atherosclerosis Risk in Communities Study. *Archives of Internal Medicine*, *163*(10), 1172. http://doi.org/10.1001/archinte.163.10.1172

Socransky, S. S. (1979). Criteria for the infectious agents in dental caries and periodontal disease. *Journal of Clinical Periodontology*, *6*(7), 16–21. Retrieved from http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/295292

Socransky, S. S., Haffajee, A. D., Cugini, M. A., Smith, C., & Kent, R. L. (1998). Microbial complexes in subgingival plaque. *Journal of Clinical Periodontology*, *25*(2), 134–44. Retrieved from http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9495612

Socransky, S. S., Haffajee, A. D., Smith, C., & Dibart, S. (1991). Relation of counts of microbial species to clinical status at the sampled site. *Journal of Clinical Periodontology*, *18*(10), 766–75. Retrieved from http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1661305

Suk, H. J., Ridker, P. M., Cook, N. R., & Zee, R. Y. L. (2005). Relation of polymorphism within the C-reactive protein gene and plasma CRP levels. *Atherosclerosis*, *178*(1), 139–45. http://doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2004.07.033

Szalai, A. J., Agrawal, A., Greenhough, T. J., & Volanakis, J. E. (1997). C-reactive protein. *Immunologic Research*, *16*(2), 127–136. http://doi.org/10.1007/BF02786357

Tardy, Y., Resnick, N., Nagel, T., Gimbrone, M. A., & Dewey, C. F. (1997). Shear Stress Gradients Remodel Endothelial Monolayers in Vitro via a Cell Proliferation-Migration-Loss Cycle. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, *17*(11), 3102–3106. http://doi.org/10.1161/01.ATV.17.11.3102

Tonetti, M. S., Claffey, N., & European Workshop in Periodontology group C. (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. *Journal of Clinical Periodontology*, *32 Suppl 6*(s6), 210–3. http://doi.org/10.1111/j.1600-051X.2005.00822.x

Tunstall-Pedoe, H., Kuulasmaa, K., Amouyel, P., Arveiler, D., Rajakangas, a. M. A. M., & Pajak, a. (1994). Myocardial infarction and coronary deaths in the World Health Organization MONICA Project. Registration procedures, event rates, and case-fatality rates in 38 populations from 21 countries in four continents. *Circulation*, *90*(1), 583–612. http://doi.org/10.1161/01.CIR.90.1.583

Turner, R., Cull, C., & Holman, R. (1996). United Kingdom Prospective Diabetes Study 17: a 9-year update of a randomized, controlled trial on the effect of improved metabolic control on complications in non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Annals of Internal Medicine*, *124*(1 Pt 2), 136–45. Retrieved from http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8554206

Volanakis, J. E. (2001). Human C-reactive protein: expression, structure, and function. *Molecular Immunology*, *38*(2-3), 189–97. Retrieved from http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11532280

Wohlfeil, M., Scharf, S., Siegelin, Y., Schacher, B., Oremek, G. M., Sauer-Eppel, H., … Eickholz, P. (2012). Increased systemic elastase and C-reactive protein in aggressive periodontitis (CLOI-D-00160R2). *Clinical Oral Investigations*, *16*(4), 1199–207. http://doi.org/10.1007/s00784-011-0627-7

Ximénez-Fyvie, L. A., Haffajee, A. D., & Socransky, S. S. (2000). Comparison of the microbiota of supra- and subgingival plaque in health and periodontitis. *Journal of Clinical Periodontology*, *27*(9), 648–57. Retrieved from http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10983598

Xu, S., Song, M., Xiong, Y., Liu, X., He, Y., & Qin, Z. (2017). The association between periodontal disease and the risk of myocardial infarction : a pooled analysis of observational studies. *BMC Cardiovascular Disorders*, DOI 10.1186/s12872-017-0480-y http://doi.org/10.1186/s12872-017-0480-y

Yasojima, K., Schwab, C., McGeer, E. G., & McGeer, P. L. (2001). Generation of C-reactive protein and complement components in atherosclerotic plaques. *The American Journal of Pathology*, *158*(3), 1039–51. http://doi.org/10.1016/S0002-9440(10)64051-5

