

Medizinische Fakultät der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg

**Zytokinpolymorphismen als Bindeglied zwischen parodontalen
und rheumatischen Erkrankungen**

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 Natalie Alexandra Pütz

geboren am 17.05.1992 in Koblenz

Betreuerin/Betreuer: PD Dr. rer.nat., rer. medic. habil. Susanne Schulz

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

Gutachter:

1. Prof. H.-G. Schaller (Halle)

2. Prof. D. Ziebolz (Leipzig)

08.10.2019

13.05.2020

Referat

Bereits seit langem wird ein Zusammenhang zwischen Parodontitis (PA) und entzündlichen systemischen Erkrankungen, wie der rheumatoiden Arthritis (RA) vermutet. Als Schnittstelle beider Erkrankungen werden u. a. gemeinsame genetische Risikofaktoren diskutiert. Das Ziel der Studie bestand darin Polymorphismen in inflammatorischen Kandidatengenen auf mögliche Assoziationen zur PA und RA zu evaluieren. Als Nebenziel galt es Unterschiede in demographischen Parametern und fünf verschiedenen parodontalen Markerkeimen zu analysieren.

In dieser Fall-Kontroll-Studie wurden 101 RA-Patienten, die unterschiedlich schwer parodontal erkrankt waren [Diagnose nach Tonetti und Claffey (2005)], mit 100 Kontrollen ohne RA und ohne schwerer PA verglichen. Genotyp-, Allel- und Haplotypkonstellationen von 22 SNPs in 13 pro- und anti-inflammatorischen Zytokinen wurden mittels CTS-PCR-SSP Tray-Kit (PCR mit sequenzspezifischen Primern) der Universität Heidelberg bestimmt. Der molekularbiologische Nachweis subgingivaler parodontaler Markerkeime erfolgte mittels micro-IDent®-Test (Hain Diagnostica, Nehren).

Das G-Allel des SNP rs1801275 im IL4-Rezeptor α ($p = 0,043$) und das G-Allel des rs361525 im TNF- α ($p = 0,005$) waren in bivariaten Analysen mit dem Auftreten von RA assoziiert. In der multivariaten Auswertung wurden diese genetischen Varianten nicht als unabhängige Risikofaktoren bestätigt. Innerhalb der RA-Gruppe war das A-Allel des IFN- γ -SNPs rs2430561 zu schweren Parodontitiden assoziiert ($p = 0,039$). In der binären logistischen Regression wurde das A-Allel als unabhängiger Risikoindikator für die Komorbidität von RA und PA bestätigt ($p = 0,024$). Die Analyse demographischer und klinischer Parameter bestätigte, dass sich unter den RA-Patienten im Vergleich zur Kontroll-Gruppe vermehrt Frauen ($p = 0,002$) und derzeitige/ehemalige Raucher ($p = 0,005$) befanden. Bei RA-Patienten wurde ein signifikant erhöhtes Vorkommen von *Porphyromonas gingivalis* (*P.g.*) ($p = 0,001$) nachgewiesen.

Die Ergebnisse der vorliegenden Studie unterstreichen die Bedeutung einer Assoziation von genetischen Varianten in den proinflammatorischen Zytokinen TNF- α und IFN- γ sowie dem IL4-Rezeptor- α zum Auftreten einer PA bzw. RA. In multivariaten Analysen wurde das A-Allel des IFN- γ SNPs rs2430561 als mögliches genetisches Bindeglied zwischen RA und PA identifiziert. Es wird bekräftigt, dass Nikotinkonsum ein Risikofaktor für RA darstellt. *P.g.* könnte als parodontaler Leitkeim in der Pathogenese der RA fungieren. Basierend auf diesen Ergebnissen könnten Patienten mit einem erhöhten Risiko an PA und RA zu erkranken bereits frühzeitig vor Etablierung der Erkrankung, identifiziert und betreut werden. Die Bedeutung der interdisziplinären Zusammenarbeit zwischen Parodontologen und Rheumatologen wird hervorgehoben.

Inhaltsverzeichnis

| | | |
|----------|---|-----------|
| 1 | Einleitung | 1 |
| 1.1 | Einführung..... | 1 |
| 1.2 | Parodontitis | 2 |
| 1.2.1 | Definition und Epidemiologie..... | 2 |
| 1.2.2 | Ätiologie | 3 |
| 1.2.3 | Pathogenese..... | 5 |
| 1.3 | Rheumatoide Arthritis..... | 8 |
| 1.3.1 | Definition und Epidemiologie..... | 8 |
| 1.3.2 | Ätiologie | 9 |
| 1.3.3 | Pathogenese..... | 10 |
| 1.4 | Pathogenetische Zusammenhänge zwischen Parodontitis (PA) und Rheumatoider Arthritis (RA) | 11 |
| 1.5 | Gemeinsame genetische Risikofaktoren für PA und RA..... | 15 |
| 1.5.1 | Gemeinsame Assoziationen zu HLA-Merkmalen..... | 15 |
| 1.5.2 | Zytokinpolymorphismen, die in der Pathogenese beider Erkrankungen von Bedeutung sein könnten..... | 15 |
| 2 | Zielstellung | 19 |
| 2.1 | Hauptziele | 19 |
| 2.2 | Nebenziele | 19 |
| 2.3 | Arbeitshypothesen | 20 |
| 3 | Material und Methodik | 21 |
| 3.1 | Rekrutierung der Patienten | 21 |
| 3.2 | Untersuchungsgruppen..... | 21 |
| 3.3 | Zahnärztliche Untersuchung | 23 |
| 3.4 | Molekularbiologischer Nachweis subgingivaler parodontaler Markerkeime (micro-IDent®-Test) | 24 |
| 3.4.1 | Intraorale Probenentnahme mittels micro-IDent®-Test..... | 25 |
| 3.4.2 | Isolation bakterieller DNA mittels QIAamp® DNA Mini-Kits | 25 |
| 3.4.3 | Amplifikation bakterieller DNA mittels Polymerasekettenreaktion | 25 |
| 3.4.4 | Hybridisierung oraler parodontaler Markerkeime..... | 26 |
| 3.5 | Zytokingenotypisierung mittels CTS-PCR-SSP Tray-Kit (Heidelberg).. | 27 |
| 3.5.1 | DNA-Isolation mittels QIAamp® DNA Blood Mini-Kits | 27 |
| 3.5.2 | Vervielfältigung humaner DNA mittels Polymerasekettenreaktion | 27 |
| 3.5.3 | Nachweis der genomischen DNA im Agarosegel | 27 |
| 3.5.4 | Zytokingenotypisierung mittels CTS-PCR-SSP Tray-Kit (Heidelberg).. | 28 |

| | | |
|----------|--|-----------|
| 3.6 | Statistische Methoden..... | 30 |
| 4 | Ergebnisse..... | 31 |
| 4.1 | Auswertungsstrategie..... | 31 |
| 4.2 | RA-Gruppe im Vergleich zur Kontroll-Gruppe ohne RA..... | 31 |
| 4.2.1 | Vergleich demographischer und klinischer Parameter bei RA-Patienten (RA-Gruppe) und Kontroll-Probanden ohne RA (Kontroll-Gruppe) | 31 |
| 4.2.2 | Vergleich der subgingivalen Keimbesiedlung bei RA-Patienten (RA-Gruppe) und Kontroll-Probanden ohne RA (Kontroll-Gruppe) | 32 |
| 4.2.3 | Genotyp- und Allelverteilung der im CTS-Kit untersuchten Zytokinpolymorphismen bei RA-Patienten (RA-Gruppe) im Vergleich zu Kontroll-Probanden ohne RA (Kontroll-Gruppe) | 33 |
| 4.3 | Ergebnisse innerhalb der RA-Gruppe in Abhängigkeit vom Schweregrad der Parodontitis..... | 36 |
| 4.3.1 | Vergleich demographischer und klinischer Parameter innerhalb der RA-Gruppe (schwere Parodontitis vs. milde/keine Parodontitis)..... | 36 |
| 4.3.2 | Vergleich der subgingivalen Keimbesiedlung innerhalb der RA-Gruppe (schwere PA vs. milde/keine PA) | 36 |
| 4.3.3 | Genotyp-, Allel- und Haplotypverteilung der im CTS-Kit untersuchten Zytokinpolymorphismen innerhalb der RA-Gruppe in Abhängigkeit von der parodontalen Diagnose | 37 |
| 4.4 | Zusammenfassung der Ergebnisse..... | 41 |
| 4.4.1 | RA-Gruppe im Vergleich zur Kontroll-Gruppe..... | 41 |
| 4.4.2 | Innerhalb der RA-Gruppe Vergleich in Abhängigkeit vom parodontalen Status..... | 42 |
| 5 | Diskussion..... | 43 |
| 5.1 | Studiendesign | 43 |
| 5.2 | Methode..... | 44 |
| 5.2.1 | Rekrutierung der Patienten/Probanden (Ein-, Ausschlusskriterien) | 44 |
| 5.2.2 | Zahnärztliche Untersuchung | 46 |
| 5.2.3 | Molekularbiologischer Nachweis subgingivaler parodontaler Markerkeime | 46 |
| 5.2.4 | Zytokingenotypisierung mittels CTS-PCR-SSP Tray-Kit (Heidelberg).. | 47 |
| 5.3 | Diskussion der Ergebnisse..... | 47 |
| 5.3.1 | RA-Gruppe im Vergleich zur Kontroll-Gruppe..... | 48 |
| 5.3.2 | Vergleich der untersuchten SNPs innerhalb der RA-Gruppe in Abhängigkeit von der parodontalen Diagnose | 51 |
| 6 | Zusammenfassung | 54 |
| 7 | Literatur | 56 |
| 8 | Thesen | 71 |

| | | |
|----------|---|-----------|
| 9 | Tabellenanlagen | 72 |
| | Eidesstattliche Erklärung (Selbstständigkeitserklärung) | VII |
| | Erklärung über frühere Promotionsversuche | VIII |

Abkürzungsverzeichnis

| | |
|------------|---|
| A.a. | <i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i> |
| ACPA | Anti-citrullinierten-Protein-Antikörpern |
| AGs | Antigene |
| Ag | Antigen |
| Ak | Antikörper |
| AMPs | antimikrobielle Peptide |
| ANRIL | <i>engl.: antisense non-coding RNA in the INK4 locus</i> |
| APC | antigenpräsentierende Zelle |
| API | approximaler Plaque-Index |
| BOP | <i>engl.: bleeding on probing</i> |
| bzw. | beziehungsweise |
| ca. | circa |
| CAL | klinischer Attachmentverlust (<i>engl.: clinical attachment loss</i>) |
| CALmax | maximaler approximaler Attachmentverlust |
| CCP-AK | Anti-cyclisch-citrullinierte Peptid-Antikörper |
| ChP | chronische Parodontitis |
| CPI3 | <i>engl.: Community Periodontal Index 3</i> |
| DAMPs | <i>engl.: Damage-Associated Molecular Pattern</i> |
| DAS28-Wert | <i>engl.: Disease Activity Score 28</i> |
| DMARDs | <i>engl.: Disease Modifying Anti-Rheumatic Drugs</i> |
| DMS | Deutsche Mundgesundheitsstudie |
| DNA | Desoxyribonukleinsäure |
| EBV | Eppstein-Barr-Virus |
| ELAM-1 | <i>engl.: Endothelial cell leukocyte adhesion molecule-1</i> |
| etc. | <i>lat.: et cetera</i> |
| fMLP | f-Met-Leu-Phe (bakterielles Peptid) |
| GCF | gingivale Sulkusflüssigkeit |

| | |
|---------------|--|
| GWAS | Genomweite Assoziationsstudien |
| HLA-DR | <i>engl.: Human Leukocyte Antigen – DR-Isotype</i> |
| ICAM-1 | <i>engl.: Intercellular Adhesion Molecule 1</i> |
| IFN- γ | Interferon-Gamma |
| IL-1 α | Interleukin-1-alpha |
| IL-1 β | Interleukin-1-beta |
| IL-1-R | Interleukin-1-Rezeptor |
| IL-1-RA | Interleukin-1-Rezeptor-alpha |
| IL-2 | Interleukin-2 |
| IL-4 | Interleukin-4 |
| IL-4Ra | Interleukin-4-Rezeptor-alpha |
| IL-6 | Interleukin-6 |
| IL-10 | Interleukin-10 |
| IL-12 | Interleukin-12 |
| JAK | Januskinase |
| KFO | Kieferorthopädie |
| LPS | Lipopolysaccharid |
| LtxA | Leukotoxin A |
| MCP | <i>engl.: Methyl-accepting chemotaxis protein</i> |
| Mibi | mikrobiell |
| ml | Milliliter |
| min | Minute |
| mind. | mindestens |
| mm | Millimeter |
| MMP | Matrixmetalloproteinase |
| n | Anzahl |
| nm | Nanometer |
| NPY | Neuropeptid Y |
| NSARs | nichtsteroidale Antirheumatika (Synonym: NSARDs) |

| | |
|---------------|---|
| OK | Oberkiefer |
| PA | Parodontitis |
| PAD | Peptidylarginindeiminase |
| PCR | Polymerase-Kettenreaktion (<i>engl.: polymerase chain reaction</i>) |
| PD | <i>engl.: pocket depth</i> (Sondierungstiefe) |
| PPAD | <i>Porphyromonas gingivalis</i> Peptidylarginindeiminase |
| <i>P.g.</i> | <i>Porphyromonas gingivalis</i> |
| <i>P.i.</i> | <i>Prevotella intermedia</i> |
| PLG | Plasminogen |
| PMN | Polymorphkernige neutrophile Granulozyten (<i>engl. Polymorphnuclear neutrophil</i>) |
| RA | Rheumatoide Arthritis/Rheumatoidarthritis |
| RANKL | <i>engl.: Receptor Activator of NF-κB Ligand</i> |
| RF | Rheumafaktor |
| sec | Sekunde |
| SNP | <i>engl.: Single Nucleotide Polymorphism</i> |
| STAT4 | <i>engl.: Signal Transducers and Activators of Transcription 4</i> |
| TBE | Tris-Borat-EDTA ((Tris-(hydroxymethyl)-aminomethan)-Borat-Ethylendiamintetraessigsäure) |
| TCR | T-Zell-Rezeptor |
| <i>T.d.</i> | <i>Treponema denticola</i> |
| <i>T.f.</i> | <i>Tannerella forsythia</i> |
| TGF- β | <i>engl.: Transforming growth factor beta</i> |
| TIMP | <i>engl.: Tissue Inhibitors of MMP</i> |
| TNF- α | Tumor necrosis factor alpha |
| u. a. | unter anderem |
| UV | Ultraviolettstrahlung |
| vs. | <i>lat.: versus</i> |
| μ l | Mikroliter |
| z. B. | zum Beispiel |

1 Einleitung

1.1 Einführung

Die Parodontitis (PA) zählt weltweit zu den häufigsten chronischen Infektionserkrankungen (Suerbaum et al., 2016) und wird deshalb zu den Volkskrankheiten gezählt. Die RA weist eine Prävalenz von 0,5-1,0 % der weltweiten Bevölkerung (Silman und Pearson, 2002; Ma et al., 2014) auf und ist die häufigste chronische Infektionserkrankung der Gelenke. Bislang sind die Ätiologie und Pathogenese der beiden Erkrankungen trotz intensiver Forschungsbemühungen nicht vollständig geklärt. In epidemiologischen Studien gibt es Hinweise auf eine Wechselbeziehung zwischen beiden Erkrankungen (Araújo et al., 2015; Chou et al., 2015). Ursachen könnten gemeinsame Risikofaktoren sein (Alter, Rauchen, psychosozialer Stress, genetische Faktoren), aber auch die Möglichkeit, dass PA und/oder parodontopathogene Bakterien Autoimmunreaktionen bei RA triggern könnten (Smit et al., 2015; Olsen et al., 2018; Scher und Abramson, 2013).

In der Pathogenese beider Erkrankungen scheint die Balance zwischen der Freisetzung pro- und antiinflammatorischer Zytokine in Reaktion auf bestimmte Pathogene gestört zu sein (Pers et al., 2008; Mayer et al., 2009; Kobayashi et al., 2014). Sowohl die RA als auch die PA gehen mit einem massiven Anstieg proinflammatorisch wirksamer Zytokine, wie z. B. Interleukin-1 (IL-1), Interleukin-6 (IL-6) und Tumornekrosefaktor-alpha (TNF- α), einher (Mercado et al., 2003; Havemose-Poulsen et al., 2005; Kurgan et al., 2016), die letztendlich die Zerstörung von Bindegewebe und Knochen befördern. Die Freisetzung pro- und antiinflammatorischer Zytokine unterliegt dabei teilweise genetischer Kontrolle. Es sind eine Reihe von Genpolymorphismen bekannt, die mit einer vermehrten oder auch verminderten Zytokinfreisetzung assoziiert sind (Havemose-Poulsen et al., 2005; Kokkonen et al., 2010; Bartova et al., 2014; Jahid et al., 2018;). Deshalb war es Ziel der vorliegenden Studie zu untersuchen, ob es Polymorphismen in Genen der Immunantwort gibt, die prädiktiv sowohl für die RA als auch die PA sind. Würden diese Zusammenhänge nachgewiesen, so könnte das Wissen um die Wechselwirkung beider Erkrankungen vertieft werden und möglicherweise durch die Definition von Bioindikatoren Risikopatienten schneller erkannt sowie therapiert werden.

1.2 Parodontitis

1.2.1 Definition und Epidemiologie

Die PA ist eine chronisch entzündliche Erkrankung multifaktorieller Genese, die mit einem Verlust von parodontalem Kollagen-, Knochen-, und Attachmentgewebe einhergeht.

Die Deutsche Mundgesundheitsstudie IV und V definierten die PA nach der CDC/AAP-Klassifikation in die drei unterschiedlichen Schweregrade mild, moderat und schwer (Center for Disease Control and Prevention/American Academy of Periodontology). Klassifiziert wird die PA durch Attachmentverlust (CAL) sowie Sondertiefen (PD = pocket depth [engl.]). Die nachfolgende Tabelle 1 soll eine Übersicht zur genauen Definition geben:

Tabelle 1: CDC/AAP-Klassifikation adaptiert nach Page und Eke (2007)

| Schweregrad PA | Klinische Parameter | | |
|----------------|---|------|-------------------------------------|
| | CAL | | PD |
| schwere PA | ≥ 2 proximale Flächen mit CAL ≥ 6 mm (nicht am selben Zahn) | und | ≥ 1 proximale Flächen mit PD ≥ 5 mm |
| moderate PA | ≥ 2 proximale Flächen mit CAL ≥ 4 mm (nicht am selben Zahn) | oder | ≥ 2 proximale Flächen mit PD ≥ 5 mm |
| milde/keine PA | weder moderate noch schwere PA | | |

PA = Parodontitis, CAL = klinischer Attachmentverlust, PD = Sondierungstiefe

Laut der im Jahr 2016 publizierten fünften Deutschen Mundgesundheitsstudie (DMS V) weisen 43,4 % der jüngeren Erwachsenen (35-44-Jährige) eine moderate PA auf. Verglichen mit der DMS IV (2005) ist ein Rückgang von 10,2 % zu erkennen (DMS IV: 53,6% vs. DMS V: 43,4%). Schwere Parodontalerkrankungen sind laut DMS V prozentual weniger vorzufinden als moderate bzw. milde/keine PA. Demnach liegt eine Halbierung der schweren Parodontalerkrankung bei jüngeren Erwachsenen vor (DMS IV: 17,4% vs. DMS V: 8,2%). (Tabelle 2)

Bei jüngeren Senioren (65- bis 74-Jährige) zeigte sich in der DMS V im Vergleich zur DMS IV ebenfalls ein Rückgang der moderaten PA (DMS IV: 47,9 % vs. DMS V: 44,8%). Auch in dieser Altersklasse konnte eine Halbierung des Anteils von an schwerer PA Erkrankter vorgefunden werden (DMS IV: 44,1 % vs. DMS V: 19,8%). (Tabelle 2)

Tabelle 2: Parodontalerkrankungen (CDC-/AAP-Fallklassifikation) bei jüngeren Erwachsenen und Senioren adaptiert nach Cholmakow-Bodechtel et al. (2016)

| Altersklasse | Schweregrad PA (%) | | | | | |
|---|--------------------|--------|----------|--------|---------|--------|
| | keine/ milde | | moderate | | schwere | |
| | DMS IV | DMS V | DMS IV | DMS V | DMS IV | DMS V |
| Jüngere Erwachsene (35 bis 44-Jährige) | 29,0 | 48,4 ↑ | 53,6 | 43,4 ↓ | 17,4 | 8,2 ↓ |
| Jüngere Senioren (65 bis 74-Jährige) | 47,9 | 35,3 ↓ | 47,9 | 44,8 ↓ | 44,1 | 19,8 ↓ |

PA = Parodontitis, DMS IV = vierte Deutsche Mundgesundheitsstudie (2005); DMS V = fünfte Deutsche Mundgesundheitsstudie (2016)

Zusammenfassend zeigt die DMS V einen allgemein rückläufigen Trend in der Prävalenz der moderaten und schweren PA. Der Behandlungsbedarf ist jedoch weiterhin sehr hoch und lenkt besonderes Augenmerk auf die Verschiebung der Erkrankung ins höhere Lebensalter (Cholmakow-Bodechtel et al., 2016).

1.2.2 Ätiologie

Die Krankheitsentstehung der PA ist ein sehr komplexes Zusammenspiel unterschiedlicher Faktoren und bis dato noch nicht vollständig geklärt. Page und Kornman beschrieben die Ätiologie und Pathogenese der PA im Jahr 1997 anhand eines Schemas (Abbildung 1), das in jüngster Zeit von Meyle und Chapple (2015) modifiziert wurde (Abbildung 2).

Dabei betrachteten Page und Kornman (1997) die PA in ihrem Modell folgendermaßen: Eine im Biofilm zu findende Überrepräsentation parodontopathogener Mikroorganismen, im Vergleich zu sogenannten Parodontstabilisatoren (Dysbiose), ist für die Ätiologie der PA entscheidend. Ihre Pathogenese und phänotypische Ausprägung wird durch genetische und nicht genetische Risikofaktoren mitbestimmt. Diese Faktoren beeinflussen sowohl die Zusammensetzung des Biofilms als auch die individuelle Wirtsantwort auf die mikrobielle Plaque. Dabei gelingt es dem menschlichen Körper nicht, die Bildung eines „gesunden“ Biofilms zu befördern. Stattdessen führt die Immunreaktion durch die Freisetzung von proinflammatorisch wirksamen Zytokinen, Prostaglandinen, Matrixmetalloproteasen (MMPs) und anderen Entzündungsmediatoren zu einer Zerstörung von parodontalem Gewebe. Gerät die physiologische Gewebemöostase mit einer Verschiebung Richtung Destruktion aus dem Gleichgewicht, so manifestieren sich die klinischen Zeichen einer PA.