Yoshie, H., Kobayashi, T., Tai, H., & Galicia, J. C. (2007). The role of genetic polymorphisms in periodontitis. *Periodontology 2000*, *43*(1), 102–132. http://doi.org/10.1111/j.1600-0757.2006.00164.x

Zee, R. Y. L., Hegener, H. H., Cook, N. R., & Ridker, P. M. (2004). C-reactive protein gene polymorphisms and the risk of venous thromboembolism: A haplotype-based analysis. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*, *2*(8), 1240–1243. http://doi.org/10.1111/j.1538-7836.2004.00773.x

Zieman, S. J., Kass, D. A., Hopkins, J., & Institutions, M. (2004). Advanced Glycation End Product Cross-Linking : Pathophysiologic Role and Therapeutic Target in Cardiovascular Disease. www.lejaq.com, ID 3223.

8 Thesen

1. Parodontale und kardiovaskuläre Erkrankungen sind entzündliche Erkrankungen multifaktorieller Genese. Seit langem wird eine gegenseitige Beeinflussung beider Krankheitsbilder vermutet.
2. Durch die Existenz gemeinsamer Risikofaktoren (Nikotinabusus, Diabetes mellitus, Adipositas), die Rolle der Entzündungsmediatoren (Interleukin 6, CRP) sowie den Einfluss genetischer Faktoren ergibt sich eine Schnittstelle beider Erkrankungen. Die in dieser Arbeit untersuchten CRP-Polymorphismen rs1800947 und rs1417938 könnten einen möglichen Ansatzpunkt für die Plausibilität des postulierten Zusammenhangs darstellen.
3. Die beiden Polymorphismen des CRP rs1800947 und rs1417938 beeinflussten die Höhe des CRP-Serumspiegels bei kardiovaskulär erkrankten Patienten. Das G-Allel und der GG-Genotyp des Polymorphismus rs1800947 waren mit signifikant höheren CRP-Serumkonzentrationen assoziiert, wohingegen Träger der C-assoziierten Genotyp- und Allelkonstellation mit signifikant niedrigeren CRP-Serumwerten assoziiert waren. Nach multivariater Betrachtung bestätigten sich G-Allel-Träger und Träger des GG-Genotyps als unabhängige Risikoindikatoren für die Erhöhung des CRP-Spiegels. Bei dem Polymorphismus rs1417938 waren Träger des A-Allels signifikant mit erhöhten CRP-Serumkonzentrationen assoziiert.
4. Die vorliegende Studie überprüfte den Einfluss der beiden CRP-Polymorphismen rs1800947 und rs1417938 auf den Schweregrad der Parodontitis bei kardiovaskulär vorbelasteten Patienten. Weder die Genotyp- noch die Allelkonstellation der beiden Polymorphismen waren mit dem Auftreten einer schweren Parodontitis assoziiert.
5. Im einjährigen Follow-up stellten sich die beiden CRP-Polymorphismen rs1800947 und rs1417938 nicht als prognostische Marker für das Auftreten kardiovaskulärer Folgeereignisse (kombinierter Endpunkt: Myokardinfarkt, Schlaganfall/TIA und kardialer Tod) dar. Tendenziell waren die Koronarpatienten mit dem GG-Genotyp oder dem G-Allel des SNP rs1800947 häufiger vom kombinierten Endpunkt betroffen. Für den SNP rs1417938 galt die Tendenz für Träger der A-assoziierten Genotyp- und Allelkonstellation.
6. Signifikante Risikofaktoren für das Eintreten eines erneuten kardiovaskulären Events bei den untersuchten Koronarpatienten waren im multivariaten Vergleich der Diabetes mellitus und ein erniedrigter BMI.