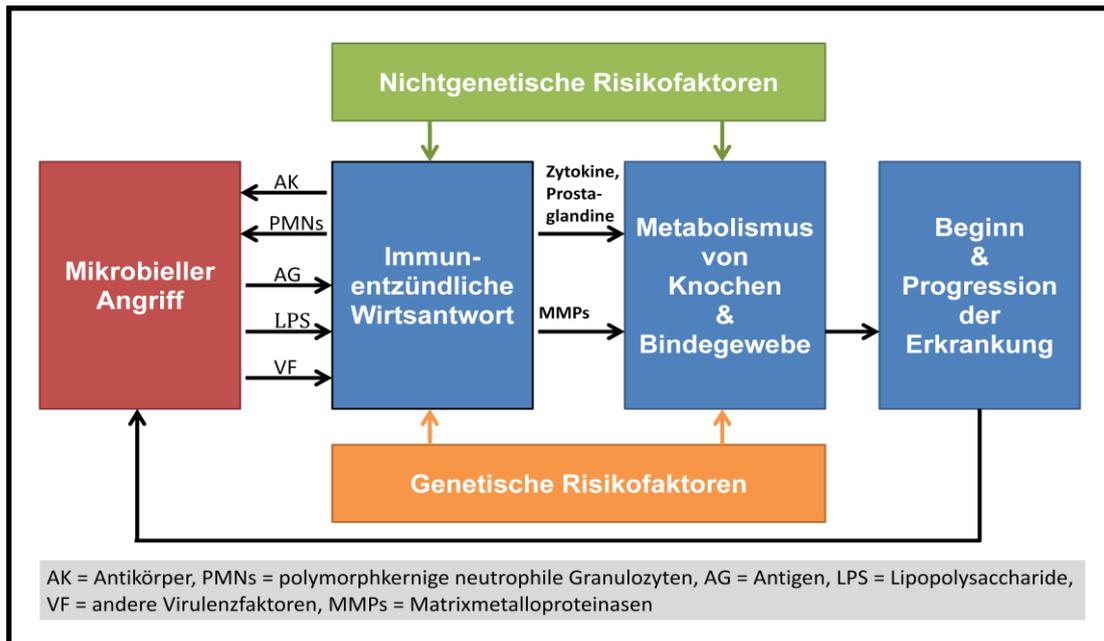


Abbildung 1: Ätiologie-/Pathogenese-Schema adaptiert nach Page und Kornman (1997)

Um die Entstehung und Präventionsmaßnahmen der PA nach heutigem Stand der Wissenschaft besser zu verstehen, ist die Betrachtung des klinisch gesunden Parodonts und der Gingivitis als Vorstufe der PA wichtig. Meyle und Chapple (2015) etablierten in ihrem Schaubild das klinisch gesunde Parodont sowie die Gingivitis (Abbildung 2). Während beim klinisch gesunden Parodont eine Symbiose zwischen Wirt und Mikroorganismen aufrecht erhalten werden kann, beginnt bei der Gingivitis allmählich die Verschiebung der Gewebehomöostase in Richtung der Dysbiose.

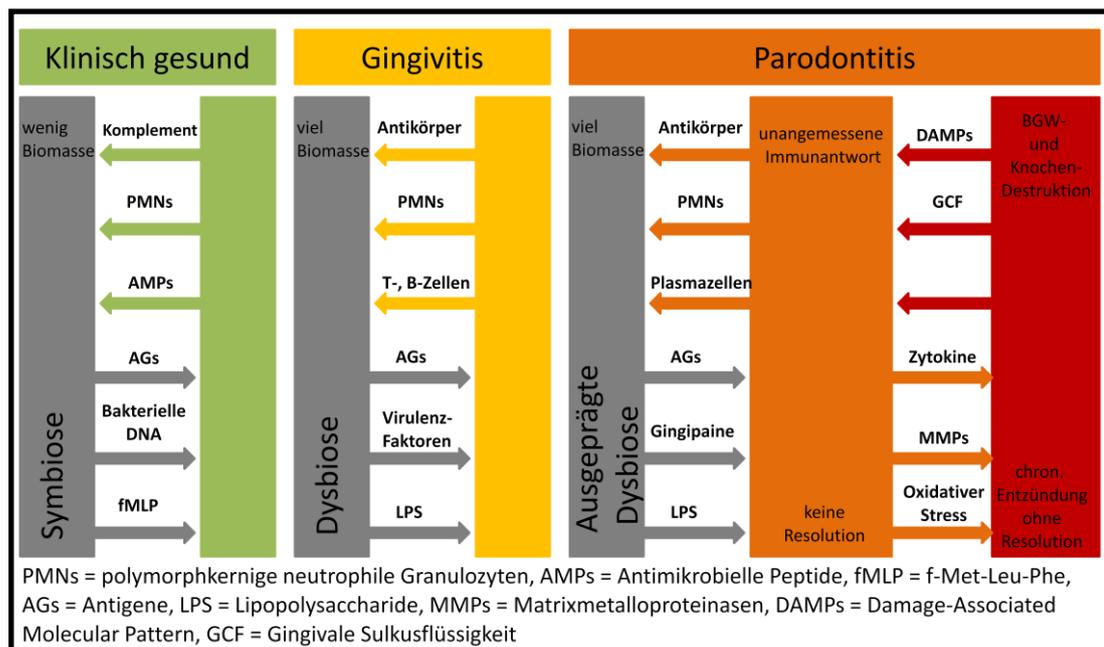


Abbildung 2: Ätiologie-/Pathogenese-Schema adaptiert nach Page und Kornman (1997), modifiziert durch Meyle und Chapple (2015)

1.2.3 Pathogenese

Pathogenese unter Betrachtung histologischer Aspekte:

Eine gesunde Gingiva weist eine mit sehr wenig Plaque versehene Zahnoberfläche, intaktes Saumepithel und einen flachen Sulkus auf. In der Plaque befinden sich wenige Bakterien, die größtenteils gram-positiv und aerob sind. Polymorphkernige neutrophile Granulozyten (PMNs) sind im Saumepithel vorhanden und dringen zum Sulkus vor. Der Faserapparat besteht aus dicht gelagertem Kollagen. Die Fibroblasten zeigen keine Veränderungen, die auf eine Funktionseinschränkung hindeuten.

Bei ca. 8-14 Tage persistierender Plaque durchdringen, im Zuge einer Vaskulitis, PMNs das Saumepithel und bilden einen vertieften Sulkus aus. Subepithelial formiert sich nun ein T-Zell-dominiertes Lymphozyteninfiltrat, das unter dem Mikroskop sichtbar wird. Immunoglobuline und Komplement sind ebenso nachzuweisen. Degenerative Veränderungen in der Zellmorphologie der Fibroblasten führen zu einer verminderten Syntheseleistung von Kollagen Typ I. Bakterielle Lipopolysaccharide (LPS) verursachen zugleich eine Sezernierung von Zytokin IL-1 und PGE₂ (Prostaglandin E₂), so dass die Fibroblasten nicht mehr zur Aufrechterhaltung der Homöostase beitragen. Dieses Stadium beschreibt die initiale Läsion der „frühen Gingivitis“, die sich mit Plaquezunahme innerhalb von weiteren 3-4 Wochen zur „etablierten Gingivitis“ manifestieren kann.

Die etablierte Gingivitis wird durch eine Plaque gram-positiver und gram-negativer Bakterien bestimmt. Das Infiltrat besteht nun hauptsächlich aus Plasmazellen und bildet einen Leukozytenwall gegen die Plaque aus. Immunoglobuline befinden sich im Sulkus, die Quantität der Sulkusflüssigkeit nimmt zu. Das Ausmaß der Fibroblastenschädigung nimmt mit steigendem Kollagenverlust im Bindegewebe stetig zu. Die „etablierte Gingivitis“ weist im Vergleich zur PA lediglich ein durch die Plaque verursachtes räumlich verdrängtes Saumepithel auf (gingivale Tasche). Diese Form der Gingivitis kann ohne progressive Degradation jahrelang persistieren.

Von einer PA spricht man, sobald zusätzlich ein Attachment- und Knochenverlust ersichtlich werden. Wie bei der „etablierten Gingivitis“ herrscht eine Plasmazelldominanz vor. Ferner erfolgt jedoch eine zunehmende Ausbreitung der inflammatorischen Reaktion unter massiver Infiltration und Ausbildung eines Taschenepithels. Histologisch erkennbar sind Ulzerationen im Bereich des Taschenepithels. Eine stärkere Exsudation kann nun auch eitriger Zusammensetzung sein. Der Kollagenverlust nimmt stetig zu, bei gleichzeitigem Vorhandensein diverser gingivaler Fibrosen. (Rateitschak et al., 2004, S. 56f.)

Anzumerken ist, dass sich diese histopathogenetischen Untersuchungen speziell auf tierexperimentelle Ergebnisse an Hunden stützten (Page und Schroeder, 1982).

Pathogenese unter Betrachtung molekularbiologischer Aspekte:

Innerhalb weniger Minuten bildet sich auf gereinigter Zahnoberfläche eine sogenannte Pellikel (Schmelzoberhäutchen), bestehend aus diversen Speichelproteinen. Die vollständige Ausbildung einer supragingivalen Plaque dauert Stunden bis Tage und setzt sich aus mehreren nachfolgenden Schritten zusammen: Bakterien-Anlagerung am Zahn durch physikalische Kräfte (Assoziation); Bakterien-Adhäsion an der Zahnoberfläche über spezifische Pellikel-Rezeptoren; Bakterien-Vermehrung zur Mikrokolonie unter Ausbildung bakterienschützender Polysaccharide (Lävane, Dextrane), Biofilm/Plaque-Entstehung; Reifung der Plaque unter Austausch von Stoffwechselprodukten, Virulenz- und Resistenzfaktoren innerhalb der Mikroorganismen. Stoffwechselprodukte (kurze Fettsäuren) und Zellbestandteile [LPS, Formylpeptid] der Mikroorganismen initiieren eine erste unspezifische Immunreaktion. Gefäße werden durch diese Endotoxine stimuliert, sodass proinflammatorisch wirksame Zytokine (IL-1, TNF- α , IL-8), MMPs und PGE₂ vom Endothel, gefäßnahen Mastzellen und Makrophagen sezerniert werden. Daraufhin resultiert eine Ausschüttung von Prostaglandinen, Stickstoffmonoxid, Neuropeptiden (z. B. Substanz P) und Histamin aus perivaskulären Mastzellen. Diese vasoaktiven Stoffe führen zu einer Dilatation postkapillärer Venolen wodurch sich die Geschwindigkeit des Blutdurchflusses verlangsamt. Endothelständige Selektine (ELAM-1) können unter diesen Bedingungen PMNs an der Gefäßinnenwand entlang leiten (*engl.* Rolling). Über ein exprimiertes Adhäsion (ICAM-1) des Endothels sowie aktiviertem Integrin β -2 auf der Granulozytenoberfläche, adhären die PMNs an der Gefäßwand. Die Inflammation auslösenden Mikroorganismen sind nun für die PMNs via Diapedese von der Blutbahn in das parodontale Gewebe erreichbar. Diese vaskuläre Reaktion aktiviert gleichzeitig, über Diapedese von Komplementfaktoren und anderen Serumproteinen, eine lokale Entzündungsreaktion. Nachfolgend gelangen auch Leukozyten und Monozyten zum inflammatorischen Herd. Endotoxine aktivieren Makrophagen, die wiederum bestimmte Zytokine (IL-1 β , IL-1ra, IL-6, IL-10, IL-12, TNF- α , IFN- γ), PGE₂, MMPs und Chemotaxine [z. B. Methyl-accepting chemotaxis protein (MCP)] sezernieren. In diesem Stadium dominiert ein lymphozytenreiches Infiltrat das entzündliche Geschehen. Damit wird die Immunantwort spezifisch: T-Zellen produzieren pro- und antiinflammatorisch wirksame Zytokine, Plasmazellen sezernieren Immunglobuline und Zytokine, aktivierte PMNs setzen Zytokine und Leukotriene frei und ortsständige aktivierte Fibroblasten produzieren statt Kollagen nun MMPs und ihre Gegenspieler, die „Tissue Inhibitors of MMP“ (TIMP). Diese erhöhte Wirtsreaktion führt nun zur verstärkten Infiltration, die von Plasmazellen dominiert wird und eine gestörte Gewebe-

homöostase zur Folge hat. Die PA manifestiert sich und resultiert in dem nun eintretenden Attachment- und Knochenverlust. (Rateitschak et al., 2004, S. 58f.)

Pathogenese unter Betrachtung mikrobiologischer Aspekte:

Im Jahr 1998 untersuchten Socransky und seine Mitarbeiter (Socransky et al., 1998) das Spektrum subgingivaler Mikroorganismen. Dabei wurde eine Einteilung der Bakterien in sechs, entsprechend ihrer Pathogenität farblich kodierter Komplexe, vorgenommen (Abbildung 3). Die Komplexe „blau“ (*Actinomyceten*), „gelb“ (*Streptokokken*) und „violett“ zählen zu den Frühkolonisierern. Diese Bakterien sind in der Lage via Fimbrien am Pellikel zu adhären und stellen die Grundvoraussetzung für die weitere Anlagerung von anderen Bakterienarten dar. Ihre Pathogenität wird als moderat eingestuft. Der Komplex „orange“ beinhaltet sogenannte Brückenspezies, die in der Lage sind eine Verbindung zwischen den „Frühbesiedlern“ und dem hoch pathogenen Komplex „rot“ herzustellen und werden daher als moderat bis hoch pathogen klassifiziert. Die Mikroorganismen des Komplexes „orange“ sind nicht nur für den zunehmenden Attachment- und Knochenverlust verantwortlich, sondern bilden die Grundlage für die Anreicherung und das Überleben obligat anaerober Spezies des Komplexes „rot“. Die Bakterien *Porphyromonas gingivalis* (*P.g.*), *Tannerella forsythia* (*T.f.*) und *Treponema denticola* (*T.d.*) gehören zum Komplex „rot“ und sezernieren proteolytisch wirksame Enzyme (z. B. Kollagenasen, Phosphatasen), die für den massiven Abbau des parodontalen Attachment- und Knochengewebes verantwortlich sind. Der Komplex „grün“ fasst die fakultativ anaeroben Bakterien, wie z. B. *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (*A.a.*), *Eikenella corrodens* (*E.c.*) und *Capnocytophaga gingivalis* (*C.g.*), zusammen. Der Keim *A.a.* besitzt aufgrund der Herstellung von Virulenzfaktoren, Immunsuppressionsfaktoren und Leukotoxinen die höchste Pathogenität innerhalb dieses Komplexes und nimmt eine Sonderstellung ein (Åberg et al., 2015).

Parodontalpathogene Mikroorganismen stellen die notwendige Voraussetzung für die Entstehung einer PA dar. Ihre Anwesenheit allein ist jedoch nicht ausreichend, für die Entstehung und Progression einer PA.

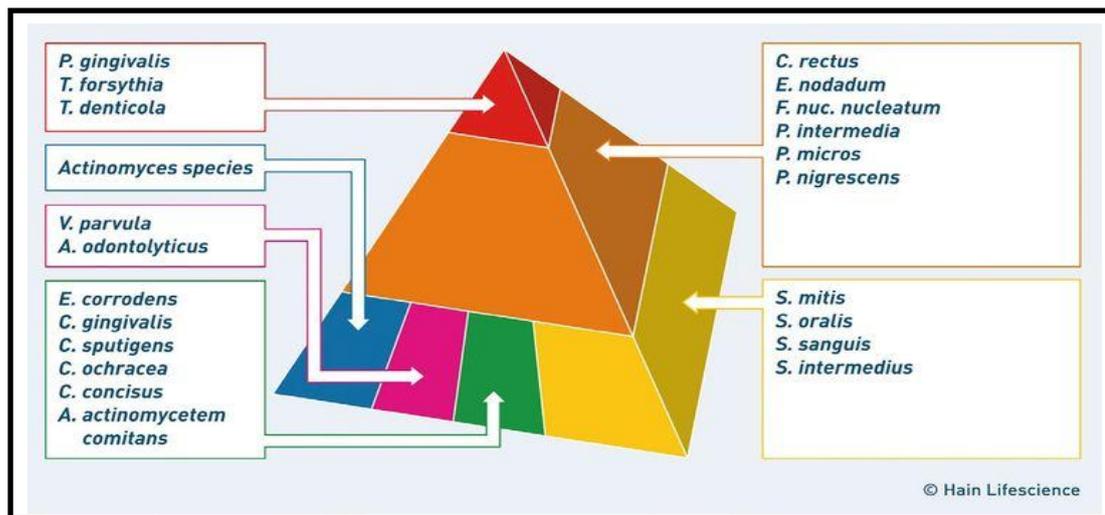


Abbildung 3: Parodontitis-Markerkeime adaptiert nach Socransky et al. (1998) erstellt durch ©Hain Lifescience

Pathogenese unter Beachtung bestimmter Risikofaktoren:

Zahlreiche Forschungsarbeiten (Socransky et al., 1998; Genco und Borgnakke, 2013) zeigen, dass neben den zuvor genannten Mikroorganismen, andere Risikofaktoren existieren, um eine PA auszulösen. Zu den weiteren Risikofaktoren gehören die Lifestylefaktoren Nikotinkonsum (Genco und Borgnakke, 2013), Alkoholkonsum (Genco und Borgnakke, 2013), psychosozialer Stress (Nociti et al., 2015), Ernährung [z. B. Mangel an Vitamin D, B12, C (Hujoel und Lingström, 2017; Chapple et al., 2017)] und systemische Erkrankungen, wie beispielsweise Diabetes mellitus (Lalla und Papapanou, 2011). Darüber hinaus existieren genetische Risikofaktoren für PA. Dies betrifft z. B. Polymorphismen in der langen nichtkodierenden RNA ANRIL (anti-sense non-coding RNA in the INK4 locus) (Teeuw et al., 2015), IL-10 (Nibali et al., 2017), Vitamin-D-Rezeptor (Nibali et al., 2017), Plasminogen (PLG) (Neering et al., 2015) und Neuropeptid Y (NPY) (Lundy et al., 2009).

1.3 Rheumatoide Arthritis

1.3.1 Definition und Epidemiologie

Die RA (*Synonym:* chronische Polyarthritis) wird durch die „World Health Organization“ (WHO) als eine chronisch systemische Entzündung der Gelenke, des Bindegewebes, der Muskulatur, der Sehnen und des fibrösen Gewebes klassifiziert. Vornehmlich sind die kleinen Gelenke, wie Fingergrund- und Mittelgelenke sowie Zehengrundgelenke, befallen. Prinzipiell ist der Befall aller anderen Gelenke, der (Hals-) Wirbelsäule, Sehnenscheiden und der Schleimbeutel möglich. Die Anzahl der betroffenen Gelenke und der meist progrediente Verlauf sind variabel. (Sharif et al., 2018; Deutsche Gesellschaft für Rheumatologie e.V., 25.04.2018)

Werden vier der nachstehenden sieben Kriterien des American College of Rheumatology (The American Rheumatism Association, 1988) erfüllt, und persistieren die ersten vier Kriterien für mindestens sechs Wochen, gilt die Diagnose der RA als gesichert:

- Morgensteifigkeit
 - Arthritis ≥ 3 Gelenke
 - Arthritis an der Hand
 - Symmetrische Arthritis
 - Rheumaknoten
 - Rheumafaktor im Serum
 - Radiologische Veränderungen
- } >6 Wochen

Die RA gilt als die häufigste chronische Entzündung der Gelenke und weist eine Prävalenz von 0,5-1,0 % der weltweiten Bevölkerung auf (Silman und Pearson, 2002; Ma et al., 2014) auf. Die höchste Prävalenz wurde für Chippewa Indianer (6,8 %) identifiziert (Harvey et al., 1981; Silman und Pearson, 2002). Im Vergleich dazu beträgt die auf deutsche Population standardisierte Prävalenz, je nach Fallklassifikation, zwischen 1,38 % und 0,55 % (Hense et al., 2016). Grundsätzlich kann sich die Erkrankung in jedem Alter manifestieren. Frauen erkranken allerdings häufiger im Alter zwischen 45 bis 64 Jahren, Männer hingegen zwischen dem 65. und 74. Lebensjahr (Deutsche Rheuma- Liga Bundesverband e. V., 2018). Frauen erkranken bis zu dreimal häufiger im Vergleich zu Männern (van Vollenhoven, 2009). Interessanterweise konnte ein geringeres Risiko für Schwangere und Frauen, die Kontrazeptiva einnehmen, festgestellt werden (Silman und Pearson, 2002; Firestein et al., 2012). Der Zeitpunkt nach der Geburt stellt in dem Zusammenhang das höchste Risiko dar an einer RA zu erkranken (Silman und Pearson, 2002).

1.3.2 Ätiologie

Trotz jahrelanger Forschungsbemühungen gelten die Ätiologie und Pathogenese der RA als noch nicht vollständig verstanden. Im Mittelpunkt des chronisch entzündlichen Vorgangs steht eine Überreaktion des Immunsystems, die durch multifaktorielles Geschehen in Gang gesetzt werden kann. Ähnlich der PA-Pathogenese sind genetische und nichtgenetische Risikofaktoren verifiziert (Karlson und Deane, 2012). Es wird davon ausgegangen, dass die genetische Disposition einen Anteil von ca. 50 % an der Pathogenese einnimmt (Scott et al., 2010). Bestimmte HLA-Merkmale, vor allem HLA-DR4- und DR-1 und das Tyrosin-Phosphatase-Gen PTPN22 bei Rauchern in Interaktion mit HLA-DRB-1, sind mit der RA assoziiert (Bonfil et al., 1999; Klareskog et al., 2006; Wegner et al., 2010; van der Woude et al., 2010; Firestein et al., 2012; Fouteri et al., 2013; Nagy und van Vollenhoven, 2015; Aradi et al., 2015;

Kharlamova et al., 2016). HLA-B27 ist beispielsweise in der Studie von Rashid et al. (2013) mit dem Vorliegen von *Klebsiella pneumoniae* in Zusammenhang mit Morbus Bechterew gebracht worden (Molekulares Mimikry). Genomweite Assoziationsstudien (GWAS) haben mehrere genetische Marker gefunden, die darüber hinaus mit der RA und anderen Autoimmunerkrankungen assoziiert sind. Dazu zählen insbesondere der Transkriptionsfaktor STAT4 (Signal Transducers and Activators of Transcription 4) und das B-Lymphozyten-Antigen CD20 (Orozco und Barton, 2010). STAT4 ist Teil des JAK-STAT-Signalweges und beeinflusst die von Zytokinen initiierte Transkription von Genen der adaptiven Immunabwehr (Rawlings et al., 2004). Familiär gehäuft tritt die RA mit schwereren Verläufen auf (Wasserman, 2011). Darüber hinaus ist, wie bereits erwähnt, das weibliche Geschlecht deutlich häufiger von einer RA betroffen (van Vollenhoven, 2009; Wasserman, 2011). Neben der genetischen Komponente ist eine Beteiligung von Umweltfaktoren anzunehmen (Liao et al., 2009). Bestimmte bakterielle und virale Infektionserreger, wie das Epstein-Barr-Virus (EBV), werden mit der RA assoziiert (Alspaugh et al., 1981; Guo et al., 2018; Balandraud und Roudier, 2018). Auch wenn eine Meta-Analyse von Ball et al. (2015) dies jedoch nicht bestätigen konnte, scheinen RA-Patienten vermehrt von einer Infektion mit dem EBV betroffen zu sein (Balandraud und Roudier, 2018). Zu den weiteren Risikofaktoren zählen der Nikotinkonsum (Costenbader et al., 2006; Klippel et al., 2008; Bang et al., 2010; Di Giuseppe et al., 2014), das Alter (Deutsche Rheuma- Liga Bundesverband e. V., 2018), hormonelle Faktoren (Silman und Pearson, 2002) und Systemerkrankungen, wie Diabetes mellitus (Jiang et al., 2015).

1.3.3 Pathogenese

Grund der Entzündung ist eine von bereits oben genannten Faktoren ausgelöste Autoimmunreaktion, bei der die Anzahl proinflammatorisch wirksamer Zytokine überwiegt. Nach heutigem Stand der Kenntnisse spielen vor allem T-Lymphozyten, Makrophagen und Zytokine eine wesentliche Rolle in der Pathogenese. Aus molekularbiologischer Sicht induzieren noch bislang unbekannt Antigenen die RA. Sie gelangen über die Blutbahn in die Synovialis und werden dort via antigenpräsentierender Zellen (APC) einer atypischen T-Zelle präsentiert. Mittlerweile geht man davon aus, dass die RA-Pathogenese durch fehlregulierte CD4-positive T-Zellen bestimmt wird. Auf bislang ungeklärte Weise verlieren diese CD4-positiven T-Zellen die Toleranz gegenüber körpereigener Strukturen. Durch die Interaktion des T-Zell-Rezeptors mit der APC wird die T-Zelle aktiviert und IFN- γ sezerniert. Das Zytokin IFN- γ bewirkt die weitere Aktivierung von Makrophagen, die daraufhin die proinflammatorisch wirksamen Zytokine TNF- α und IL-1 exprimieren. Folglich werden mesenchymale Zellen,

wie Chondrozyten, Fibroblasten, Endothelzellen und Osteoklasten, stimuliert weitere Entzündungsmediatoren zu produzieren. Auf die von der T-Zelle sezernierten Zytokine folgt eine B-Zell-Proliferation mit Antikörper-Ausbildung [z. B. Rheuma-Faktor (RF), Anti-cyclisch-citrullinierte Peptid-Antikörper (CCP-AK)]. Die neu entstandenen Antikörper sind in der Lage Antigen-Antikörper-Komplexe zu bilden, die wiederum Auslöser für die weitere Produktion proinflammatorischer Zytokine und die Aktivierung des Komplementsystems sind. Die Komplementbestandteile C3b und C5a locken PMNs an, die via Diapedese in den Gelenkspalt gelangen. Innerhalb des Entzündungsprozesses stellt sich ein „circulus vitiosus“ ein – Gelenkgewebe wird zerstört. Die Migration zahlreicher Entzündungszellen in den Gelenkspalt verursacht eine Synovialitis. Die proinflammatorischen Zytokine bewirken eine Verdickung (Hyperplasie) der Synovialmembran mit erhöhter Gefäßeinsprossung (Angiogenese). Es formiert sich eine aus Granulationsgewebe bestehende und mit Entzündungszellen durchsetzte hyperplastische Synovialmembran (Pannusgewebe). Dieses Pannusgewebe proliferiert nun unkontrolliert. Pannozyten, ortsständige Zellen des Pannusgewebes, sezernieren katabole Enzyme, unter anderem MMPs, die die mesenchymalen Zellen (Fibroblasten, Chondrozyten, Osteoklasten, Endothelzellen) aktivieren. In Folge dessen wird Gelenkknorpel destruiert, Knochen resorbiert und die Pannusbildung gefördert. (Bernhard und Villiger, 2001; Burmester und Kalden, 2002; Peruzzo et al., 2007; Pezzutto et al., 2007; Guo et al., 2018)

1.4 Pathogenetische Zusammenhänge zwischen Parodontitis (PA) und Rheumatoider Arthritis (RA)

Bisherige Studien haben gezeigt, dass diverse pathogenetische Zusammenhänge zwischen PA und RA existieren (Kozziel et al., 2014; Smit et al., 2015). Zu den generellen gemeinsamen Risikofaktoren der Krankheitsbilder gehören Alter, genetische Konstellation (Scott et al., 2010; Taba Jr et al., 2012; Yarwood et al., 2016), Nikotinkonsum (Di Giuseppe et al., 2014; Khan et al., 2016) und psychosozialer Stress (LeResche und Dworkin, 2002). Es wird ebenso eine Interaktion mit parodontopathogenen Keimen (Bakterien/bakterielle Peptide) (Smit et al., 2015) vermutet.

Zu den Gemeinsamkeiten von PA und RA gehören nachstehende Aspekte:

- chronisch-entzündlicher Abbau von Bindegewebe und Knochen
- Bakterien/bakterielle Peptide als ätiologischer Faktor
- dysregulierte Immunantwort
- genetische Disposition (z. B. gemeinsame HLA-DR4-Assoziationen)

- massiver Anstieg von Zytokinen und anderer Botenstoffe (IL-1, IL-6, TNF- α , PGE₂, MMPs)

Aufgrund der beschriebenen Gemeinsamkeiten von PA und RA wurden zahlreiche Studien zur genaueren Untersuchung dieser Zusammenhänge durchgeführt. Unter Patienten mit PA waren häufiger Individuen, die gleichzeitig auch an einer RA erkrankt waren, im Vergleich zu Probanden, die keine PA hatten (Mercado et al., 2003; Koziel et al., 2014; Smit et al., 2015). Laut der Analyse von Rutger Persson (2012) besteht bei Vorliegen einer PA-Erkrankung ein achtfach erhöhtes Risiko auch an RA zu erkranken. Umgekehrt konnte die Aussage getroffen werden, dass Patienten mit langjähriger aktiver RA häufiger an einer PA erkrankten, im Vergleich zu Probanden ohne RA (Kässer et al., 1997; Moen et al., 2003). Gleichermaßen konnte nachgewiesen werden, dass die PA-Therapie positive Auswirkungen auf den Verlauf der RA-Erkrankung hat. Eine Untersuchung von Cosgarea et al. (2018) zeigte kürzlich, dass die Durchführung einer nicht-chirurgischen PA-Therapie die Aktivität der RA herabsetzte. In ähnlich aufgebauten Studien von Bıykoğlu et al. (2013) und Calderaro et al. (2017) konnte nach durchgeführter nicht-chirurgischer PA-Therapie ein verbesserter DAS28-Wert (Disease Activity Score 28 = additiver Wert rheumatologischer Parameter) identifiziert werden.

Sowohl die PA als auch die RA sind Erkrankungen chronisch-entzündlichen Ursprungs, die durch den Abbau von Bindegewebe und mineralisiertem Knochengewebe gekennzeichnet sind. Während es sich bei der PA weitestgehend um eine Störung der Gewebemöostase (Dysbiose) handelt, die von diversen Risikofaktoren getriggert wird, ist die Genese der RA als multifaktoriell beschrieben.

Bakterien bzw. bakterielle Peptide als ätiologischer Faktor spielen darüber hinaus eine wesentliche Rolle in der Entstehung der beiden Krankheitsbilder, sodass diesbezüglich ein Zusammenhang zwischen PA und RA vermutet wird. Eine Studie von Detert et al. (2010) stützt die Theorie, dass hochpathogene parodontale Bakterien durch das Eindringen via Taschenepithel in den Blutkreislauf gelangen und dadurch Zugang zu jeglichen Gelenken und Organen besitzen. Diskutiert werden diesbezüglich hauptsächlich die parodontopathogenen Bakterien *P.g.* und *A.a.*. Einige Untersuchungen belegen die Assoziation der chronischen Parodontitis (ChP) mit *P.g.* sowie *P.g.* mit der RA (Olsen et al., 2018; Smit et al., 2015; Scher und Abramson, 2013). Es ist bereits bekannt, dass *P.g.* durch die Bildung eines Enzyms aus der Peptidylarginindeiminase (PAD)-Familie (*Porphyromonas gingivalis* Peptidylarginindeiminase = PPAD), analog zur humanen PAD, dazu befähigt ist eine posttranslationale Modifikation der Aminosäure Arginin durchzuführen. Dabei wird Arginin, sowohl im Bakterium

selbst, als auch in humanen Zellen, unter Freisetzung von Ammoniak und Wasserstoff, citrulliniert (Abbildung 4). Die Citrullinierung durch humane PAD ist physiologischer Bestandteil diverser essentieller Prozesse innerhalb des Körpers. Dazu zählen die Keratinisierung der Haut, Histonmodifikation (Epigenetik), Apoptose und aber auch die Entzündung. Nachweislich induzieren bei der RA durch PAD entstandene citrullinierte Peptide (Auto-Antigene) eine Immunreaktion mit Produktion von Auto-Antikörpern, den sogenannten „Anti-citrullinierten-Protein-Antikörpern“ (ACPA). Diese dysregulierte Autoimmunreaktion wird für den Gewebeabbau bei der RA verantwortlich gemacht. Bislang waren nur humane PADs in diesem Kontext bekannt. Die mögliche Fähigkeit des *P.g.* via Citrullinierung ebenso eine Produktion von ACPAs auszulösen, steht dadurch im direkten Zusammenhang der RA-Pathogenese, bei der diese ACPAs und die darauf folgende dysregulierte Immunantwort eine Schlüsselrolle spielen (Koziel et al., 2014; Olsen et al., 2018). Serologisch konnten ebenso vermehrt Antikörper gegen *P.g.* in der Synovialflüssigkeit von RA-Patienten identifiziert werden (Moen et al., 2003). In Untersuchungen von Sakkas et al. (2017) wird beleuchtet, dass neben *P.g.* auch *A.a.* und das Epstein-Barr-Virus (EBV) als autoimmunologische Trigger bei RA fungieren. Studien von König bestreiten den Zusammenhang von RA mit *P.g.* jedoch (König et al., 2015) und rücken in jüngsten Untersuchungen den Keim *A.a.* im Zusammenhang von PA und RA in den Mittelpunkt dieses Sachverhaltes. *A.a.* produziert ein Leukotoxin A (LTxA), das bei Patienten mit PA in der Lage ist, Poren auf der Zellmembran von PMNs, die in der Sulkusflüssigkeit lokalisiert sind, zu bilden. Dadurch wird die PAD der PMNs aktiviert und es erfolgt die Citrullinierung vieler unterschiedlicher Peptide, die dann von den PMNs freigesetzt werden können (König et al., 2016; Sakkas et al., 2017).

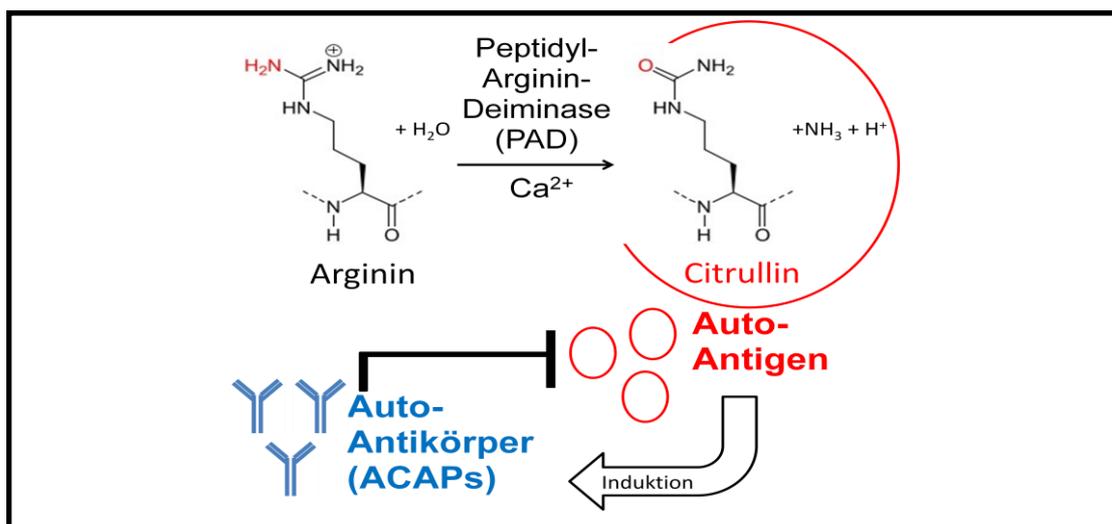


Abbildung 4: Allgemeines Schema zur Citrullinierung durch Peptidylarginindeiminase (PAD) und Produktion Anti-citrullinierter-Protein-Antikörper (ACAPs)

Genetische Assoziationen der ACAPs sind bislang über bestimmte Genvariationen bekannt, die für sogenannte HLA-DR-Merkmale (Human Leukocyte Antigen – DR-Isotype) codieren (1.5.1). Die Bildung von ACPAs ist bei RA mit dem Nachweis von HLA-DR4 kodierenden DRB1-Subtypen, wie *0401, *0404, *0405 oder *0408, assoziiert (Bonfil et al., 1999; Wegner et al., 2010; van der Woude et al., 2010). Diese HLA-Merkmale wurden auch bei Patienten mit rapid progressiver PA häufiger gefunden, im Vergleich zu Probanden ohne PA (Bonfil et al., 1999).

Weiterhin ist sowohl bei der PA als auch bei der RA ein massiver Anstieg von proinflammatorischen Zytokinen (z. B. IL-1, IL-6, TNF- α) dem Produkt der Arachidonsäurekaskade PGE₂ und MMPs festzustellen (Mercado et al., 2003; Havemose-Poulsen et al., 2005; Kurgan et al., 2016). Aufgrund der sehr ähnlichen Prozesse innerhalb der Entzündungsreaktion beider Erkrankungen rückte die Rolle der Zytokine in den Vordergrund einiger Untersuchungen. Biologika, biotechnologisch hergestellte monoklonale Antikörper, werden bei der durch Standardtherapie nicht zu behandelnden RA gezielt zur Hemmung von bestimmten Zytokinen, wie TNF- α , IL-1 oder IL-6, eingesetzt (Hahner et al., 2017; Guo et al., 2018). Bekannte Präparate für beispielsweise TNF- α -Hemmer sind Adalimumab, Etanercept, Infliximab, Golimumab und Certolizumab (Scott et al., 2010; Pisetsky, 2017; Frampton, 2017; Ruiz Garcia et al., 2017). Diverse Forschungsarbeiten untersuchten die Einflüsse der RA-Medikation (z. B. TNF- α -Hemmer) auf parodontale Entzündungsprozesse (Pers et al., 2008; Mayer et al., 2009; Kobayashi et al., 2014; Ziebolz et al., 2018). Auf diese Weise fanden etablierte medikamentöse Strategien zur Behandlung der RA auch Aufmerksamkeit in der PA-Therapie. Die Ergebnisse der Erfolge bei PA-Behandlungen mit Biologika sind jedoch bislang inkonsistent. Während einige Studien eine Verbesserung unter bestimmten Biologika hinsichtlich der PA-Parameter, wie dem Blutungsindex [Bleeding on Probing (BOP)] und der Sondierungstiefe (PD), feststellen konnten (Mayer et al., 2009; Kobayashi et al., 2014; Kobayashi und Yoshie, 2015), detektierte die Studie von Pers et al. (2008) keine signifikanten Verbesserungen hinsichtlich dieser PA-Parameter. Allerdings verringerte sich der CAL. Auch Ziebolz et al. (2018) fand heraus, dass die Kombination von Methotrexat und TNF- α -Antagonisten mit einem erhöhten Potenzial parodontaler Entzündungsprozesse assoziiert ist.

1.5 Gemeinsame genetische Risikofaktoren für PA und RA

1.5.1 Gemeinsame Assoziationen zu HLA-Merkmalen

Mittels PCR konnte über sequenzspezifische Primer (SSP-PCR) bei PA-Patienten ein um 42% erhöhtes Vorkommen von HLA-DR4 kodierenden DRB1-Subtypen, wie *0401, *0404, *0405 oder *0408 entdeckt werden, welche ebenso bei Patienten mit Vorliegen einer RA nachzuweisen sind (Bonfil et al., 1999; Wegner et al., 2010; van der Woude et al., 2010; Detert et al., 2010).

Inzwischen ist ebenso bekannt, dass das Tyrosin-Phosphatase-Gen PTPN22 bei Rauchern mit dem HLA-DRB-1 interagiert und eine gesteigerte Expression von PTPN22 bei RA-Erkrankten vorliegt (Fousteri et al., 2013; Song et al., 2013b; Nagy und van Vollenhoven, 2015; Aradi et al., 2015; Kharlamova et al., 2016). Die Protein-Tyrosin-Phosphatase ist ein bedeutendes Enzym bei der Aktivierung von T- und B-Lymphozyten (Stoker, 2005; Fousteri et al., 2014).

1.5.2 Zytokinpolymorphismen, die in der Pathogenese beider Erkrankungen von Bedeutung sein könnten

Zytokine scheinen eine wesentliche Rolle im Hinblick auf die Immunpathogenese sowohl der PA als auch der RA zu spielen.

Bei der PA dringen Metabolite parodontopathogener Keime, z. B. LPS, via Saumeptithel in das lokale Bindegewebe ein und aktivieren ortsständige Makrophagen. Diese wiederum sezernieren zahlreiche proinflammatorische Zytokine, die das Gefäßendothel für weitere Immunzellen durchlässig machen. Sowohl die RA als auch die PA sind gekennzeichnet durch eine erhöhte Expression von proinflammatorisch wirksamen Zytokinen (z. B. IL-1 und TNF- α). Diese Zytokine wiederum aktivieren die Sezernierung von weiteren Zytokinen (z. B. IL-6), Entzündungsmediatoren der Arachidonsäurekaskade (z. B. PGE₂) sowie Gewebe abbauender Enzyme, vor allem MMP-8 (Bartold et al., 2005; Javed et al., 2014). Gewöhnlich steigern IL-1 und TNF- α die Expression von RANKL, sodass eine erhöhte Osteoklastenaktivität mit gesteigerter Knochenresorption erfolgt (Graves und Cochran, 2003). Darüber hinaus greifen diese Zytokine auch in den Gewebestoffwechsel ein. Sie stimulieren Makrophagen sowie Fibroblasten und erhöhen die Freisetzung von MMP-8, sodass das Gewebe degradiert (Sorsa et al., 2004). Üblicherweise wird diese Entzündungskaskade durch den Interleukin-1-Rezeptorantagonisten (IL-1-ra) und IL-10, sogenannte antiinflammatorische Zytokine, gehemmt. Dieser Mechanismus beendet die Entzündungsreaktion regulatorisch (Schütt, 2011; Hahner et al., 2017). Das Verhältnis pro- und antiinflammatorisch wirksamer Zytokine bestimmt die Ausprägung und den Verlauf der Entzündungsreaktion. (Abbildung 5 und 6)

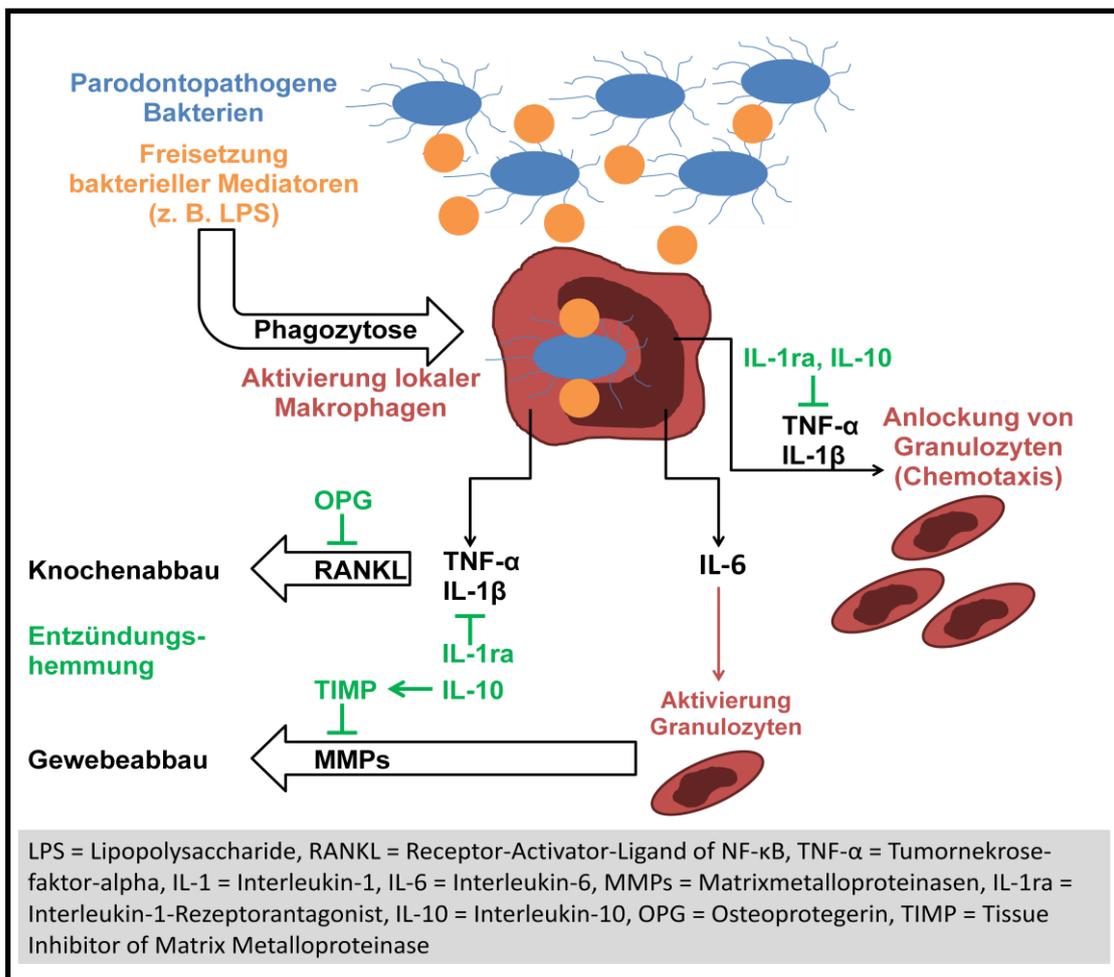


Abbildung 5: Immunpathogenese der Parodontitis, modifiziert nach Schütt (2011)

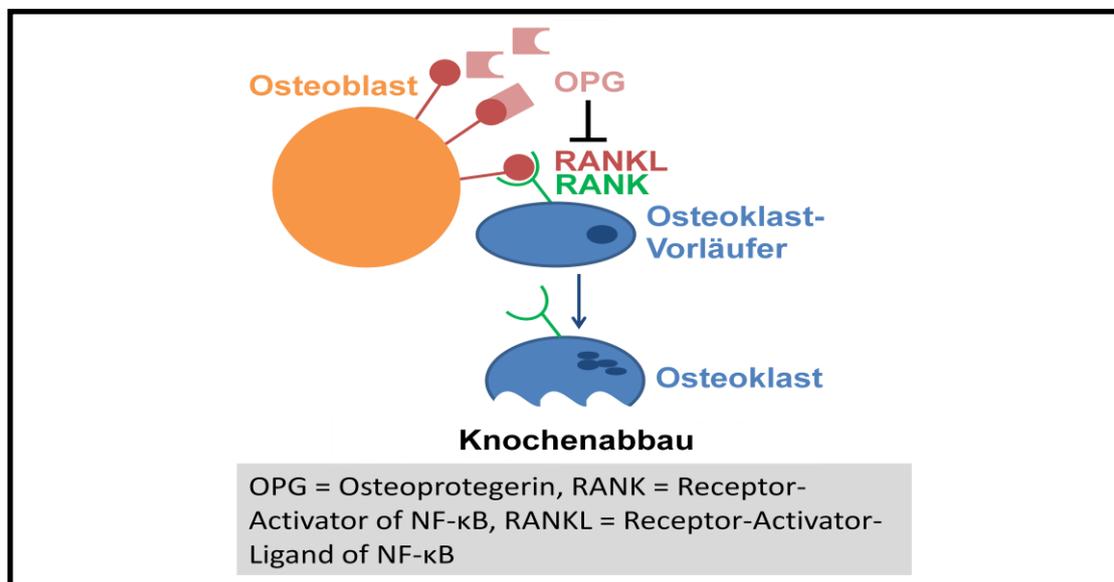


Abbildung 6: RANKL/OPG-System

Besteht ein Zytokin-Ungleichgewicht durch Überschuss an proinflammatorisch wirkenden Zytokinen, so verläuft die Entzündungsreaktion verstärkt destruktiv ab. Ursache für eine unkontrollierte Reaktion könnten Gen-Polymorphismen sein.

Das Zytokin IL-1 setzt sich aus den Untereinheiten IL-1a und IL-1b zusammen. Die genetischen Informationen der Zytokine IL-1a, IL-1b und des Interleukin-1-Rezeptorantagonist (IL-1ra) befinden sich auf den Strukturgenen IL-1A, IL-1B und IL-1RA auf Chromosom 2. Es ist bekannt, dass IL-1-Gen-Polymorphismen eine überschießende Entzündungsreaktion mit vermehrtem Knochenabbau zur Folge haben. Die Wahrscheinlichkeit des erhöhten Zahnverlustes wird durch den von Kornman et al. (1997) beschriebenen Composite IL-1-Genotyp um das 2,7-fache gesteigert und ist mit dem 2,9-fach erhöhten Risiko bei Rauchern ohne Vorliegen eines Polymorphismus vergleichbar (McGuire und Nunn, 1999). Nikotinkonsum und zusätzlich bestehender IL-1-Gen-Polymorphismus vergrößern das Risiko auf ein 7,7-faches (McGuire und Nunn, 1999). Patienten, mit vorliegendem Polymorphismus im IL-1-Gen, unterliegen demnach einem vergrößerten Risiko frühzeitig und mit schwerwiegenderem Verlauf, auch ohne Vorliegen erhöhter Mengen parodontopathogener Keime, an PA zu erkranken. Der IL-1-Gen-Polymorphismus ist ebenso für die RA bekannt. Eine Meta-Analyse von Lee und Bae (2015a) belegt, dass bestimmte IL-1B-Polymorphismen signifikant mit dem Auftreten einer RA assoziiert sind.