7. Dass die vorliegende Studie keine nachweisbaren Effekte der CRP-Polymorphismen rs1800947 und rs1417938 auf kardiovaskuläre Ereignisse nach einem Jahr detektieren konnte, liegt vermutlich an der kurzen Zeitspanne zwischen der Basisuntersuchung und dem Zeitpunkt des Follow-ups. Das sich zeitlich an diese Arbeit angeschlossene 3-Jahres-Follow-up identifizierte bei der untersuchten Kohorte den CRP-Polymorphismus rs1800947 als unabhängigen Risikofaktor für kardiovaskuläre Ereignisse (Schulz et al., 2016).
8. Das T-Allel des CRP-Polymorphismus rs1417938 konnte im multivariaten Vergleich als unabhängiger Risikoindikator für eine subgingivale Besiedlung mit den Bakterienspezies *E. corrodens* und *F. nucleatum* identifiziert werden. Der Polymorphismus rs1800947 war dagegen nicht signifikant zur Prävalenz eines parodontalen Leitkeims assoziiert.
9. Der CRP-Polymorphismus rs1800947 zeigt bei C-Allel-Trägern der Koronarpatienten eine signifikante Assoziation zu einem anamnestisch bekannten Myokardinfarkt. Der AA-Genotyp des SNPs rs1417938 war signifikant mit dem Auftreten der peripheren arteriellen Verschlusskrankheit (PAVK) assoziiert.

Tabellarischer Lebenslauf

Angaben zur Person

Name	Henriette Lüdike
Geburtsdatum	15.05.1987
Geburtsort	Halle (Saale)
Staatsangehörigkeit	deutsch
Kontaktdaten	E-Mail: h.luedike@gmx.de
	Mobil: 0176 20451634

Akademische Ausbildung

2014	Approbation als Zahnärztin
2009 – 2014	Studium der Zahnmedizin an der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg Abschluss: Staatsexamen
2006 – 2009	Studium der Biologie an der Universität Hamburg Abschluss: Bachelor of Science
1997 – 2006	Gymnasium „Latina August Hermann Francke“ in Halle (Saale)

Beruflicher Werdegang

seit 2017	Angestellte Zahnärztin in der Zahnarztpraxis Dr. Steffen Lindner in Halle (Saale)
2016	Vorbereitungsassistentin in der Zahnarztpraxis Dr. Steffen Lindner in Halle (Saale)
2015	Vorbereitungsassistentin in der Zahnarztpraxis Dr. Christoph Erbring in Halle (Saale)

Halle (Saale), den 17.12.2018 Henriette Lüdike

Eidesstattliche Erklärung

Ich erkläre an Eides statt, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig und nur unter Verwendung der angegebenen Hilfsmittel und Quellen angefertigt habe. Die aus anderen Quellen direkt oder indirekt entnommenen Daten sind unter Angabe der Quelle aufgelistet.

Halle (Saale), den 17.12.2018 Henriette Lüdike

Erklärung über frühere Promotionsversuche

Ich erkläre, dass weder diese noch eine andere Arbeit von mir im Rahmen eines Dissertationsverfahrens einer anderen Fakultät oder Universität vorgelegt worden ist.

Halle (Saale), den 17.12.2018 Henriette Lüdike

Danksagung

Mein besonderer Dank gilt Herrn apl. Prof. Dr. med. dent. Stefan Reichert für die Überlassung dieses Themas und die fortwährende Betreuung bei der Erstellung dieser Arbeit. Ich danke ihm für die kritische und konstruktive Durchsicht des Manuskripts sowie für die wohlwollende Förderung während der Zusammenarbeit.

Darüber hinaus möchte ich vielmals Frau PD Dr. rer. nat. Susanne Schulz für ihre Hilfe und die intensive Betreuung bei der Durchführung des molekulargenetischen und statistischen Teils der Arbeit danken. Ihre wertvollen Hinweise und Ratschläge sowie die fachliche Unterstützung waren während der Erstellung meiner Dissertation sehr hilfreich.

Herrn apl. Prof. Dr. med. Axel Schlitt danke ich für die Idee der Hauptstudie sowie die Überlassung der internistischen Daten ohne die diese Arbeit nicht zustande gekommen wäre.

Des Weiteren gilt mein Dank Herrn Prof. Dr. med. dent. H.-G. Schaller für die Möglichkeit an der Klinik für Zahnerhaltungskunde und Parodontologie promovieren zu dürfen.

Außerdem möchte ich mich bei den anderen Doktoranden bedanken, die die Patienten zu Studienbeginn untersucht und die aufwendigen Follow-up-Daten erhoben haben.

Nicht zuletzt danke ich meiner Familie, die mir stets den nötigen Rückhalt gegeben hat und mich in Phasen des Stillstands zum Weiterführen dieser Arbeit motiviert hat.