Auch Polymorphismen des TNF- α , insbesondere der SNP rs1800629 auf Chromosom 6, sind in einer Vielzahl an Studien mit chronisch-entzündlichen Erkrankungen [z. B.: Diabetes mellitus (Zhao et al., 2014), Arteriosklerose, PA (Ding et al., 2014)] in Verbindung gebracht worden. Bei diesem Polymorphismus fand sich eine bis zu siebenfach gesteigerte Expression von TNF- α im Zuge der Entzündungsreaktion wieder. Des Weiteren konnten Zusammenhänge des SNP rs1800629 im TNF- α -Gen zu kardiovaskulären Erkrankungen bei RA-Patienten gefunden werden (Rodríguez-Rodríguez et al., 2011). In einer Meta-Analyse von Lee et al. (2007) konnte allerdings kein Nachweis für den Zusammenhang des SNP rs1800629 im TNF- α -Gen und RA bei Europäern erbracht werden. Lediglich bei Latein-Amerikanern wurde ein solcher SNP rs1800629 im TNF- α -Gen nachgewiesen.

Die Tatsache, dass TNF- α -Inhibitoren, wie Adalimumab (ADA), therapeutisch bei RA-Patienten eingesetzt werden und zur signifikanten Besserung parodontaler Indices (gingivaler Index, BOP, PD, Serumwerte von TNF- α und IL-6) führen (Pers et al., 2008; Mayer et al., 2009; Kobayashi et al., 2014), zeigt die Wichtigkeit des Zusammenhangs von TNF- α bezüglich RA und PA. Allerdings liegen wenige Studien für andere RA-Medikationen (z. B. andere Biologika, DARMDs) oder Kombinationen dieser Präparate in Assoziation zu parodontalen Parametern vor. Unter anderem untersuchte eine Studie von Ziebolz et al. (2018) diverse RA-Medikationen in diesem Zusammenhang und demonstrierte, dass die parodontale Entzündungsreaktion unter MTX-TNF- α kombinierter Medikation sogar erhöht ist.

Wenige Studien untersuchten bislang den Zusammenhang dieser genetischen Assoziationen der Zytokingenpolymorphismen bei RA und PA.

Eine Analyse von Kobayashi et al. (2009) untersuchte drei Gruppen japanischer Erwachsener (1) mit RA und PA, (2) nur mit PA und (3) gesunde Kontroll-Probanden hinsichtlich 16 möglicher Genpolymorphismen von IL-1, -2, -4, -6, -10, TNF- α und TGF-1 β . Signifikante Unterschiede konnten hinsichtlich der Verteilung des Genotyps vom SNP rs1143634 des IL-1 β -Gens beim Vergleich von Gruppe (1) mit (2) und zwischen (1) und (3) festgestellt werden (Tabelle 3).

Eine bereits vorausgegangene Studie von Kobayashi et al. (2007) untersuchte gleichartige Gruppen hinsichtlich IL-1 Genotypen (IL-1A SNP rs17561, IL-1B SNP rs1143634, IL-1RN SNP rs419598) und Fcgamma Genotypen (FcgammaRIIA, FcgammaRIIIA, FcgammaRIIIB) via PCR. Der Genotyp des SNP rs1143634 zeigt Unterschiede zwischen der (1) RA-Gruppe und (2) PA-Gruppe sowie zwischen der (1) RA-Gruppe und der (3) Kontroll-Gruppe. In der (1) RA-Gruppe liegt das T-Allel vermehrt vor. Die Kombination des T-Allels des IL-1 α SNP rs17561 T-Allel und IL-1 β SNP rs1143634 ergab eine starke Assoziation von RA und PA [(1) vs. (2): $p = 0,00001$; (1) vs. (3): $p = 0,00001$] (Tabelle 3). Diese Ergebnisse lassen Rückschlüsse darauf ziehen, dass es sich bei IL-1 und FcgammaR Gen-Polymorphismen um gemeinsame Risikofaktoren von RA und PA handeln könnte.

Eine Forschungsarbeit von Domínguez-Pérez et al. (2017) untersuchte die Verteilung diverser Zytokinpolymorphismen (IL-1 α SNP rs17561, IL-1 α SNP rs1800587, IL-1 β SNP rs1143634, IL-1 β SNP rs16944, TNF- α SNP rs1800629) in einer mexikanischen Kohorte, die sowohl an chronischer PA als auch RA erkrankt waren. Eine signifikante Assoziation zur PA und RA konnte für IL-1 β SNP rs1143634 und IL-1 β SNP rs16944 detektiert werden (Tabelle 3). Der Haplotyp des IL-1 α SNP rs1800587 und IL-1 β SNP rs16944 ist signifikant mit der RA assoziiert, nicht jedoch mit der PA.

Tabelle 3: Gemeinsame Risiko-Genpolymorphismen für PA und RA

| Autor | Ethnizität Kohorte | Genpolymorphismus |
|-------------------------------|--------------------|---|
| Kobayashi et al. (2009) | Japaner | <ul style="list-style-type: none"> IL-1β SNP rs1143634 |
| Kobayashi et al. (2007) | Japaner | <ul style="list-style-type: none"> IL-1α SNP rs17561 T-Allel IL-1β SNP rs1143634 T-Allel Kombination |
| Domínguez-Pérez et al. (2017) | Mexikaner | <ul style="list-style-type: none"> IL-1β SNP rs1143634 IL-1β SNP rs16944 |

PA = Parodontitis, RA = Rheumatoidarthritis

2 Zielstellung

Die RA und PA teilen Gemeinsamkeiten in der Ätiologie und Pathogenese. Dabei wurden auch gemeinsame genetische Risikofaktoren vermutet (Schütt, 2011). Da sowohl in der Pathogenese der RA als auch der PA Zytokine eine Rolle spielen, könnten Polymorphismen in Genen, die für pro- oder antiinflammatorische Zytokine kodieren, indikativ für beide Erkrankungen sein. Bislang wurden nur wenige Genpolymorphismen (Tabelle 3) bei RA und PA gleichermaßen nachgewiesen (Kobayashi et al., 2007; Kobayashi et al., 2009; Domínguez-Pérez et al., 2017). Innerhalb der in Tabelle 3 aufgeführten Studien wurden darüber hinaus ausschließlich Probanden japanischer oder mexikanischer Herkunft untersucht.

2.1 Hauptziele

Ableitend aus vorangegangenen Erkenntnissen wurden zwei Hauptziele für diese Studie formuliert:

1. Es galt zu prüfen, ob Assoziationen zwischen polymorphen Varianten ausgewählter pro- und antiinflammatorischer Zytokine und dem Auftreten einer RA nachzuweisen sind. Dabei wurde ein Vergleich zwischen einer Gruppe mit RA (RA-Gruppe), welche neben einer RA auch eine PA unterschiedlicher Schweregrade aufwies, und einer Kontroll-Gruppe durchgeführt. Probanden der Kontroll-Gruppe waren nicht an RA erkrankt und wiesen keine bis eine maximal milde Form einer PA auf.
2. Des Weiteren lag der Fokus auf der Fragestellung inwiefern sich Zytokinpolymorphismen innerhalb der RA-Gruppe in Abhängigkeit vom Schweregrad der parodontalen Erkrankung unterscheiden.

2.2 Nebenziele

Es definierten sich nachstehende zwei Nebenziele dieser Arbeit:

1. Es galt eine Analyse von Unterschieden in demographischen Parametern (inkl. Anzahl der Raucher) und Keimspektrum zwischen RA- und Kontroll-Gruppe vorzunehmen.
2. Mögliche Unterschiede in demographischen Parametern (inkl. Anzahl der Raucher) und Keimspektrum innerhalb der RA-Gruppe mit Berücksichtigung des unterschiedlichen Schweregrades der PA (milde/keine PA vs. schwere PA) sollten ebenso analysiert werden.

2.3 Arbeitshypothesen

Es wurde vermutet, dass Unterschiede in den untersuchten Zytokinpolymorphismen evaluiert werden können und es neben RA- und PA-spezifischen Assoziationen auch Polymorphismen gibt, die für beide Erkrankungen von Bedeutung sein können. Folgende Arbeitshypothesen wurden für die Hauptziele aufgestellt:

Arbeitshypothese I: Es existieren Unterschiede in der Genotyp-, Allel- bzw. Haplotypverteilung von Zytokinpolymorphismen (Kontroll-Gruppe vs. RA-Gruppe).

Arbeitshypothese II: Es existieren Unterschiede in der Genotyp-, Allel- bzw. Haplotypverteilung von Zytokinpolymorphismen innerhalb der RA-Gruppe in Abhängigkeit vom parodontalen Befund (milde/keine PA vs. schwere PA).

Da in den Fragestellungen der Nebenziele ebenso Unterschiede zu erwarten sind, ließen sich nachstehende Arbeitshypothesen festhalten:

Arbeitshypothese III: Es existieren Unterschiede in demographischen Parametern und Keimspektrum zwischen der RA-Gruppe und der Kontroll-Gruppe.

Aufgrund epidemiologischer Zahlen werden für die RA-Gruppe mehr an RA erkrankte Frauen erwartet. Des Weiteren wird vermutet, dass in der Kontroll-Gruppe weniger aktive bis ehemalige Raucher anzutreffen sind.

Arbeitshypothese IV: Es existieren Unterschiede in demographischen Parametern und Keimspektrum (innerhalb der RA-Gruppe: milde/keine PA vs. schwere PA).

In der Gruppe mit schwerer PA wird vermutet erhöhte API- und BOP- Werte zu erheben. Es ist davon auszugehen, dass *Porphyromonas gingivalis* vermehrt bei schwerer PA anzutreffen ist.

Sollten sich die Annahmen bestätigen, dass bestimmte Zytokinpolymorphismen sowohl zur RA als auch PA assoziiert sind, so könnte ein gemeinsamer genetischer Background eine Erklärung für die epidemiologisch nachgewiesene Wechselbeziehung beider Erkrankungen sein. Die Ergebnisse der genetischen Untersuchungen würden es ermöglichen anhand bestimmter Zytokinpolymorphismen das Risiko für RA und/oder PA besser einschätzen zu können.

Da diverse Studien auf eine Beteiligung parodontopathogener Bakterien bei der Entstehung einer RA hinweisen, wurde eine Assoziation der Parodontpathogene zum Auftreten der RA vermutet. Würde die Analyse Unterschiede im Bakterienspektrum in Abhängigkeit vom parodontalen Befund innerhalb der RA-Gruppe und/oder zwischen Kontroll-Gruppe und RA-Gruppe zeigen, so könnten mikrobielle Tests bei PA-Patienten mit dem Nachweis bestimmter parodontopathogener Keime anzeigen, ob auch ein erhöhtes Risiko für die Entwicklung einer RA besteht.

3 Material und Methodik

3.1 Rekrutierung der Patienten

Die Studie wurde als Fall-Kontroll-Studie konzipiert. In die Studie wurden insgesamt 201 Probanden einbezogen, welche sich in 101 RA- sowie 100 Kontroll-Probanden untergliederten. Alle Personen waren kaukasischer deutscher Herkunft und wiesen untereinander kein Verwandtschaftsverhältnis auf. Vor der Untersuchung und Probenentnahme wurde jeder einzelne Proband sowohl mündlich als auch schriftlich über die Inhalte, Datenverwendung und Ziele der Arbeit aufgeklärt. Dabei willigten alle Beteiligten in die Verwendung ihrer Daten in anonymisierter Form ein und stellten sich somit der Untersuchung zur Verfügung. Für die gesamte Studie wurde ein Einverständnis der Ethikkommission der Martin-Luther Universität erteilt. Die gesamte Studie unterlag zudem der Vorschrift der Deklaration von Helsinki (Oktober 2000), sowie der Empfehlung von „good label laboratory practice“ (OECD, 1999) bzw. „good clinical practice“ (FDA, 2003).

3.2 Untersuchungsgruppen

Die Untersuchungsreihe gliederte sich in zwei grundlegende Patienten-Gruppen (Abbildung 7). Eine Gruppe beinhaltete Probanden, die an RA und zugleich an einer PA erkrankt waren (RA-Gruppe). Bezüglich der PA unterschied man innerhalb dieser Gruppe nochmals zwischen milder/keiner und schwerer Form der PA (Tonetti und Claffey, 2005). Nach der Klassifikation von Tonetti und Claffey (2005) wiesen 6 Probanden der RA-Gruppe keine PA auf. Die zweite Gruppe bestand aus Probanden, bei denen keine RA vorlag. Zudem wies sie keine schwere PA auf und stellte die Kontroll-Gruppe der Studie dar.

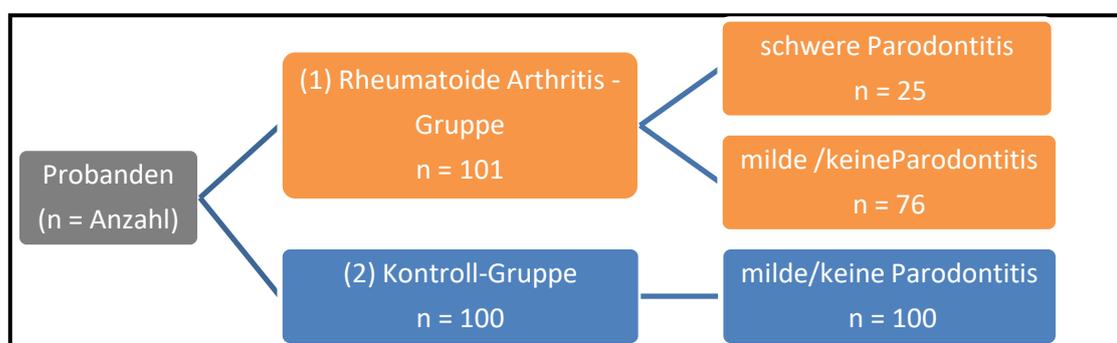


Abbildung 7: Einteilung der Untersuchungsgruppen

Um eine aussagekräftige Vergleichbarkeit zu gewährleisten, unterlagen die einzelnen Probanden-Gruppen verschiedenen Ein- und Ausschluss-Kriterien, die in nachstehenden Tabellen 4 (Kontroll-Gruppe) und 5 (RA-Gruppe) beschrieben:

Tabelle 4: Ein-/Ausschluss-Kriterien der Kontroll-Gruppe

| Einschluss-Kriterien | Ausschluss-Kriterien |
|----------------------|--|
| ≥ 30 Jahre | systemische Antibiotikatherapie in den letzten 6 Monaten |
| | subgingivale Parodontal-Therapie in den letzten 6 Monaten |
| | Schwangerschaft |
| | Allgemeinerkrankungen mit bekannter Assoziation zur PA, (z. B. Diabetes mellitus Typ I/II, koronare Herzerkrankung) |
| | keine Einnahme von Medikamenten, die zu Gingivahyperplasien führen könnten (z. B. Cyclosporin A, Nifedipin oder Hydantoin) |
| | schwere Parodontitis (Tonetti und Claffey, 2005) |
| | Rezession von maximal 4 mm auf oralen oder fazialen Flächen nicht durch Parodontitis bedingt |

PA = Parodontitis, RA = Rheumatoide Arthritis

Tabelle 5: Ein-/Ausschluss-Kriterien der RA-Gruppe

| Einschluss-Kriterien | Ausschluss-Kriterien |
|-----------------------|--|
| ≥18 Jahre | systemische Antibiotikatherapie in den letzten 3 Monaten |
| ≥ 4 Zähne | subgingivale Parodontal-Therapie in den letzten 6 Monaten |
| Rheumatoide Arthritis | Schwangerschaft |
| | Allgemeinerkrankungen mit bekannter Assoziation zur PA, (z. B. Diabetes mellitus Typ I/II, koronare Herzerkrankung) |
| | keine Einnahme von Medikamenten, die zu Gingivahyperplasien führen könnten (z. B. Cyclosporin A, Nifedipin oder Hydantoin) |

PA = Parodontitis, RA = Rheumatoide Arthritis

Um die Diagnose der RA zu sichern, wurde die Beurteilung nach aktueller Klassifikation der American Rheumatism Association (American College of Rheumatology) von 1987 vorgenommen. Erfahrene Rheumatologen des Reumahauses in Potsdam (Berufsausübungsgemeinschaft Bohl-Bühler & Dr. Weinerth), der Internistischen Rheumatologischen Arztpraxis (Dr. Liebhaber) sowie der Klinik für Innere Medizin II des Universitätsklinikums Halle (Arbeitsbereich Rheumatologie, Prof. G. Keyßer, Dr. Ch. Schäfer) waren in die Rekrutierung der Patienten involviert. Es wurden folgende Kriterien beurteilt:

- Morgensteifigkeit
 - Arthritis ≥ 3 Gelenke
 - Arthritis an der Hand
 - Symmetrische Arthritis
 - Rheumaknoten
 - Rheumafaktor im Serum
 - Radiologische Veränderungen
- } >6 Wochen

Lagen die ersten vier Kriterien für einen Zeitraum von mindestens 6 Wochen vor und wurden 4 von 7 Kriterien erfüllt, so wurde die Diagnose der RA sichergestellt.

Innerhalb der RA-Gruppe unterschied man weiterhin zwischen milder/keiner und schwerer Form der PA. Definitionsgemäß (Tonetti und Claffey, 2005) lag eine PA bei klinischem Attachmentverlust (CAL) $\geq 3\text{mm}$ an mindestens zwei nicht benachbarten Zähnen vor. Der CAL stellte die Differenz zwischen Schmelz-Zement-Grenze und apikalem Stopp der Sonde bei einer Sondierkraft von $0,2\text{N}$ dar. Als schwere PA wurden Befunde mit einem approximalen CAL $\geq 5\text{mm}$ in $\geq 30\%$ der Zähne deklariert. Die Rekrutierung und parodontologischen Untersuchungen der RA-Gruppe wurden von Frau Elisa Jurianz im Rahmen Ihrer Dissertation (Parodontitis, parodontale Bakterien und HLA-Allele in Relation zur Bildung von Anti-CCP und Anti-CEP-1 Antikörpern bei Patienten mit Rheumatoider Arthritis) vorgenommen.

Sowohl die Probanden der RA-Gruppe als auch die der Kontroll-Gruppe wurden nach dem Nikotinkonsum befragt. Differenziert wurde zwischen Nichtrauchern, Rauchern und ehemaligen Rauchern. Bestätigte der Proband zum Untersuchungszeitpunkt seit mindestens einem Jahr nicht mehr geraucht zu haben, konnte er als ehemaliger Raucher klassifiziert werden. Die Anzahl der gerauchten Zigaretten pro Tag wurde ebenfalls notiert. In der Anamnese wurde der Studienproband u. a. gefragt, ob bei Eltern oder Geschwistern ein frühzeitiger Zahnverlust infolge von Zahnlockerung auftrat.

3.3 Zahnärztliche Untersuchung

Zur Erfassung klinisch relevanter Parameter sowie zur Erhebung der Diagnose wurden die Patienten nach dem Schema eines speziell erstellten Patientenbogens untersucht. Dieser erfasste folgende Aspekte:

- Angaben zur Person: Name, Vorname, Geschlecht, Geburtsdatum, ethnische Zugehörigkeit, Telefonnummer, Adresse, Herkunftsland
- Allgemeine Ein-/Ausschluss- Kriterien (siehe 3.2. Tabelle 4 und 5)
- Anamnese: Erkrankungen (Herz, Stoffwechsel, Infektion), Allergien, Schwangerschaft, Größe, Gewicht, systemische Antibiotikatherapie innerhalb der letzten 6/3 Monate, subgingivale PA-Therapie innerhalb der letzten 6 Monate, Medikamente (z. B. Hydantoin, Ca-Blocker, Cyclosporin A), frühzeitiger Zahnverlust durch Zahnlockerung bei Eltern oder Geschwistern, Rauchverhalten
 - (a) Ehemaliger Raucher: ≥ 12 Monate rauchfrei (Zeit in Jahren seit letztem Nikotinkonsum)
 - (b) Raucher: aktiver Raucher/Personen, die seit ≤ 12 Monate rauchfrei (Anzahl der Zigaretten pro Tag)
 - (c) Nichtraucher

- Auf den gesonderten Befundblättern waren die Parameter Sondiertiefe (mm), Attachmentverlust in mm, Sondierblutung (BOP) in % und Approximaler Plaque-Index (API) in % zu dokumentieren.

Die klinischen Messungen für die RA-Gruppe erfolgten mittels druckkalibrierter Sonde (VIVACARE TPS PERIODONTAL PROBE Schaan, Liechtenstein oder DB764R Aesculap AG & Co. KG, Tuttlingen, Deutschland). Innerhalb der Kontroll-Gruppe wurde eine nicht druckkalibrierte Sonde mit einer Millimeter-Skalierung (PCPUNC156, Hu-Friedy) zur Erhebung der Daten verwendet.

Anhand des Befundes wurde die Auswertung vorgenommen und die folgenden klinischen Daten erhoben:

- PDmax (mm): Summe höchster Wert pro Zahn nach Sechspunktmessung/Gesamtanzahl Zähne
- CALmax (mm): Summe höchster Wert pro Zahn nach Sechspunktmessung/Gesamtanzahl Zähne
- prozentualer Anteil Zähne mit PD < 4 mm /4-6 mm /> 6 mm
- prozentualer Anteil Zähne mit CAL < 4 mm /4-6 mm /> 6 mm
- fehlende Zähne (exklusive Weisheitszähne)
- API (%): $\frac{\text{Anzahl Plaque positive Approximalräume}}{\text{Gesamtanzahl der Approximalräume}} \times 100$
- BOP (%)
 - (a) Zahn bezogen: $\frac{\text{Anzahl BOP positiv}}{\text{Gesamtanzahl Zähne}} \times 100$
 - (b) Zahnflächen bezogen: $\frac{\text{Anzahl Zahnflächen BOP positiv}}{\text{Gesamtanzahl Zahnflächen}} \times 100$
- Mibi-Testsites: höchster Wert für PD pro Quadrant
- Mibi-Befund

3.4 Molekularbiologischer Nachweis subgingivaler parodontaler Markerkeime (micro-IDent®-Test)

Zur mikrobiellen Bestimmung des im Sulkus bzw. der parodontalen Tasche vorkommenden Bakterienspektrums diente der Micro-Ident-Test der Firma Hain (Hain Diagnostica, Nehren). Die intraorale Probenentnahme erfolgte jeweils in einem Testparodontium mit der höchsten Sondiertiefe pro Quadrant. Sie wurde mittels Papier spitzen durchgeführt. Der Nachweis der DNA bakterieller Markerkeime erfolgte mittels der DNA•STRIP-Technologie. Auf diese Weise war es möglich, die DNA folgender fünf parodontopathogener Bakterien-Spezies nachzuweisen: *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (A.a.), *Porphyromonas gingivalis* (P.g.), *Prevotella intermedia*

(*P.i.*), *Tannerella forsythia* (*T.f.*) und *Treponema denticola* (*T.d.*). Das Testverfahren bestand aus drei grundlegenden Schritten. Zunächst erfolgte die intraorale Probenentnahme, anschließend die Isolation der bakteriellen DNA und als letzte Maßnahme die Multiplex-Amplifikation mittels Biotin-markierter Primer sowie reverser Hybridisierung.

3.4.1 Intraorale Probenentnahme mittels micro-IDent®-Test

Bevor die Papierspitzen in den Sulkus eingeführt wurden, mussten eine supragingival plaquefreie Zahnoberfläche und eine relative Trockenlegung gewährleistet sein. Anschließend wurden die Papierspitzen für 20 sec in der jeweiligen Zahnfleischtasche positioniert. Ausschließlich steriles Instrumentarium wurde verwendet, damit eine Fremdkontamination ausgeschlossen werden konnte. Die vier Papierspitzen wurden nun in einem Plastikröhrchen gemeinsam (gepoolt) aufbewahrt. Die Proben wurden bis zur DNA-Präparation maximal 7 Tage bei 4°C gelagert.

3.4.2 Isolation bakterieller DNA mittels QIAamp® DNA Mini-Kits

Die Isolation der bakteriellen DNA, die PCR sowie die Hybridisierung erfolgten im Labor der Universitätsklinik für Zahnerhaltungskunde und Parodontologie persönlich oder unter Verantwortung der Leiterin Frau PD Dr. S. Schulz.

Für die DNA-Isolation wurde ein Kit der Firma QIAGEN (Qiagen, Hilden, Deutschland) verwendet und nach Protokoll des Herstellers angewandt. Das nach Zentrifugation erhaltene Filtrat beinhaltete schließlich die isolierte DNA und wurde in ein separates Tube überführt. Das Tube mit der bakteriellen DNA wurde bei -20°C aufbewahrt.

3.4.3 Amplifikation bakterieller DNA mittels Polymerasekettenreaktion

Der Nachweis parodontaler Markerkeime erfolgte mithilfe des Kits der Firma HAIN-Lifescience (Nehren, Deutschland) und wurde nach Herstellerangaben durchgeführt. Als Voraussetzung für die sich anschließende Hybridisierung diente die Polymerasekettenreaktion (PCR). Bakterienspezifische DNA-Abschnitte wurden vervielfältigt so dass diese mit der anschließenden Hybridisierung sicher nachgewiesen werden konnten. Die Nachweisgrenze (cut-off) betrug für *A.a.* (10^3 genome equivalents) und für *P.g.*, *P.i.*, *T.f.* und *T.d.* 10^4 genome equivalents. Die humane DNA lag nun im Vergleich zur bakteriellen DNA (via PCR exponentiell vervielfältigt) in sehr viel geringerer Menge vor. Auf diese Weise konnte sichergestellt werden, dass die humane DNA den Hybridisierungsvorgang, bei der Analyse der bakteriellen DNA, nicht beeinträchtigte.

3.4.4 Hybridisierung oraler parodontaler Markerkeime

Der micro-IDent®-Test (Hain-Lifescience, Nehren, Deutschland) beruht auf der DNA•STRIP-Technologie. Diese Membranstreifen sind mit hochspezifischen Sonden beschichtet. Die Sonden verhalten sich komplementär zur selektiv amplifizierten Nukleinsäure und binden die spezifischen Amplifikate. Bestandteil dieser Technologie ist, dass unspezifisch gebundene Amplifikate mittels Waschpufferlösung in mehreren Schritten entfernt werden.

Erster Schritt der Hybridisierung stellte die Denaturierung der zuvor mittels PCR gewonnenen doppelsträngigen Amplifikationsprodukte dar. Alle Arbeitsschritte wurden nach Protokoll des Herstellers durchgeführt. Anhand der in Abbildung 8 dargestellten Schablone war es nun möglich die Ergebnisse abzulesen.

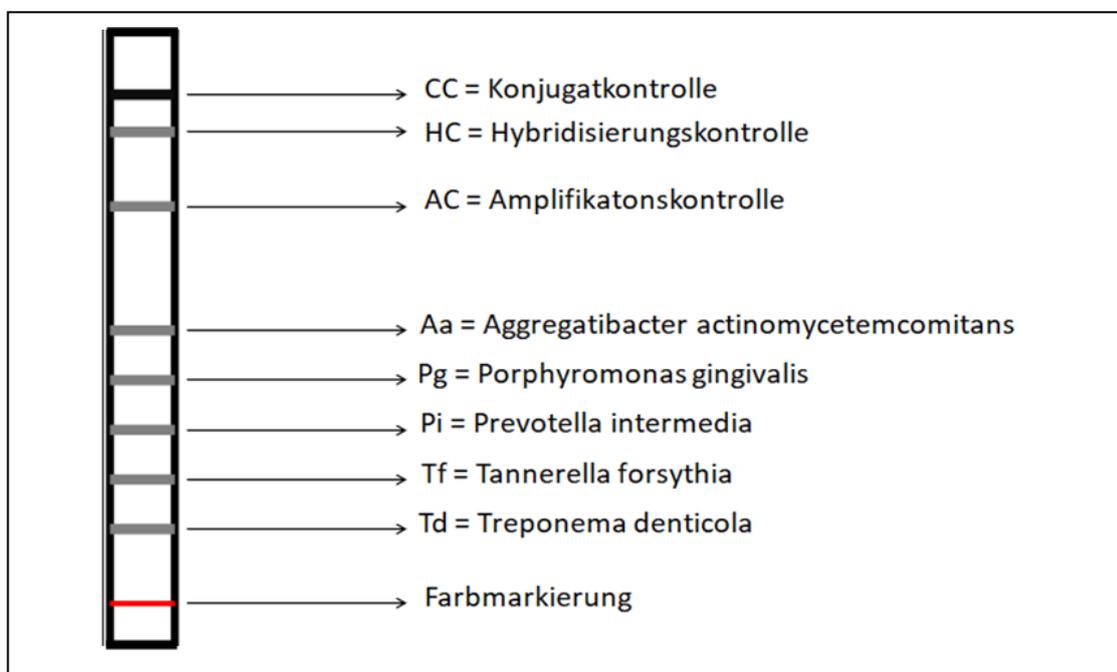


Abbildung 8: Markerkeim-Schablone

Die ersten drei Banden stellen testspezifische Kontrollen dar. Die Konjugatkontrolle gibt Aufschluss über die Effizienz der Konjugatbindung und Substratreaktion. Fehlt diese Bande, so ist der Test fehlerhaft.

Über die Effizienz des Hybridisierungs-Vorgangs informiert die Hybridisierungskontrolle. Auch sie muss sichtbar sein.

Als letzte Überprüfung diente die Amplifikationskontrolle. Sie lieferte die Sicherheit über die korrekte Durchführung der PCR.

3.5 Zytokingenotypisierung mittels CTS-PCR-SSP Tray-Kit (Heidelberg)

3.5.1 DNA-Isolation mittels QIAamp® DNA Blood Mini-Kits

Das zur Verfügung stehende Blut der einzelnen Probanden diente zur Isolierung der DNA. Diese erfolgte mithilfe des QIAamp®-DNA-Blood-Kits nach Herstellerangaben (Qiagen, Hilden, Deutschland).

3.5.2 Vervielfältigung humaner DNA mittels Polymerasekettenreaktion

Eine mit spezifischen Primern vorpipettierte 96 well Platte der Universität Heidelberg stand für die Untersuchungen zur Verfügung.

Nach folgendem Pipettierschema wurde der PCR-Mix hergestellt:

- 139 µl Mastermix (2 x Mix)
- 100 µl DNA
- 279 µl destilliertes Wasser
- 2,6 µl Taq-Polymerase (Thermo Scientific, Waltham, USA)

Jeweils 10 µl dieses Mixes wurden nun in die einzelnen wells pipettiert. Das nachfolgende PCR-Programm gliederte sich im Ablauf wie folgt:

- | | | |
|----------|------|------------------------|
| • 2 min | 94°C | |
| • 15 sec | 94°C | } Goto 2 Rep 10 |
| • 1 min | 65°C | |
| • 45 sec | 72°C | |
| • 15 sec | 94°C | |
| • 50 sec | 61°C | } Goto 5 Rep 20 |
| • 45 sec | 72°C | |
| • Hold | 10°C | |

3.5.3 Nachweis der genomischen DNA im Agarosegel

Mithilfe eines 2%igen Agarosegels, dem ein DNA-Farbstoff beigeetzt wurde, konnte nach der Elektrophorese, unter UV-Transilluminator-Exposition, ein Bandenmuster dargestellt werden. Dieses spiegelte die Auftrennung der DNA-Fragmente in ihre Länge wider. Anhand einer Tabelle (siehe Anhang) gelang es nun eine Zytokingenotypisierung vorzunehmen.

Eine Menge von 1 g Agarose (Biozym, Scientific GmbH, Hessisch Oldendorf, Deutschland) wurde mit 50 ml 0,5xTBE-Puffer gemischt und bis zum Sieden erhitzt. Nach Hinzugabe von 25 µl Midori Green Advance DNA-Farbstoff (Biozym, Scientific GmbH, Hessisch Oldendorf, Deutschland) wurde das Agarosegel in eine spezielle Elektrophorese-Kammer gegossen. Nach Aushärtung des Gels wurden 9,5 µl PCR-

Ansatz in die Kammern aufgetragen. Als Laufpuffer wurde ebenfalls 0,5xTBE-Puffer verwendet. Der Elektrophoresevorgang wurde für eine Dauer von 8 min bei 180 V durchgeführt. Anschließend erfolgte die UV-Anregung bei einer Wellenlänge von 320 nm auf einem UV-Transilluminator. Auf diese Weise konnte das Ergebnis abgelesen (siehe Anhang), notiert und per Fotodokumentation archiviert werden.

3.5.4 Zytokingenotypisierung mittels CTS-PCR-SSP Tray-Kit (Heidelberg)

Die Zytokingenotypisierung erfolgte ebenso im Labor der Universitätsklinik für Zahn-erhaltungskunde und Parodontologie persönlich oder unter Verantwortung der Leiterin Frau PD Dr. S. Schulz. Die Typisierung wurde mithilfe des CTS-PCR-SSP Tray-Kits der Universität Heidelberg (Institut für Immunologie und Serologie) durchgeführt. Dabei erfolgte eine PCR unter der Verwendung sequenz-spezifischer Primer (siehe 3.5.2). Die nachfolgende schematische Darstellung soll einen Überblick zu den untersuchten Zytokinpolymorphismen geben (Abbildung 9).

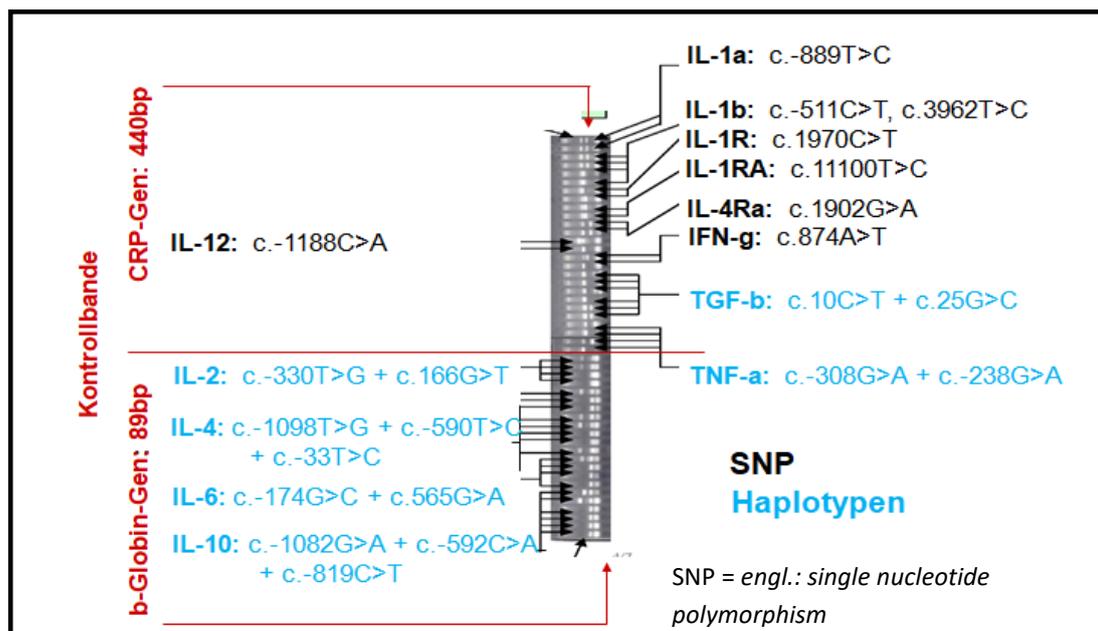


Abbildung 9: Schematische Darstellung 22 untersuchter Zytokinpolymorphismen

Im Anschluss an die PCR-SSP konnte mittels Gel-Elektrophorese und verwendetem Fluoreszenzfarbstoff das Genmaterial in Masse und Fragmentlänge aufgetrennt sowie sichtbar dargestellt werden (siehe 3.5.3). Die Qualität der Ergebnisse konnten anhand einer stetig mitgeführten Positiv-Kontrolle (440 bp oder 89 bp) bestätigt werden (Abbildung 10-12). Das Gel sämtlicher Patientenproben wurde fotografisch dokumentiert. Anhand der Abbildungen 10-12 werden schematisch die Fragmentmuster im Gel des SNP rs1801275 im IL4R- α -Gen, des SNP rs2430561 im IFN- γ -Gen und

des SNP rs361525 im TNF- α -Gen dargestellt und jeweils mit der originalen Fotodokumentation bestimmter Patientenproben gegenüber gestellt.

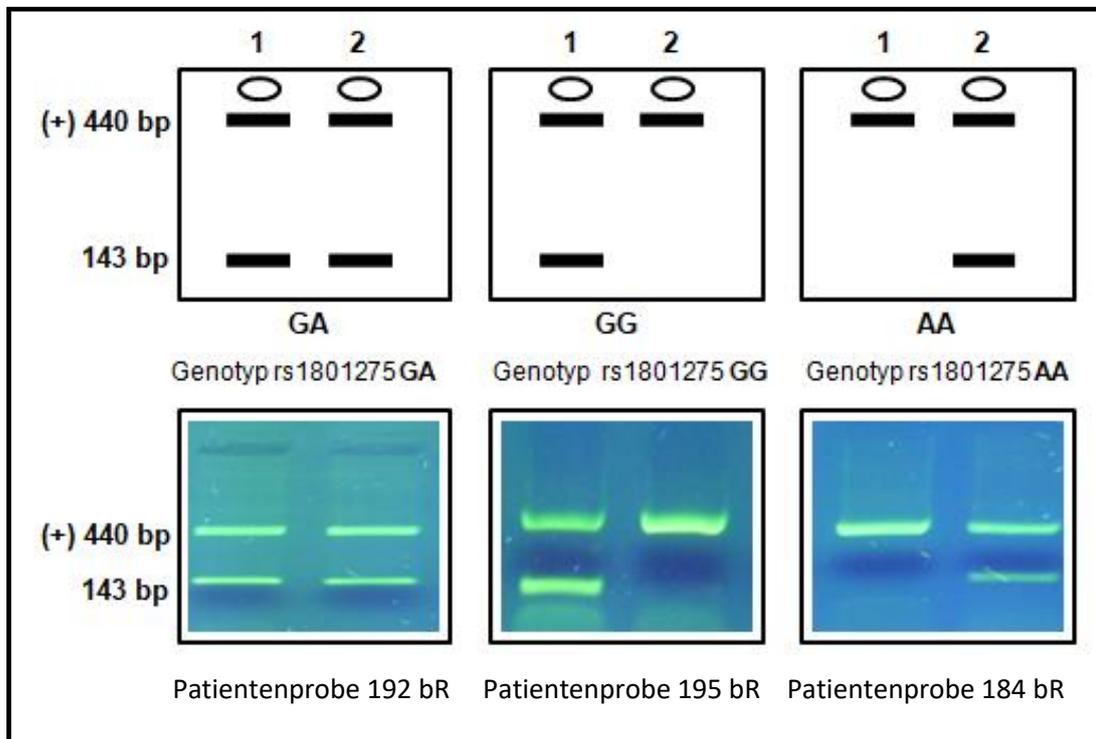


Abbildung 10: Schematische (oben) und fotografische (unten) Darstellung der Agarselektrophorese des SNPs rs1801275 im IL4R- α -Gen

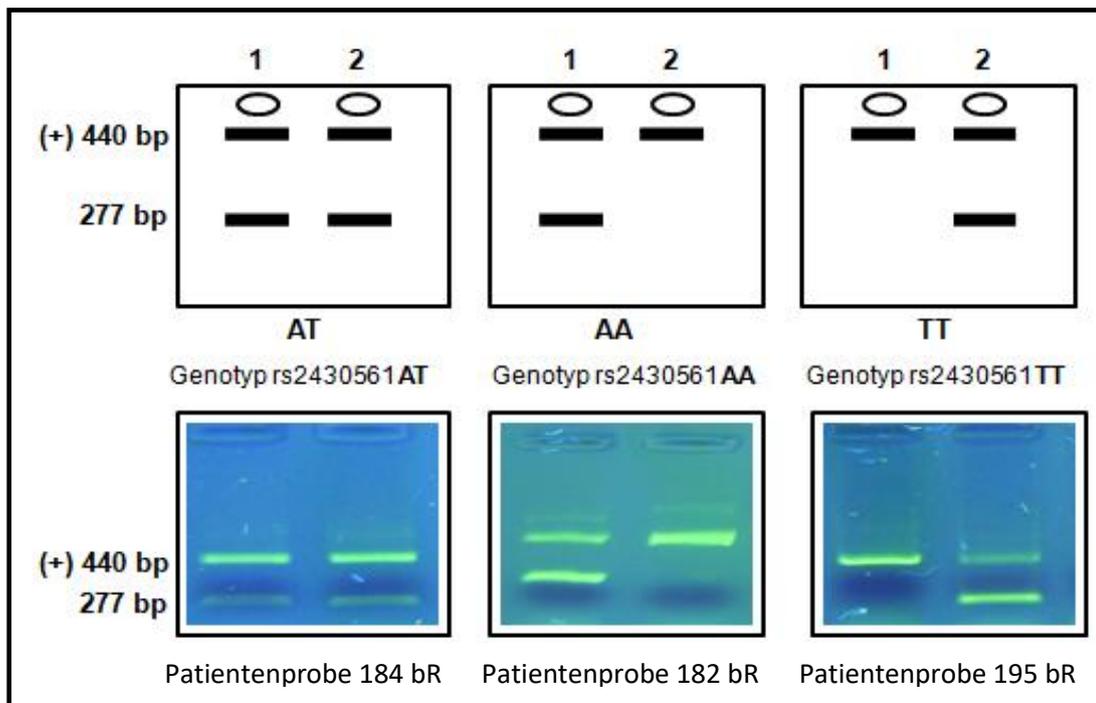


Abbildung 11: Schematische (oben) und fotografische (unten) Darstellung der Agarselektrophorese im des SNPs rs2430561 im IFN- γ -Gen

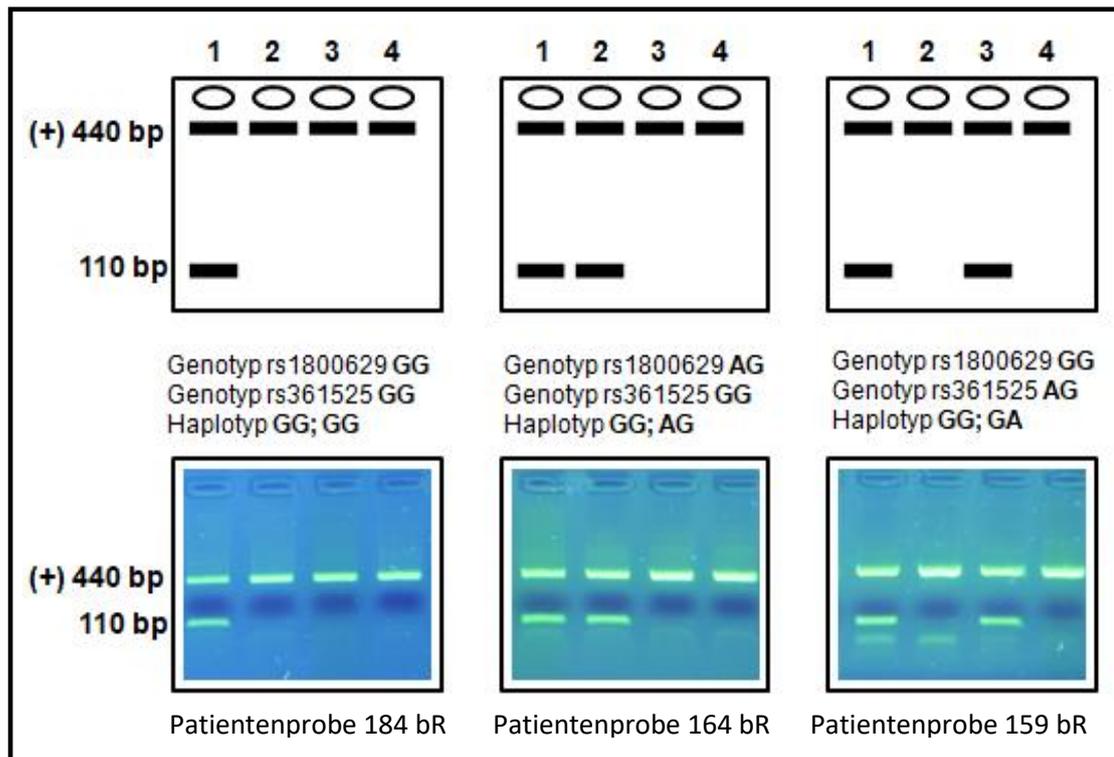


Abbildung 12: Schematische (oben) und fotografische (unten) Darstellung der Agrosegelelektrophorese im des SNPs rs361525 im TNF- α -Gen

3.6 Statistische Methoden

Die Auswertung der Daten erfolgte mit dem Programm IBM SPSS Statistics 25 (SPSS 25.0 package, Chicago, IL). Das Signifikanzniveau wurde auf $p \leq 0,05$ festgelegt.

Mithilfe des Kolmogorow-Smirnov-Tests konnten die metrischen Daten auf Normalverteilung getestet werden. Der Test nach Levene war das Verfahren zur Testung der Varianzhomogenität. Lag eine Normalverteilung vor, wurden Mittelwertvergleiche mithilfe des T-Tests durchgeführt. Bei Daten ohne Normalverteilung wurden die Mediane mittels Mann-Whitney-U-Test verglichen.

Kategoriale Variablen wurden mit Hilfe des Chi²-Tests nach Pearson und im Falle von Vierfeldertafeln mit Yates-Korrektur (Continuity Correction) verglichen. War die erwartete Häufigkeit in einer Zelle der Vierfeldertafel < 5 wurde der Fisher Exakt-Test durchgeführt.

Mittels binärer logistischer Regression wurde der gleichzeitige Einfluss mehrerer Faktoren (z. B. Alter, Geschlecht, Nikotinkonsum, Nachweis von *P. gingivalis*, bestimmter Genotyp auf eine dichotome Zielvariable (z. B. RA ja oder nein) geprüft. Dadurch sollte getestet werden, ob der entsprechende Genotyp oder ein Allel ein von anderen Einflussfaktoren unabhängiger Risikoindikator für RA ist.

4 Ergebnisse

4.1 Auswertungsstrategie

Zunächst erfolgte die Auswertung demographischer und klinischer Parameter und des Bakterienspektrums. Darüber hinaus wurde die Genotyp-, Allel- und Haplotypverteilung aller im CTS-Kit analysierter Polymorphismen untersucht. Die Analyse erfolgte im Vergleich der RA-Gruppe mit der Kontroll-Gruppe sowie innerhalb der RA-Gruppe.

Mittels binärer logistischer Regression sollte getestet werden, ob der entsprechende Genotyp bzw. das Allel einen unabhängigen Risikofaktor darstellt. Deshalb wurden die Kofaktoren, welche aus den vorangegangenen Ergebnissen (Auswertung demographischer und klinischer Parameter sowie Bakterienspektrum) mit einer RA und PA assoziiert waren, zusätzlich zur Genotyp- bzw. Allelverteilung in die statistischen Untersuchungen einbezogen. Zu den Kofaktoren zählten Alter, weibliches Geschlecht, der individuelle Nachweis von *P.g.* und der Raucherstatus.

4.2 RA-Gruppe im Vergleich zur Kontroll-Gruppe ohne RA

4.2.1 Vergleich demographischer und klinischer Parameter bei RA-Patienten (RA-Gruppe) und Kontroll-Probanden ohne RA (Kontroll-Gruppe)

Die Probanden der Kontroll-Gruppe ohne RA waren signifikant jünger als die der Test-Gruppe mit RA. Des Weiteren waren in der Kontroll-Gruppe mehr Männer als in der RA-Gruppe vertreten. Weitere Signifikanzen ließen sich bezüglich des Nikotinkonsums festhalten. Innerhalb der RA-Gruppe gab es mehr Raucher und ehemalige Raucher.

Bezüglich der klinisch parodontologischen Parameter konnten signifikant erhöhte Werte beim PD sowie CAL registriert werden. Die Daten für BOP und API waren dagegen in der RA- im Vergleich zur Kontroll-Gruppe nicht signifikant unterschiedlich (Tabelle 6).

Tabelle 6: Demographische und klinische Parameter in der RA- Gruppe im Vergleich zur Kontroll-Gruppe

| Variablen | RA-Gruppe (n = 101) | Kontroll-Gruppe (n = 100) | p-Wert |
|--|------------------------|------------------------------|-----------|
| Demographische Parameter | | | |
| Alter (Jahre), Mittelwert \pm SD | 54,78 \pm 13,11 | 45,77 \pm 11,13 | <0,001* |
| Geschlecht (%) | | | |
| - männlich | 28,7 | 50 | 0,002** |
| - weiblich | 71,3 | 50 | 0,002** |
| derzeitige Raucher (%) | 24,8 | 20,0 | 0,005** |
| ehemaliger Raucher (%) | 33,7 | 17,0 | 0,005** |
| Nichtraucher (%) | 41,6 | 63,0 | 0,005** |
| Klinische Parameter | | | |
| API ,Median in %; (25%/75% Perzentile) | 38,10 (16,05/68,0) | 38,00 (28,70/59,25) | 0,372*** |
| BOP/Zahn ,Median in %; (25%/75% Perzentile) | 38,5 (19,1/68,8) | 42,40 (23,56/62,85) | 0,934*** |
| BOP/Fläche ,Median in %; (25%/75% Perzentile) | 9,5 (3,85/22,7) | 8,65 (4,8/19,83) | 0,664*** |
| PD ,Median in mm; (25%/75% Perzentile) | 4,00 (3,00/5,50) | 2,53 (2,27/2,79) | <0,001*** |
| CAL, Median in mm; (25%/75% Perzentile) | 4,10 (3,18/5,85) | 2,84 (2,56/3,20) | <0,001*** |

*= T-Test, **= Chi²-Test, p-Werte berichtigt mit Yates-Korrektur, ***= Mann-Whitney-U-Test, RA = Rheumatoide Arthritis, SD = Standardabweichung, API = approximaler Plaque-Index, BOP = Blutungsindex (*engl.: Bleeding on Probing*), PD = Sondiertiefe (*engl.: pocket depth*), CAL = klinischer Attachmentverlust (*engl.: clinical attachment loss*)

4.2.2 Vergleich der subgingivalen Keimbesiedlung bei RA-Patienten (RA-Gruppe) und Kontroll-Probanden ohne RA (Kontroll-Gruppe)

Bei der Gegenüberstellung der RA- und der Kontroll-Gruppe konnten Signifikanzen bezüglich der Bakterien *A.a.* und *P.g.* festgestellt werden. In der Kontroll-Gruppe waren mehr Probanden *A.a.* positiv im Vergleich zur RA-Gruppe. Hingegen waren in der RA-Gruppe mehr Patienten *P.g.* positiv. Keine Signifikanzen waren hinsichtlich der Bakterien *P.i.*, *T.f.* und *T.d.* festzustellen (Tabelle 7).

Tabelle 7: DNA-Nachweis ausgewählter parodontaler Bakterien bei RA-Patienten im Vergleich zur Kontroll-Gruppe ohne RA

| Variablen | RA-Gruppe (n = 101) % positive Individuen | Kontroll-Gruppe (n = 100) % positive Individuen | p-Wert |
|--|---|---|---------|
| Bakterienspektrum | | | |
| <i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i> | 5,9 | 16,0 | 0,022** |
| <i>Porphyromonas gingivalis</i> | 43,6 | 21,0 | 0,001** |
| <i>Prevotella intermedia</i> | 24,8 | 28,0 | 0,601** |
| <i>Tannerella forsythia</i> | 79,2 | 68,0 | 0,071** |
| <i>Treponema denticola</i> | 66,3 | 62,0 | 0,521** |

**= Chi²-Test, p-Werte korrigiert mit Yates-Korrektur, RA=Rheumatoide Arthritis

4.2.3 Genotyp- und Allelverteilung der im CTS-Kit untersuchten Zytokinpolymorphismen bei RA-Patienten (RA-Gruppe) im Vergleich zu Kontroll-Probanden ohne RA (Kontroll-Gruppe)

In der RA-Gruppe waren mehr Individuen Träger des G-Allels des IL-4R- α SNPs rs1801275 im Vergleich zur Kontroll-Gruppe ohne RA ($p = 0,043$). Unter den Patienten mit RA waren tendenziell häufiger GG-Genotypträger (Tabelle 8).

Das G-Allel und der GG-Genotyp des SNP rs1801275 im IL4R- α -Gen konnten im multivariaten Modell nicht als unabhängige Risikofaktoren für RA bestätigt werden. Dagegen waren das Alter, weibliches Geschlecht, Rauchen und der Nachweis von *P.g.* mit einer erhöhten adjustierten Odds ratio für RA assoziiert (Tabelle 9).

Tabelle 8: Genotyp- und Allelverteilung des IL4R- α -SNP rs1801275 bei RA-Patienten im Vergleich zur Kontroll-Gruppe ohne RA

| IL4R- α SNP rs1801275 | Gesamt | RA-Gruppe | Kontroll-Gruppe | p-Wert |
|---------------------------------|-----------|-------------------|-----------------|---------|
| Genotypen | (n = 200) | (n = 100) | (n = 100) | |
| AA (%) | 66 | 60 | 72 | 0,150** |
| AG (%) | 29 | 33 | 25 | |
| GG (%) | 5 | 7 [↑] | 3 | |
| Allele | (n = 400) | (n = 200) | (n = 200) | |
| A (%) | 80,5 | 76,5 | 84,5 | 0,043** |
| G (%) | 19,5 | 23,5 [↑] | 15,5 | |

**= Chi²-Test, p-Werte korrigiert mit Yates-Korrektur, RA=Rheumatoide Arthritis,

[↑] = signifikantes Ergebnis, [↑] = Tendenz zu einer Signifikanz

Tabelle 9: Assoziation (adjustiert) des Allels G des IL4R- α -SNP rs1801275 zur Prävalenz der RA (RA-Gruppe vs. Kontroll-Gruppe)

| Variablen | Regressionskoeffizient B | Sig. | Exp. (B) | Konfidenzintervall (B) | |
|-------------------------|--------------------------|------|----------|------------------------|-------------|
| | | | | Unterer Wert | Oberer Wert |
| Alter | ,056 | ,000 | 1,058 | 1,038 | 1,077 |
| Geschlecht (weiblich) | ,897 | ,000 | 2,451 | 1,554 | 3,867 |
| Raucher (current/past) | ,841 | ,000 | 2,319 | 1,480 | 3,636 |
| <i>P.g.</i> positiv | ,655 | ,008 | 1,925 | 1,183 | 3,133 |
| SNP rs1801275 (Allel G) | ,336 | ,248 | 1,399 | ,791 | 2,474 |

$R^2 = 0,278$, current = derzeitige Raucher, past = ehemalige Raucher, RA=Rheumatoide Arthritis

Weitere signifikante Unterschiede waren bei Betrachtung der Allelverteilung des SNP rs361525 im TNF- α -Gen festzustellen. Das G-Allel wurde sowohl in der RA-, als auch in der Kontroll-Gruppe wesentlich häufiger als das A-Allel exprimiert ($p=0,005$). In der RA-Gruppe waren signifikant weniger Probanden Allel A positiv (Tabelle 10).

Die Analyse des SNP rs361525 im TNF- α -Gen wies keine signifikanten Assoziationen hinsichtlich des Genotyps zur RA auf. Allerdings trat der Genotyp AG bei RA-Patienten tendenziell vermindert auf. Für den TNF- α Polymorphismus rs3615259 konnte sowohl für die Genotyp- als auch für die Allelverteilung kein signifikantes Ergebnis verzeichnet werden.

In der binären logistischen Regression wurde getestet, ob das G-Allel bzw. der AG-Genotyp des SNP rs361525 im TNF- α -Gen als unabhängige Risikofaktoren für das Auftreten von RA heranzuziehen sind. Es fanden sich signifikante Ergebnisse zum Alter, weiblichen Geschlecht und Rauchverhalten. Beim G-Allel trat zusätzlich *P.g. als* signifikantes Ergebnis auf. Die Assoziation des G-Allels oder des AG-Genotyps des SNP rs361525 im TNF- α -Gen konnte nach binärer logistischer Regressionsanalyse nicht bestätigt werden. (Tabelle 11)

Die Analyse des rs1800629 sowie der Haplotypen des TNF- α -Gens wiesen keine Signifikanzen auf.

Tabelle 10: Genotyp- und Allelverteilung der TNF- α -SNPs rs361525 und rs1800629 bei Patienten mit RA im Vergleich zur Kontroll-Gruppe

| TNF- α SNP rs361525 | Gesamt | RA-Gruppe | Kontroll-Gruppe | p-Wert |
|-------------------------------|-----------|-----------|-----------------|----------|
| Genotypen | (n = 201) | (n = 101) | (n = 100) | |
| AA (%) | 1 | 1 | 1 | 0,186*** |
| AG (%) | 10,9 | 6,9 ↓ | 15 | |
| GG (%) | 88,1 | 92,1 | 84 | |

| Allele | (n = 201) | (n = 101) | (n = 100) | |
|--------------------------------|---------------|------------------|-----------------------------|---------------|
| A (%) | 5,5 | 1 ↓ | 10 | 0,005*** |
| G (%) | 94,5 | 99 | 90 | |
| TNF-α SNP rs1800629 | Gesamt | RA-Gruppe | Kontroll- Gruppe | p-Wert |
| Genotypen | (n = 195) | (n = 100) | (n = 95) | |
| AA (%) | 1,5 | 2 | 1 | 0,857*** |
| AG (%) | 25,9 | 26,7 | 25 | |
| GG (%) | 72,6 | 71,3 | 74 | |
| Allele | (n = 402) | (n = 202) | (n = 200) | |
| A (%) | 14,4 | 15,3 | 13,5 | 0,598** |
| G (%) | 85,6 | 84,7 | 86,5 | |
| Haplotypen | (n = 402) | (n = 202) | (n = 200) | |
| GG (%) | 78,1 | 80,2 | 76 | 0,343*** |
| AG (%) | 15,2 | 14,9 | 15,5 | |
| GA (%) | 6,7 | 5 | 8,5 | |

**= Chi²-Test, p-Werte korrigiert mit Yates-Korrektur, RA = Rheumatoide Arthritis,

↑ = signifikantes Ergebnis, ↓ = Tendenz zu einer Signifikanz

Tabelle 11: Assoziation (adjustiert) des Allels G des TNF-α-SNP rs361525 zur Prävalenz der RA (RA-Gruppe vs. Kontroll-Gruppe)

| Variablen | Regressions- koeffizient B | Sig. | Exp. (B) | Konfidenzintervall (B) | |
|------------------------|---------------------------------------|-------------|---------------------|-------------------------------|------------------------|
| | | | | Unterer Wert | Oberer Wert |
| Alter | ,056 | ,000 | 1,058 | 1,038 | 1,078 |
| Geschlecht (weiblich) | ,887 | ,000 | 2,429 | 1,538 | 3,835 |
| Raucher (current/past) | ,863 | ,000 | 2,371 | 1,514 | 3,714 |
| P.g. positiv | ,676 | ,006 | 1,965 | 1,210 | 3,191 |
| SNP rs361525 (G-Allel) | ,370 | ,422 | 1,447 | ,587 | 3,568 |

R² = 0,281, current = derzeitige Raucher, past = ehemalige Raucher, RA=Rheumatoide Arthritis

Alle anderen im CTS-Kit untersuchten Zytokinpolymorphismen waren nicht zur Prävalenz der RA assoziiert (Tabellenanlage I).

4.3 Ergebnisse innerhalb der RA-Gruppe in Abhängigkeit vom Schweregrad der Parodontitis

4.3.1 Vergleich demographischer und klinischer Parameter innerhalb der RA-Gruppe (schwere Parodontitis vs. milde/keine Parodontitis)

Bei dem Vergleich schwerer und milder/keiner PA innerhalb der RA-Gruppe ergaben sich bezüglich der demographischen Parameter geschlechtsspezifisch signifikante Unterschiede. Unter den Probanden befanden sich mehr Männer, die neben der RA an schwerer PA erkrankt waren. Hinsichtlich des Alters und des Nikotinkonsums konnten keine signifikanten Unterschiede registriert werden.

Die klinischen Parameter wie API und BOP wiesen Signifikanzen auf. In allen Fällen waren die Werte bei RA-Patienten mit schwerer PA erhöht (Tabelle 12).

Tabelle 12: Demographische und klinische Parameter innerhalb der RA-Gruppe (schwere PA vs. milde/keine PA)

| Variablen | schwere PA (n = 25) | milde/keine PA (n = 76) | p-Wert |
|--|------------------------|----------------------------|-----------|
| Demographische Parameter | | | |
| Alter (Jahre), Mittelwert \pm SD | 58,24 \pm 10,26 | 53,64 \pm 13,78 | 0,129* |
| Geschlecht (%) | | | |
| - männlich | 48,0 | 22,4 | 0,014** |
| - weiblich | 52,0 | 77,6 | 0,014** |
| derzeitiger Raucher (%) | 36,0 | 21,1 | 0,102** |
| ehemaliger Raucher (%) | 40,0 | 31,6 | 0,102** |
| Nichtraucher (%) | 24,0 | 47,4 | 0,102** |
| Klinische Parameter | | | |
| API, Median in %; (25%/75% Perzentile) | 66,0 (41,5/83,15) | 27,80 (9,53/57,75) | <0,001*** |
| BOP/Zahn, Median in %; (25%/75% Perzentile) | 60,0 (35,6/89,9) | 32,65 (17,75/62,50) | 0,001*** |
| BOP/Fläche, Median in %; (25%/75% Perzentile) | 19,0 (8,85/39,9) | 8,60 (3,53/16,75) | 0,001*** |

*= T-Test**= Chi²-Test, p-Werte korrigiert mit Yates-Korrektur, ***= Mann-Whitney-U-Test, RA = Rheumatoide Arthritis, PA = Parodontitis, SD = Standardabweichung, API = approximaler Plaque-Index, BOP = Blutungsindex (*engl.: Bleeding on Probing*)

4.3.2 Vergleich der subgingivalen Keimbesiedlung innerhalb der RA-Gruppe (schwere PA vs. milde/keine PA)

RA-Patienten mit schwerer PA waren häufiger *P.g.*-Träger. Die Keime *P.i.* und *T.f.* kamen hier tendenziell häufiger vor ohne, dass Signifikanz vorlag (Tabelle 13).

Tabelle 13: Verteilung ausgewählter parodontaler Bakterien bei RA-Patienten mit schwerer PA im Vergleich zu RA-Probanden mit milder/keiner PA

| Variablen | schwere PA (n = 76) % positive Individuen | milde/keine PA (n = 25) % positive Individuen | p-Wert |
|--|---|---|---------|
| Bakterienspektrum | | | |
| <i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i> | 4,0 | 6,6 | 1,000** |
| <i>Porphyromonas gingivalis</i> | 64,0 | 36,8 | 0,018** |
| <i>Prevotella intermedia</i> | 36,0 | 21,1 | 0,133** |
| <i>Tannerella forsythia</i> | 92,0 | 75,0 | 0,069** |
| <i>Treponema denticola</i> | 64,0 | 67,1 | 0,776** |

**= Chi²-Test, p-Werte korrigiert mit Yates-Korrektur, PA = Parodontitis, RA=Rheumatoide Arthritis

4.3.3 Genotyp-, Allel- und Haplotypverteilung der im CTS-Kit untersuchten Zytokinpolymorphismen innerhalb der RA-Gruppe in Abhängigkeit von der parodontalen Diagnose

Für den SNP rs240561 im IFN- γ -Gen sind sowohl im T-dominanten genetischen Modell AT+TT versus AA sowie bei der Allelverteilung Signifikanzen festzustellen. AA-Genotypträger ($p = 0,043$) und A-Allelträger ($p = 0,039$) litten signifikant häufiger an einer schweren PA (Tabelle 14).

Die Analyse der binär logistischen Regression ergab, dass der AA-Genotyp des SNP rs240561 im IFN- γ -Gen nach Adjustierung für weitere parodontale Risikofaktoren kein unabhängiger Faktor für die Ausprägung einer schweren PA darstellt. Lediglich das weibliche Geschlecht war mit einem verringerten Risiko für die Prävalenz einer schweren PA assoziiert. Es ist davon auszugehen, dass Frauen mit RA seltener an einer schweren PA erkrankt sind. (Tabelle 15)

Im multivariaten Modell konnte das A-Allel des SNP rs240561 im IFN- γ -Gen ebenfalls nicht als unabhängiger Risikofaktor für eine schwere PA bestätigt werden. Die Variablen Alter, das weibliche Geschlecht, Raucher und *P.g.* wiesen Signifikanzen auf. (Tabelle 16)

Hingegen wurden für das A-Allel des SNP rs240561 im IFN- γ -Gen sowohl in der bivariaten (Tabelle 17) als auch multivariaten Analyse (Tabelle 18) signifikante Assoziationen beim Vergleich der Kontroll-Gruppe vs. RA-Gruppe mit schwerer PA gefunden.

Tabelle 14: Genotyp- und Allelverteilung des IFN- γ -SNP rs240561 in Abhängigkeit vom parodontalen Befund innerhalb der RA-Gruppe

| IFN- γ SNP rs240561 | Gesamt | schwere Parodontitis | milde/keine Parodontitis | p-Wert |
|-------------------------------|-----------|-------------------------|-----------------------------|---------|
| Genotypen | (n = 101) | (n = 25) | (n = 76) | |
| AA (%) | 31,7 | 48 | 26,3 | 0,110** |
| AT (%) | 47,5 | 40 | 50 | |
| TT (%) | 20,8 | 12 | 23,7 | |
| AA + AT (%) | 79,2 | 88 | 76,3 | 0,212** |
| AT + TT (%) | 68,3 | 52↓ | 73,7 | 0,043** |
| AA + TT (%) | 52,5 | 60 | 50 | 0,385** |
| Allele | (n = 202) | (n = 50) | (n = 152) | |
| A (%) | 55,4 | 68↑ | 51,3 | 0,039** |
| T (%) | 44,6 | 32↓ | 48,7 | |

**= Chi²-Test, p-Werte korrigiert mit Yates-Korrektur, RA=Rheumatoide Arthritis,

↑= signifikantes Ergebnis

Tabelle 15: Assoziation (adjustiert) des AA-Genotyps des IFN- γ -SNP rs240561 zur Prävalenz einer schweren PA innerhalb der RA-Gruppe

| Variablen | Regressions- koeffizient B | Sig. | Exp. (B) | Konfidenzintervall (B) | |
|---------------------------|-------------------------------|------|-------------|------------------------|----------------|
| | | | | Unterer Wert | Oberer Wert |
| Alter | ,032 | ,158 | 1,032 | ,988 | 1,078 |
| Geschlecht (weiblich) | -1,146 | ,030 | ,318 | ,113 | ,898 |
| Raucher (current/past) | ,874 | ,120 | 2,397 | ,795 | 70225 |
| P.g. positiv | ,957 | ,066 | 2,603 | ,938 | 7,221 |
| SNP rs240561 (AA-Genotyp) | ,999 | ,060 | 2,751 | ,961 | 7,672 |

R² = 0,237, current =derzeitige Raucher, past = ehemalige Raucher, PA = Parodontitis

Tabelle 16: Assoziation (adjustiert) des Allels A des IFN- γ -SNP rs240561 zur Prävalenz der schweren PA innerhalb der RA-Gruppe

| Variablen | Regressions- koeffizient B | Sig. | Exp. (B) | Konfidenzintervall (B) | |
|------------------------|-------------------------------|------|-------------|------------------------|----------------|
| | | | | Unterer Wert | Oberer Wert |
| Alter | ,031 | ,046 | 1,031 | 1,001 | 1,063 |
| Geschlecht (weiblich) | -1,149 | ,002 | ,317 | ,154 | ,654 |
| Raucher (current/past) | ,893 | ,024 | 2,443 | 1,127 | 5,295 |
| P.g. positiv | ,944 | ,009 | 2,570 | 1,260 | 5,240 |
| SNP rs240561 (A-Allel) | ,684 | ,068 | 1,982 | ,952 | 4,126 |

R² = 0,260, current =derzeitige Raucher, past = ehemalige Raucher, PA = Parodontitis

Tabelle 17: Genotyp- und Allelverteilung des IFN- γ -SNP rs240561 in Abhängigkeit vom parodontalen Befund

| IFN- γ SNP rs240561 | Kontroll- Gruppe | RA-Gruppe | | p-Wert | | |
|-------------------------------|---------------------|-------------------------|----------------------|------------|----------|-----------|
| | I | milde/keine PA II | schwere PA III | II vs. III | I vs. II | I vs. III |
| Genotyp | (n = 99) | (n = 76) | (n = 25) | | | |
| AA (%) | 28,3 | 26,3 | 48 | 0,151** | 0,756** | 0,110** |
| AT (%) | 44,4 | 50 | 40 | | | |
| TT (%) | 27,3 | 23,7 | 12 | | | |
| Allel | (n = 188) | (n = 152) | (n = 50) | | | |
| A (%) | 50,5 | 51,3 | ↑ 68 | 0,039** | 0,966** | 0,039** |
| T (%) | 49,5 | 48,7 | 32 | | | |

**= Chi²-Test, p-Werte korrigiert mit Yates-Korrektur, PA = Parodontitis, RA = Rheumatoide Arthritis, ↑ = signifikantes Ergebnis

Tabelle 18: Assoziation (adjustiert) des A-Allels des IFN- γ -SNP rs240561 zur Prävalenz der schweren PA bei RA-Patienten im Vergleich zur Kontroll-Gruppe

| Variablen | Regressions- koeffizient B | Sig. | Exp. (B) | Konfidenzintervall (B) | |
|------------------------|-------------------------------|-------|-------------|------------------------|----------------|
| | | | | Unterer Wert | Oberer Wert |
| Alter | ,131 | <,001 | 1,12 | 1,08 | 1,17 |
| Geschlecht (männlich) | ,123 | ,767 | 1,13 | ,50 | 2,55 |
| Raucher (current/past) | ,187 | <,001 | 6,49 | 2,69 | 15,6 |
| P.g. positiv | 1,54 | <,001 | 4,67 | 2,07 | 10,5 |
| SNP rs240561 (A-Allel) | ,977 | ,024 | 2,66 | 1,14 | 6,2 |

R² = 0,260, current = derzeitige Raucher, past = ehemalige Raucher, PA = Parodontitis, RA = Rheumatoide Arthritis

Der SNP rs2072874 im IL-4 Gen war von der Tendenz mit der Schwere der parodontalen Erkrankung assoziiert. Patienten mit schwerer PA waren seltener T-Allelträger im Vergleich zu Patienten mit milder PA. Schwere PA war mit einem tendenziell verminderten Vorliegen des Genotyps CT und TT+CT vs. CC assoziiert (Tabelle 19).

Für die SNPs rs2243248 und rs2243250 im IL-4-Gen konnten keinerlei Signifikanzen oder vergleichbare Tendenzen verzeichnet werden.

Ebenso wurden für die Haplotypen keine signifikanten Ergebnisse registriert.

Das T-Allel des SNP rs2072874 im IL-4-Gen stellte nach Adjustierung (binär logistische Regressionsanalyse) keinen signifikanten Risikofaktor für das Auftreten einer schweren PA innerhalb der RA-Gruppe dar. Die Variablen Alter, Frauen, Raucherstatus und *P.g.* waren dagegen signifikant mit der Prävalenz einer schweren PA innerhalb der RA-Gruppe assoziiert (Tabelle 20).

Tabelle 19: Genotyp- und Allelverteilung der IL-4-SNPs rs2243248, rs2243250 und rs2072874 in Abhängigkeit vom parodontalen Befund innerhalb der RA-Gruppe

| IL-4 SNP rs2243248 | Gesamt | schwere Parodontitis | milde/keine Parodontitis | p-Wert |
|-----------------------|-----------|-------------------------|-----------------------------|----------|
| Genotypen | (n = 100) | (n = 24) | (n = 76) | |
| GG (%) | 3 | 0 | 3,9 | 0,529*** |
| GT (%) | 9 | 12,5 [↑] | 7,9 | |
| TT (%) | 88 | 87,5 | 88,2 | |
| Allele | (n = 200) | (n = 48) | (n = 152) | |
| G (%) | 7,5 | 6,3 | 7,9 | 0,770*** |
| T (%) | 92,5 | 93,8 | 92,1 | |
| IL-4 SNP rs2243250 | Gesamt | schwere Parodontitis | milde/keine Parodontitis | p-Wert |
| Genotypen | (n = 100) | (n = 24) | (n = 76) | |
| CC (%) | 70 | 83,3 | 65,8 | 0,292*** |
| CT (%) | 29 | 16,7 [↓] | 32,9 | |
| TT (%) | 1 | 0 | 1,3 | |
| Allele | (n = 200) | (n = 48) | (n = 152) | |
| C (%) | 84,5 | 91,7 | 82,2 | 0,116** |
| T (%) | 15,5 | 8,3 [↓] | 17,8 | |
| IL-4 SNP rs2072874 | Gesamt | schwere Parodontitis | milde/keine Parodontitis | p-Wert |
| Genotypen | (n = 98) | (n = 23) | (n = 75) | |
| CC (%) | 71,4 | 87 | 66,7 | 0,181*** |
| CT (%) | 27,6 | 13 | 32 | |
| TT (%) | 1 | 0 | 1,3 | |
| Allele | (n = 198) | (n = 47) | (n = 151) | |
| C (%) | 84,8 | 93,6 | 82,1 | 0,056** |
| T (%) | 15,2 | 6,4 [↓] | 17,9 | |

| Haplotypen | (n = 98) | (n = 23) | (n = 75) | |
|------------|----------|----------|----------|----------|
| TTT (%) | 15,2 | 6,4 | 17,9 | 0,123*** |
| TCC (%) | 77,3 | 87,2 | 74,2 | |
| GCC (%) | 7,6 | 6,4 | 7,9 | |

= Chi²-Test, p-Werte korrigiert mit Yates-Korrektur, *= Chi²-Test, p-Werte korrigiert mit Fisher's Exact Test, † = Tendenz zu einer Signifikanz, RA = Rheumatoide Arthritis

Tabelle 20: Assoziation (adjustiert) des T-Allels des IL-4-SNP rs2072874 im zur Prävalenz der schweren PA innerhalb der RA-Gruppe

| Variablen | Regressions- koeffizient B | Sig. | Exp. (B) | Konfidenzintervall (B) | |
|-------------------------|-------------------------------|------|-------------|------------------------|----------------|
| | | | | Unterer Wert | Oberer Wert |
| Alter | ,033 | ,039 | 1,033 | 1,002 | 1,066 |
| Geschlecht (weiblich) | -1,028 | ,007 | ,358 | ,169 | ,756 |
| Raucher (current/past) | 1,034 | ,011 | 2,812 | 1,271 | 6218 |
| P.g. positiv | ,865 | ,019 | 2,375 | 1,153 | 4,893 |
| SNP rs2072874 (T-Allel) | -1,181 | ,074 | ,307 | ,084 | 1,122 |

R² = 0,225, current = derzeitige Raucher, past = ehemalige Raucher, PA = Parodontitis, RA = Rheumatoide Arthritis

Alle anderen im CTS-Kit untersuchten Zytokinpolymorphismen waren nicht zum Schweregrad der PA innerhalb der RA-Gruppe assoziiert (Tabellenanlage II).

4.4 Zusammenfassung der Ergebnisse

4.4.1 RA-Gruppe im Vergleich zur Kontroll-Gruppe

Arbeitshypothese I: Bei der Untersuchung genetischer Assoziationen zur RA wurden Signifikanzen für den SNP rs1801275 im IL4R- α -Gen und SNP rs361525 im TNF- α -Gen detektiert. Das Allel G des SNP rs1801275 im IL4R- α -Gen lag innerhalb der RA-Gruppe im Vergleich zur Kontroll-Gruppe vermehrt vor.

In der multivariaten Analyse konnte das G-Allel nicht als unabhängiger Risikofaktor für RA bestätigt werden. Für den SNP rs361525 im TNF- α -Gen wurden ebenfalls Signifikanzen in der Verteilung der Allele nachgewiesen. RA-Patienten waren signifikant häufiger G-Allelträger (Vgl. 4.2.3; Tabelle 21). Unter Berücksichtigung weiterer Kofaktoren zeigte sich, dass das G-Allel nicht als unabhängiger Risikofaktor der RA betrachtet werden kann (Vgl. 4.2.3; Tabelle 21).

Arbeitshypothese III: Unterschiede in demographischen Parametern und Keim-spektrum zwischen der RA-Gruppe und Kontroll-Gruppe wurden vermutet. Patienten der RA-Gruppe waren im Vergleich zur Kontroll-Gruppe ohne RA älter und häufiger

Frauen. Des Weiteren fanden sich mehr ehemalige und derzeitige Raucher in der RA-Gruppe wieder. Bezüglich klinisch parodontologischer Parameter unterschieden sich die Gruppen hinsichtlich des APIs und BOPs nicht signifikant. Die Werte für PD sowie CAL waren in der RA-Gruppe erhöht (Vgl. 4.2.1; Tabelle 21).

RA-Probanden waren signifikant häufiger *P.g.* positiv, während *A.a.* hier seltener nachgewiesen wurde (Vgl. 4.2.2; Tabelle 21).

Tabelle 21: Vergleich signifikanter Ergebnisse in der RA-Gruppe zur Kontroll-Gruppe

| Variablen | RA-Gruppe | Kontroll-Gruppe |
|--|-----------|-----------------|
| Alter | ↑ | ↓ |
| Frauen | ↑ | ↓ |
| Raucher (aktuell und ehemalige) | ↑ | ↓ |
| Sondiertiefe (PD) | ↑ | ↓ |
| Klinischer Attachmentverlust (CAL) | ↑ | ↓ |
| <i>P. gingivalis</i> positive Patienten | ↑ | ↓ |
| <i>A. actinomycetemcomitans</i> positive Patienten | ↓ | ↑ |
| Genotyp und Allelverteilung | | |
| - TNF- α (SNP rs361525), G-Allel (nur unadjustiert) | ↑ | ↓ |
| - IL4R- α (SNP rs1801275), G-Allel (nur unadjustiert) | ↑ | ↓ |

TNF- α = Tumornekrosefaktor alpha, IL4R- α = Interleukin-4-Rezeptor-alpha, ↓ ↑ = signifikantes Ergebnis, RA = Rheumatoide Arthritis

4.4.2 Innerhalb der RA-Gruppe Vergleich in Abhängigkeit vom parodontalen Status

Arbeitshypothese II: Unterschiede in der Genotyp-, Allel- bzw. Haplotypverteilung von Zytokinpolymorphismen innerhalb der RA-Gruppe in Abhängigkeit vom parodontalen Befund (milde/keine PA vs. schwere PA) wurden vermutet und detektiert. Bei der Gegenüberstellung von schwerer PA auf der einen Seite und milder/keiner PA auf der anderen Seite wurden Signifikanzen für den SNP rs2430561 im IFN- γ -Gen gezeigt. Der AA-Genotyp und das A-Allel waren mit schwerer PA signifikant assoziiert. Jedoch konnte diese Assoziation unter Hinzuziehen weiterer Risikofaktoren in der binären logistischen Regression nicht bestätigt werden. Bei der bivariaten und multivariaten Analyse schwerer PA bei RA-Patienten im Vergleich zur Kontroll-Gruppe konnten wiederum signifikante Ergebnisse für das A-Allel registriert werden (Vgl. 4.3.3; Tabelle 22, 23).

Tendenzen wurden beim SNP rs2070874 im IL-4-Gen festgestellt. Schwere PA war mit einem tendenziell verminderten Vorliegen des Genotyps CT und TT+CT assoziiert. Zudem waren Patienten mit schwerer PA tendenziell seltener T-Allelträger im Vergleich zu Patienten mit milder/keiner PA. Die angeführten Tendenzen waren auch

nach multivariater Analyse mit binärer logistischer Regression nicht signifikant. (Vgl. 4.3.3; Tabelle 22)

Arbeitshypothese IV: Unterschiede in demographischen Parametern und Keim-spektrum (innerhalb der RA-Gruppe: milde/keine PA vs. schwere PA) konnten identi-fiziert werden. Patienten mit schwerer PA waren vermehrt Männer. Die klinischen Parameter, wie API, BOP/Fläche und BOP/Zahn, waren bei schwerer PA innerhalb der RA-Gruppe signifikant erhöht (Vgl. 4.3.1.). Innerhalb der RA-Gruppe war *P.g.*, wie vermutet, vermehrt mit schwerer PA assoziiert (Vgl. 4.3.2; Tabelle 22).

Tabelle 22: Vergleich signifikanter Ergebnisse/Tendenzen innerhalb der RA-Gruppe

| Variablen | schwere PA | milde/keine PA |
|---|------------|----------------|
| Frauen | ↓ | ↑ |
| API | ↑ | ↓ |
| BOP/Zahn | ↑ | ↓ |
| BOP/Fläche | ↑ | ↓ |
| <i>P. gingivalis</i> positive Patienten | ↑ | ↓ |
| Genotyp und Allelverteilung | | |
| IFN- γ (SNP rs2430561) | | |
| - AA-Genotyp (nur unadjustiert) | ↑ | ↓ |
| - A- Allel (adjustiert) | ↑ | ↓ |
| IL-4 (SNP rs2070874) | | |
| - Genotyp TT+CT (nur unadjustiert) | ↓ | ↑ |
| - T-Allel (nur unadjustiert) | ↓ | ↑ |

API = approximaler Plaque-Index, BOP = Blutungsindex (*engl.: Bleeding on Probing*),

IL-4 = Interleukin-4, IFN- γ = Interferon-Gamma, ↓ ↑ = signifikantes Ergebnis, ↓ ↑ = Tendenz zu einer Signifikanz, PA = Parodontitis, RA = Rheumatoide Arthritis

Tabelle 23: Vergleich signifikanter Ergebnisse der RA-Gruppe (schwere PA) zur Kontroll-Gruppe

| Variablen | RA mit schwerer PA | Kontroll-Gruppe |
|-------------------------------|--------------------|-----------------|
| Genotyp und Allelverteilung | | |
| IFN- γ (SNP rs2430561) | | |
| - A- Allel (adjustiert) | ↑ | ↓ |

IFN- γ = Interferon-Gamma, ↓ ↑ = signifikantes Ergebnis, PA = Parodontitis, RA = Rheumatoi-de Arthritis

5 Diskussion

5.1 Studiendesign

Bei dieser Untersuchung handelt es sich um eine Fall-Kontroll-Studie mit deren Hilfe, bei geeigneter Auswahl an Testgrößen, in einem relativ kurzen Zeitraum, aussage-kräftige Ergebnisse zu erwarten sind. Die Test-Gruppe bestand aus RA-Patienten (n = 101), bei denen der parodontale Status erhoben wurde (milde/keine PA oder

schwere PA). Die Kontroll-Gruppe bestand aus Probanden ohne RA mit maximal milder Form der PA. Es wurden nur Patienten und Kontroll-Probanden kaukasischer Herkunft, die untereinander kein Verwandtschaftsverhältnis aufwiesen, in die Studie eingeschlossen, da die Prävalenz der untersuchten SNPs auch ethnischen Einflüssen unterliegen kann. Deshalb können die Ergebnisse unserer Studie auch nur unter Beachtung dieser Limitation auf andere Populationen übertragen werden (Mori et al., 2005; Masamatti et al., 2012; Ramos et al., 2015; Jahid et al., 2018). Eine Meta-Analyse von Lee und Bae (2015b) analysierte beispielsweise mögliche Assoziationen eines TNF- α -Polymorphismus zu RA und Vitiligo unter Einbeziehung von Studien diverser ethnischer Populationen. Die Untersuchung beinhaltete 6 Studien mit Probanden europäischer und jeweils 2 Studien asiatischer und lateinamerikanischer Herkunft. Bei Betrachtung der gesamten 6 Studien wurde eine Assoziation für das A-Allel des SNP rs361525 im TNF- α -Gen zu RA detektiert. Bei separater Untersuchung der einzelnen Ethnien konnte für Europäer und Asiaten allerdings keine Assoziation für das A-Allel des SNP rs361525 im TNF- α -Gen zu RA identifiziert werden. Diese Studie zeigt, dass die Prävalenz von Polymorphismen ethnischen Einflüssen unterliegen kann (Loos et al., 2005).

Des Weiteren wurde geprüft, ob die Genotypverteilungen der untersuchten SNPs dem Hardy-Weinberg-Gleichgewicht (Hardy-Weinberg-Equilibrium, HWE) entsprechen, um andere Einflüsse, wie Neumutationen, Migrationen, Panmixien, zu kleine Populationen mit Gendrift und Selektionsvorteile/Selektionsnachteile auszuschließen (Mayo, 2008). Das HWE wird zur Überprüfung eines geeigneten Studienkollektivs zur Hilfe genommen und hat sich in der praktischen Anwendung etabliert (Graffelman und Weir, 2016). Alle in der Studie eingeschlossenen Zytokinpolymorphismen der Untersuchungsgruppen entsprachen dabei dem HWE.

5.2 Methode

5.2.1 Rekrutierung der Patienten/Probanden (Ein-, Ausschlusskriterien)

Die Test-Gruppe bestand aus ≥ 18 Jahre alten RA-Patienten ($n = 101$), deren parodontaler Status erhoben wurde. Die RA-Gruppe konnte hinsichtlich des parodontalen Schweregrads in milde/keine PA einerseits und schwere PA andererseits eingeteilt werden (Tonetti und Claffey, 2005). Dadurch war die Einbeziehung des Faktors „schwere PA“ in Relation zur Prävalenz der Zytokinpolymorphismen möglich.

Ausschließlich erfahrene Rheumatologen (Rheumatologen des Rheumahauses in Potsdam, der internistisch Rheumatologischen Arztpraxis Dr. Liebhaber und der Klinik für Innere Medizin II des Universitätsklinikums in Halle) nahmen die Rekrutierung der Patienten vor. Die Einstufung eines Probanden zur RA-Gruppe wurde nach der

Klassifikation der American Rheumatism Association von 1987 durchgeführt. Durch diese Maßnahmen konnte eine fachgerechte Rekrutierung gewährleistet werden.

Ein Kontroll-Proband ($n = 100$) sollte vor allem die Voraussetzung erfüllen maximal eine milde PA nach Tonetti und Claffey (2005) zu haben sowie keine allgemeinmedizinischen Erkrankungen mit bekannter Assoziation zur PA aufweisen. Zu diesen Erkrankungen zählen z. B. RA (Araújo et al., 2015), Diabetes mellitus Typ I/II (Lalla und Papapanou, 2011; Stanko und Izakovicova Holla, 2014; Ismail et al., 2017; Sanz et al., 2018) und Koronare Herzerkrankung (Ohki et al., 2012). Da mit steigendem Alter die Wahrscheinlichkeit an einer PA oder RA zu erkranken zunimmt (Fontana, 2009), wurde für die Kontroll-Probanden ein Mindestalter von 30 Jahren festgesetzt.

Keiner der RA-Patienten/Kontroll-Probanden durfte sich in den letzten 3/6 Monaten einer systemischen Antibiotika-Therapie oder innerhalb der letzten 6 Monate einer subgingivalen PA-Therapie unterzogen haben. Damit sollten diese, den parodontalen Status beeinflussende Störfaktoren, weitestgehend ausgeschlossen werden. Eine Schwangerschaft könnte über hormonelle Veränderungen den allgemeinmedizinischen (Silman und Pearson, 2002) und parodontalen Zustand (Geisinger et al., 2014; González-Jaranay et al., 2017) beeinflussen und war demnach ebenfalls ein Ausschlusskriterium in beiden Untersuchungsgruppen. Patienten/Probanden, die Gingivahyperplasie verursachende Medikamente [(z. B. Cyclosporin A, Nifedipin, Hydantoin) (Brown und Arany, 2015)] einnahmen, wurden ebenso von der Studie ausgeschlossen, damit die parodontale Befundung exakt durchgeführt werden konnte. Um den Einfluss des Nikotinkonsums als Risikofaktoren für RA und PA (Källberg et al., 2011; Di Giuseppe et al., 2014; Khan et al., 2016) zu bewerten, wurden anamnestisch bei allen Patienten-/Kontroll-Probanden der Raucherstatus erfasst.

Neben dem Nikotinkonsum gelten auch das Alter und das Geschlecht als potenzielle Risikofaktoren für RA sowie PA und wurden in die multivariate Analyse mit einbezogen.

Innerhalb der RA-Gruppe wiesen lediglich 6 Patienten keine PA nach Klassifikation von Tonetti und Claffey (2005) auf. Deshalb wurden diese Patienten in die Gruppe milde/keine PA integriert. Die Bildung einer eigenständigen RA-Gruppe ohne PA wäre hinsichtlich der statistischen Auswertbarkeit/Power nicht sinnvoll gewesen. Die angewandte PA-Klassifikation nach Tonetti und Claffey (2005) wurde für die Analyse von Risikofaktoren konzipiert. Diese Klassifikation zeichnet sich durch eine hohe Sensitivität für einen Parodontitisfall aus und definiert klinisch sicher einen schweren ausgehenden Parodontitisfall (Eke et al., 2012; Baelum und López, 2012). Durch die Anwendung dieser international bekannten Klassifikation in unserer Studie ist die Ver-

gleichbarkeit zu den Ergebnissen anderer Untersuchungen gegeben (Seitter, 2018; Rodríguez-Lozano et al., 2019).

5.2.2 Zahnärztliche Untersuchung

Bei der zahnärztlichen Untersuchung der RA-Patienten wurden zwei unterschiedliche PA-Sonden verwendet (VIVACARE TPS PERIODONTAL PROBE Schaan, Liechtenstein und DB764R Aesculap AG & Co. KG, Tuttlingen, Deutschland), da die Produktion der zuerst verwendeten TPS-Sonde während der Studie eingestellt wurde (Al Shayeb et al., 2014). Diese druckkalibrierten Sonden lieferten in klinischen Studien bereits reproduzierbare Ergebnisse (Tupta-Veselicky et al., 1994; Bergenholtz et al., 2000). Die Untersuchung der Kontroll-Gruppe wurde mithilfe einer nicht druckkalibrierten Sonde vorgenommen (PCPUNC156 Griff 6, Hu-Friedy, Rotterdam, Niederlande). Einige Studien zeigen auch für nicht druckkalibrierte und druckkalibrierte Sonden vergleichbare Resultate (Reddy et al., 1997; Barendregt et al., 2006; Renatus et al., 2016). Unterschiede in den klinischen Daten, aufgrund der Verwendung unterschiedlicher Messsonden, könnten somit weitestgehend ausgeschlossen werden.

5.2.3 Molekularbiologischer Nachweis subgingivaler parodontaler Markerkeime

Der molekularbiologische Nachweis subgingivaler parodontaler Markerkeime wurde mithilfe des etablierten micro-IDent®-Tests nach Herstellerangaben im eigenen Labor durchgeführt. Insgesamt wurde die DNA 5 verschiedener parodontaler Markerkeime bestimmt. Durch eine Nachweisgrenze (cut-off) für *A.a.* von 10^3 „genome equivalents“ und für *P.g.*, *P.i.*, *T.f.* und *T.d.* von 10^4 „genome equivalents“ konnte bei der Amplifikation bakterieller DNA mittels PCR ein sicherer Nachweis ermöglicht werden (Urbán et al., 2010; Eick et al., 2011). Innerhalb der statistischen Berechnungen wurden nur die zwei Parameter „Bakterium vorhanden“ oder „Bakterium nicht vorhanden“ berücksichtigt. Auf eine semiquantitative Bestimmung der Keimkonzentration wurde jedoch aufgrund der vorhandenen Messunsicherheit verzichtet. Von Nachteil ist, dass bezüglich der Vitalität der detektierten Markerkeime keine Aussage getroffen werden konnte. Natürlich wird durch den Nachweis von nur fünf Bakterienspezies nur ein kleiner Teil möglicher Pathogene detektiert (Reichert et al., 2008; Reichert et al., 2013; Ertugrul et al., 2013; Cantore et al., 2014). Deshalb wird in jüngerer Zeit durch die Technik des Next Generation Sequencing (NGS) versucht das gesamte Mikrobiom des parodontalen Biofilms zu erfassen (Schulz et al., 2019).

5.2.4 Zytokingenotypisierung mittels CTS-PCR-SSP Tray-Kit (Heidelberg)

Mithilfe des CTS-PCR-SSP Tray-Kits (Heidelberg) war es möglich Genotyp-, Allel- und Haplotypkonstellationen von 22 SNPs in 13 verschiedenen Zytokinen zu untersuchen. Die Zuverlässigkeit der Zytokingenotypisierung konnte durch eine stets mitlaufende Positiv-Kontrolle im Gel sichergestellt werden. Der Test gilt als sichere Variante SNPs zu identifizieren (Meyer et al., 2005) und wurde auch in anderen Studien (Trajkov et al., 2009) angewandt.

5.3 Diskussion der Ergebnisse

Vor allem aufgrund epidemiologischer Studien wird eine Wechselbeziehung zwischen der PA und RA vermutet (Detert et al., 2010; Koziel et al., 2014; Smit et al., 2015; Araújo et al., 2015; Schmickler et al., 2017). Dabei zählt die PA weltweit zu den häufigsten chronischen Infektionserkrankungen (Araújo et al., 2015; Chou et al., 2015). Die RA hingegen ist eine Autoimmunerkrankung und neben der Arthrose die häufigste Entzündungserkrankung der Gelenke mit einer weltweiten Prävalenz von 0,5-1 % (Silman und Pearson, 2002; Ma et al., 2014). Im Vergleich zu Probanden ohne RA neigen RA-Patienten zu einer schwereren Form der PA und einem erhöhten Zahnverlust (Mercado et al., 2001; Lagervall et al., 2003). Weiterhin war unter Patienten mit PA die Prävalenz einer RA signifikant häufiger als unter Probanden ohne PA (Mercado et al., 2000). Beiden Erkrankungen ist eine Störung des Gleichgewichts pro- und antiinflammatorisch wirksamer Zytokine gemein (Mercado et al., 2001). Da sowohl die Freisetzung von Zytokinen als auch ihre Zusammensetzung der genetischen Kontrolle unterliegt (Havemose-Poulsen et al., 2005; Kokkonen et al., 2010; Bartova et al., 2014; Jahid et al., 2018) ist anzunehmen, dass bestimmte Polymorphismen in Zytokingenen charakteristisch sowohl für RA als auch PA sind (Havemose-Poulsen et al., 2005; Kokkonen et al., 2010; Bartova et al., 2014; Jahid et al., 2018;). Das Kernziel dieser Studie bestand deshalb darin, solche Zytokinpolymorphismen zu identifizieren.

Sollte eine Assoziation zwischen Zytokinpolymorphismen und den beiden Erkrankungsbildern RA sowie PA verifiziert werden, so könnte die Identifizierung von Individuen mit einem erhöhten Risiko an RA und PA zu erkranken erleichtert werden. Des Weiteren könnten Gemeinsamkeiten beider Erkrankungen hinsichtlich des genetischen Backgrounds die gezeigte Wechselbeziehung beider Erkrankungen erklären. Darüber hinaus wird ein Zusammenhang zwischen parodontopathogenen Keimen und RA (Moen et al., 2003; Kharlamova et al., 2016; Bender et al., 2017; Olsen et al., 2018) u. a. über die Citrullinierung humaner parodontaler Peptide und Bildung von

ACPAs (Koziel et al., 2014; Olsen et al., 2018) vermutet. Die Detektion parodontopathogener Keime über mikrobielle Tests könnte in dem Fall einer nachgewiesenen Beziehung zwischen Parodontitsbakterium und RA eventuell auch ein Prädiktor für die Entwicklung einer RA sein.

5.3.1 RA-Gruppe im Vergleich zur Kontroll-Gruppe

Demographische und klinische Parameter (RA-Gruppe vs. Kontroll-Gruppe)

Wie erwartet fanden sich innerhalb der RA-Gruppe mehr Frauen wieder. In der Kontroll-Gruppe war das Geschlechterverhältnis dagegen ausgeglichen. Damit könnte der bekannte Aspekt untermauert werden, dass Frauen vermehrt an RA erkranken (Scott et al., 2010; Austad et al., 2015; Deutsche Rheuma- Liga Bundesverband e. V., 2018). Nicht auszuschließen sind jedoch auch Studieneffekte. Es ist bekannt, dass Frauen in der frühen klinischen Phase von Studien oftmals, unter anderem aufgrund unzureichender Datenlage bezüglich der Embryotoxizität, unterrepräsentiert sind (Liu und Mager, 2016; Deutsches Ärzteblatt, 2016). In späteren klinischen Phasen, wenn die Pharmakokinetik bekannter ist, nehmen Frauen vermehrt teil, sodass in einigen Fällen die Teilnahme mit der geschlechtsspezifischen Krankheitsprävalenz korreliert. In dieser Studie besteht kein gesundheitsgefährdendes Risiko für die Probanden, sodass die Teilnahme von Frauen ungefähr der geschlechtsspezifischen Prävalenz für RA entspricht (Liu und Mager, 2016; Deutsches Ärzteblatt, 2016). Die Vermutung, dass in der Kontroll-Gruppe weniger ehemalige und derzeitige Raucher anzutreffen sind, konnte ebenso bestätigt werden. Auch diverse andere Forschungsarbeiten belegen die Assoziation von Nikotinkonsum mit der RA (Costenbader et al., 2006; Källberg et al., 2011; Di Giuseppe et al., 2014).

Für die klinischen Parameter CAL und PD zeigten sich signifikante Unterschiede. Die RA-Gruppe wies signifikant höhere Werte auf. Da die Kontroll-Gruppe jedoch daraufhin selektiert wurde eine maximal milde PA zu haben, darf aus diesem Ergebnis nicht geschlussfolgert werden, dass unter RA-Patienten häufiger eine schwere PA zu finden ist im Vergleich zu Probanden ohne RA. Zudem muss beachtet werden, dass RA-Patienten unter Medikation von nichtsteroidalen Antirheumatika (NSARs: 50 %), Disease-modifying anti-rheumatic drugs (DMARDs: 70 %) und/oder Biologika (42 %) standen. In diversen Forschungsarbeiten wird vor allem der Einfluss von DMARDs und NSARs auf parodontale Entzündungsparameter und den Schweregrad der PA kontrovers diskutiert. Während manche Analysen eine Verbesserung des parodontalen Zustandes bei RA-Patienten unter Einnahme dieser Pharmaka zeigen, deuten andere Erforschungen auf eine erhöhte parodontale Entzündung hin (Pers et al., 2008; Mayer et al., 2009; Kobayashi et al., 2014; Romero-Sanchez et al., 2017;

Ziebolz et al., 2018). Darüberhinaus scheint auch die Kombination mehrerer dieser Medikamente mit dem parodontalen Entzündungszustand assoziiert zu sein (Romero-Sanchez et al., 2017; Ziebolz et al., 2018).

Vergleich der subgingivalen Keimbesiedlung (RA-Gruppe vs. Kontroll-Gruppe)

Beim Vergleich der RA-Gruppe mit der Kontroll-Gruppe wurde ein signifikanter Zusammenhang von *P.g.* und RA nachgewiesen. Auch andere Studien untermauern die Assoziation von *P.g.* zur RA. Insbesondere eine Meta-Analyse von Bender et al. (2017) und die Arbeit von Moen et al. (2003) beschreiben einen erhöhten Antikörpertiter gegen *P.g.* bei bestehender RA. Einen signifikanten Zusammenhang zwischen RA und PA, verursacht durch eine *P.g.*-Infektion, zeigt ebenso die Untersuchung von Kharlamova et al. 2016. Es wird vermutet, dass *P.g.* die Citrullinierung parodontaler Peptide und Produktion von ACPAs auslöst und damit die Pathogenese der RA befördert wird (Koziel et al., 2014; Olsen et al., 2018).

Eine kürzlich präsentierte Arbeit von König et al. (2016) stellt dagegen den Keim *A.a.* in der Pathogenese der RA in den Vordergrund. Das Leukotoxin A (LtxA) von *A.a.* führt zu einer Porenbildung in der Zellmembran der Neutrophilen Granulozyten der Sulkusflüssigkeit von PA-Patienten. Neutrophile Granulozyten aktivieren eine PAD und Calcium-abhängige Citrullinierungsvorgänge, die in der Bildung von ACPAs resultieren. In unserer Arbeit konnte diese Vermutung nicht untermauert werden, da *A.a.* seltener unter Patienten mit RA im Vergleich zu Probanden ohne RA gefunden wurde.

Vergleich der untersuchten SNPs der RA-Gruppe mit SNPs der Kontroll-Gruppe

Die Analysen dieser Arbeit zeigen, wie erwartet, signifikante Unterschiede in den Genotyp- bzw. Allelfrequenzen der Zytokinpolymorphismen bei dem Vergleich der RA- und Kontroll-Gruppe (Hauptziel I).

Genetische Assoziationen zur RA wurden signifikant für den SNP rs1801275 im IL4R- α -Gen entdeckt. Im Vergleich zur Kontroll-Gruppe befanden sich unter den RA-Patienten vermehrt G-Allelträger. Die Literaturrecherche zum SNP rs1801275 im IL4R- α -Gen lieferte inkonsistente Ergebnisse. Mit dieser Studie vergleichbare Ergebnisse sind bereits von Moreno et al. (2007) bekannt. Diese Untersuchungen zeigten ebenso eine Assoziation des G-Allels des SNP rs1801275 im IL4R- α -Gen zur RA bei Kolumbianern. Die Untersuchungen von Burgos et al. (2010) zeigten hingegen Zusammenhänge zwischen dem SNP rs1801275 im IL4R- α -Gen und RA bei Patienten afroamerikanischer Herkunft für die AA- und AG-Genotypen (Tabelle 24). Eine Studie von Hussein et al. (2012) untersuchte an RA erkrankte Frauen ägyptischer Zugehör-

rigkeit und detektierte ebenso eine Assoziation zwischen dem SNP rs1801275 im IL4R- α -Gen und nicht-erosiver Form der RA (Tabelle 24). Im Vergleich zur erosiven RA kam der Genotyp AG des SNP rs1801275 im IL4R- α -Gen bei der nicht-erosiven RA-Form signifikant erhöht vor. Das A-Allel war mit dem Rheumafaktor (RF) assoziiert. Des Weiteren gibt es auch eine Meta-Analyse, die keinen Zusammenhang von RA und dem SNP rs1801275 im IL4R- α -Gen bestätigen konnte (Song et al., 2013a). In der vorliegenden Studie konnte innerhalb der RA-Gruppe auch eine Assoziation des SNP rs1801275 im IL4R- α -Gen zur PA verifiziert werden. Eine im Jahre 2011 veröffentlichte Studie von Reichert et al. (2011) konnte bereits eine Assoziation des SNP rs1801275 im IL4R- α -Gen unter Probanden ohne RA zur chronischen PA feststellen.

Tabelle 24: Untersuchungen mit Assoziationen des IL4R- α -SNP rs1801275 zur RA bei Patienten unterschiedlicher Ethnizität

| Genpolymorphismus mit Assoziation zur RA | Studie Autor (Jahr) | Herkunft Kohorte |
|--|----------------------------|-------------------------|
| <i>IL-4R-α (SNP rs1801275)</i> | | |
| - AA, AG | Burgos et al. (2010) | Afroamerikaner |
| - AG, A | Hussein et al. (2012) | Ägypterinnen |
| - G | Moreno et al. (2007) | Kolumbianer |

RA = Rheumatoide Arthritis

Andere genetische Assoziationen konnten in der Analyse für den SNP rs361525 im TNF- α -Gen zur RA abgeleitet werden. Auch hier waren RA-Patienten im Vergleich zur Kontroll-Gruppe häufiger G-Allelträger. Bislang existieren einige Arbeiten, die keinerlei Belege für den Zusammenhang diverser Zytokinpolymorphismen des TNF- α zur RA identifizierten (Emonts et al., 2011; HADINEDOUSHAN et al., 2016; Cadena-Sandoval et al., 2018). Zu beachten ist jedoch, dass in den zitierten Studien Probanden mexikanischer, iranischer und kaukasischer Ethnizität untersucht wurden. Die vor kurzem veröffentlichte Untersuchung von Malysheva et al. (2018) zeigte hingegen bei russischer Bevölkerung signifikante Assoziationen für den SNP rs361525 im TNF- α -Gen zur RA. Wie in der vorliegenden Studie konnte Malysheva et al. (2018) ein vermehrtes Vorhandensein von Allel G identifizieren (Tabelle 25). Zudem war der Genotyp GG signifikant mit dem Auftreten der RA assoziiert (Tabelle 25). Eine Meta-Analyse von Lee und Bae (2015b) verglich 10 Studien unterschiedlichster Ethnizitäten (Latein-Amerikaner, Asiaten, Europäer) hinsichtlich der Assoziation des SNP

rs361525 im TNF- α -Gen und RA. Ein signifikanter Zusammenhang zur RA konnte insbesondere für das A-Allel des SNP rs361525 im TNF- α -Gen zur RA gezeigt werden. Bei differenzierter Betrachtung der einzelnen Ethnizitäten wurde jedoch unter Europäern keine signifikante Assoziation des A-Allels sondern des G-Allels zur RA gezeigt (Trajkov et al., 2009; Lee und Bae, 2015b) (Tabelle 25). Die kontroversen Ergebnisse könnten in den unterschiedlichen Ethnizitäten begründet sein, die wiederum mit unterschiedlichen Zytokinpolymorphismen assoziiert sind (Loos et al., 2005) (Tabelle 25). Zudem unterscheiden sich die Studiendesigns der Forschungsarbeiten, sodass die Vergleichbarkeit erschwert wird.

Da TNF- α als proinflammatorisch wirksames Zytokin in der Pathogenese der RA eine wichtige Rolle einnimmt, kann das Wissen über diesen genetischen Zusammenhang für die Therapie der Erkrankung wegweisend sein. Es wurden bereits medikamentöse Strategien durch den Einsatz von Biologika (Zytokin-Antagonisten) zur gezielten Hemmung bestimmter Zytokine entwickelt und durchgeführt (Karimbux et al., 2012; Hahner et al., 2017; Guo et al., 2018). Insbesondere eine Studie von Mayer et al. (2009) zeigte beim Einsatz von TNF- α -Antagonisten bei RA-Patienten geringere parodontale Indices und Mengen des TNF- α in der gingivalen Sulkusflüssigkeit.

Tabelle 25: Untersuchungen mit Assoziationen des TNF- α -SNP rs361525 zur RA bei Patienten unterschiedlicher Ethnizität

| Genpolymorphismus mit Assoziation zur RA | Studie Autor (Jahr) | Herkunft Kohorte |
|---|----------------------------|--------------------------------------|
| <i>TNF-α (SNP rs361525)</i> | | |
| - GG, G | Malysheva et al. (2018) | Karelier |
| - G | Trajkov et al. (2009) | Mazedonier |
| - A | Lee und Bae (2015b) | Latein-Amerikaner, Asiaten, Europäer |

RA = Rheumatoide Arthritis

5.3.2 Vergleich der untersuchten SNPs innerhalb der RA-Gruppe in Abhängigkeit von der parodontalen Diagnose

Im Gegensatz zu der Forschungsarbeit von Shi et al. (2017) zeigt die hier vorliegende Studie eine signifikante Assoziation für das A-Allel und den AA-Genotyp des SNP rs2430561 im IFN- γ -Gen zu schwerer PA bei RA-Patienten. Aus der Literatur gehen auch Untersuchungen des SNP rs2430561 im IFN- γ -Gen im Kontext zu chronisch-entzündlichen Autoimmunerkrankungen hervor. Sowohl bei ankylosierender Spondylitis/Morbus Bechterew (Xu und Li, 2017) und Vitiligo (Karam et al., 2017) konnten im

Vergleich zur Kontroll-Gruppe erhöhte Serum-Level von IFN- γ bei Trägern des SNP rs2430561 im IFN- γ -Gen, die die Genotypen TT oder AT bzw. das T-Allel exprimierten, nachgewiesen werden. Infektionserkrankungen, wie intrauterine Hepatitis-B-Infektion (Yu, 2006) und Tuberkulose (López-Maderuelo et al., 2003) konnten auch mit dem AA-Genotyp des SNP rs2430561 im IFN- γ -Gen in Verbindung gebracht werden (Tabelle 26). Eine im Jahr 2015 veröffentlichte Studie zeigte unter Iranern eine signifikante Assoziation des AA-Genotyps ($p = 0,035$) und des A-Allels ($p = 0,031$) des SNP rs2430561 zur PA (Heidari et al., 2015) (Tabelle 26). Die Ergebnisse der genannten Forschungsarbeiten (Heidari et al., 2015; Xu und Li, 2017; Karam et al., 2017) zeigen, dass der SNP rs2430561 im IFN- γ -Gen eine entscheidende Rolle bei der Entstehung von diversen chronisch-entzündlichen Erkrankungen einnimmt. Die Literatur-Ergebnisse scheinen jedoch auch hier inkonsistent zu sein. Beispielsweise verglich die Meta-Analyse von Shi et al. (2017) 7 verschiedene Studien hinsichtlich der Assoziation von PA und dem SNP rs2430561 im IFN- γ -Gen. Es resultierte kein Zusammenhang zwischen dem SNP rs2430561 im IFN- γ -Gen und dem Auftreten einer PA. Es ist allerdings zu beachten, dass die Studie Forschungsarbeiten unterschiedlichster Ethnien und PA-Formen (Chronische PA und/oder Aggressive PA) einschloss: Unter den 7 Studien befanden sich 5 Untersuchungen zu Kaukasiern. Eine Arbeit beinhaltete Untersuchungen an Kaukasiern mit aggressiver PA. Eine weitere Studie schloss Probanden kaukasischer Herkunft mit chronischer und aggressiver PA ein. Lediglich drei Studien wurden an Kaukasiern erhoben, die an chronischer PA litten und mit der vorliegenden Studie diesbezüglich vergleichbar wären. Die anderen zwei Studien untersuchten Patienten asiatischer Herkunft. Eine Studie von Holla et al. (2011) untersuchte unter Tschechen ebenso den Zusammenhang des SNP rs2430561 im IFN- γ -Gen und PA im Vergleich zu einer Kontroll-Gruppe. Es konnte keine signifikanten Assoziationen festgestellt werden. (Tabelle 26)

Erhöhte Mengen des IFN- γ sind bereits mehrfach bei Patienten mit PA im Speichel (Isaza-Guzmán et al., 2015), in der Sulkusflüssigkeit aktiver parodontaler Taschen (Dutzan et al., 2009; Papatthanasiou et al., 2014) und in gingivalen Biopsien (Górska et al., 2003; Zhang et al., 2010) sowie in gingivaler Sulkusflüssigkeit (Zhang et al., 2010) nachgewiesen worden. Gleichermäßen ist bei Patienten mit RA ein erhöhtes Vorliegen von IFN- γ , dessen Expression von Autoantigenen getriggert wird, bekannt (Rönblom und Eloranta, 2013). Das Zytokin IFN- γ gehört zu den Interferonen vom Typ II und spielt im Immunsystem eine entscheidende Rolle bei der Progression von Entzündungen. Vor allem bei der PA ist das IFN- γ am Abbau des Zahnhalteapparates beteiligt (Niedzielska und Cierpka, 2010; Tanaka et al., 2012; Fiorillo et al., 2018). Die Sekretion von IFN- γ führt unter anderem zu einer Aktivierung von Makrophagen

(Farber, 1990) und einer Hochregulierung der Monozyten-Antwort als Reaktion auf bakterielle LPS, das eine Sekretion von proinflammatorisch wirksamen Mediatoren (TNF- α , IL-1 β , PGE₂) zur Folge hat (Ruszczak et al., 1990). Diese Moleküle führen wiederum zu einem parodontalen Gewebeabbau (Bascones et al., 2005; Niedzielska und Cierpka, 2010; Tanaka et al., 2012). Eine Januskinase (JAK) steuert die Phosphorylierung des IFN- γ -Rezeptors und hat eine Anlagerung von STAT (Signal Transducer and Activator of Transcription) mit weiterer Phosphorylierung, dimerischer STAT-Abspaltung und Beeinflussung der Transkription weiterer Gene zur Folge (Platanias, 2005; Schneider et al., 2014). Zudem belegt eine Arbeit von Pravica et al. (2000), dass der SNP rs2430561 im IFN- γ -Gen an einer Bindungsseite des Transkriptionsfaktors NF κ B lokalisiert ist. Auch diese Erkenntnisse rücken die Rolle des IFN- γ und möglicherweise des SNP rs2430561 im IFN- γ -Gen bei chronisch-entzündlichen Erkrankungen, wie der PA (Niedzielska und Cierpka, 2010; Tanaka et al., 2012; Fiorillo et al., 2018) und der RA (Rönnblom und Eloranta, 2013), in den Vordergrund der Forschung. Ein weiterer Zusammenhang zwischen PA, RA und IFN- γ besteht pathogenetisch über den bei PA vorkommenden Keim *P.g.*, der laut Sakkas et al. (2017), eine T-Zell initiierte Sekretion des IFN- γ verursacht.

Diese Studie unterstreicht den Zusammenhang des SNP rs2430561 im IFN- γ -Gen mit RA und PA.

Tabelle 26: Untersuchungen mit Assoziationen des IFN- γ -SNP rs2430561 zu diversen Erkrankungen bei Patienten unterschiedlicher Ethnizität

| Genpolymorphismus | Erkrankung | Studie Autor (Jahr) | Herkunft Kohorte |
|--|------------|--|---------------------|
| <i>IFN-γ (SNP rs2430561)</i> | | | |
| - AA, A | PA | Heidari et al. (2015) | Iran |
| - AA | HBV | Yu (2006); López-Maderuelo et al. (2003) | - |
| - AA | Tbc | López-Maderuelo et al. (2003) | - |
| - TT, T | AS | Xu und Li (2017) | China |
| - TT, T | V | Karam et al. (2017) | - |

PA = Parodontitis, HBV = Hepatitis-B-Virus (intrauterin), Tbc = Tuberkulose, AS = Ankyloisierende Spondylitis (Morbus Bechterew), V = Vitiligo, - = keine Information

Für den SNP rs2070874 im IL-4-Gen wurden Tendenzen festgestellt ($p=0,056$). Bei RA-Patienten mit schwerer PA lag der Genotyp CT und Haplotyp TT+CT tendenziell vermindert vor. Zudem waren RA-Patienten mit schwerer PA tendenziell seltener T-Allelträger im Vergleich zu RA-Patienten mit milder/keiner PA. Die Studie von Bartova et al. 2014 zeigte, dass Zytokinpolymorphismen des IL-4 über die Beeinflussung mononuklearer Zellen nicht nur zu einer Ausschüttung von neuem IL-4 führen, sondern auch die Expression anderer Zytokine auslösen. Die Studie von Michel et al. (2001) fand eine Assoziation zwischen IL-4 Polymorphismen und PA. Untersuchungen von Probanden asiatischer Herkunft (Chen et al., 2016) und eine Meta-Analyse mit Probanden unterschiedlichster Ethnien (da Silva et al., 2017) konnten keine signifikanten Assoziationen für IL-4-Gen-Polymorphismen zur PA finden.

6 Zusammenfassung

Arbeitshypothese I: Unter allen in der Studie geprüften Zytokinpolymorphismen (3.5.4 Abbildung 9) konnten für das G-Allel des SNP rs361525 im TNF- α -Gen und das G-Allel des SNP rs1801275 im IL4R- α -Gen signifikante Assoziationen zu einer RA-Erkrankung identifiziert werden. Innerhalb der binär logistischen Regressionsanalyse war es jedoch nicht möglich das G-Allel des SNP rs361525 im TNF- α -Gen und das G-Allel des SNP rs1801275 im IL4R- α -Gen als unabhängigen Risikofaktoren zu erfassen. Eine signifikant starke Assoziation zur Prävalenz der RA konnten in der multivariaten Analyse für die Kofaktoren weibliches Geschlecht, zunehmendes Alter, *P.g.* und derzeitiger/ehemaliger Nikotinkonsum gezeigt werden. Diese Faktoren sind bereits aus anderen Studien als Risikofaktoren für die RA bekannt (Costenbader et al., 2006; Klippel et al., 2008; Wasserman, 2011; Källberg et al., 2011; Agnihotri und Gaur, 2014; Di Giuseppe et al., 2014; Sakkas et al., 2017; Deutsche Rheuma- Liga Bundesverband e. V., 2018).

Arbeitshypothese II: Innerhalb der RA-Gruppe konnte eine signifikante Assoziation des A-Allels und des AA-Genotyps vom SNP rs2430561 im IFN- γ -Gen zur schweren PA detektiert werden. Weder das A-Allel noch der der AA-Genotyp des SNP rs2430561 im IFN- γ -Gen konnten jedoch in der binär logistischen Regressionsanalyse als unabhängige Risikofaktoren für schwere PA bestätigt werden. Dagegen wurde für Frauen ein verringertes Risiko und für die Variablen Alter, *P.g.* und derzeitigen/ehemaligen Nikotinkonsum ein erhöhtes PA Risiko detektiert.

Bei dem Vergleich der Kontroll-Gruppe mit der RA-Gruppe zeigt sich jedoch signifikant für das A-Allel eine Assoziation zu RA-Patienten mit schwerer PA nach bivariater

(4.3.3 Tabelle 17) und multivariater Analyse (4.3.3 Tabelle 18). Die essenzielle Rolle des IFN- γ in der Immunpathogenese der PA und der RA geht aus der zuvor diskutierten Literatur (5.3.2 Genotyp- Allel- und Haplotypverteilung der im CTS-Kit untersuchten Zytokinpolymorphismen innerhalb der RA-Gruppe: schwere vs. milde/keine PA) und den Ergebnissen dieser Studie hervor. Daher ist zu vermuten, dass RA und PA den SNP rs2430561 im IFN- γ -Gen als gemeinsamen genetischen Risikofaktor bei Kaukasiern teilen. Genetische Untersuchungen hinsichtlich des SNP rs2430561 im IFN- γ -Gen könnten zukünftig für die Frühdiagnostik einer PA und RA von Bedeutung sein. Aus parodontologischer Sicht wäre bei diesen Risikopatienten das Aufklärungsgespräch über ein erhöht vorliegendes Risiko an PA/RA zu erkranken von besonderer Bedeutung. Der Patient sollte nicht nur über essenzielle Mundhygienemaßnahmen und Risikofaktoren (z. B. Nikotinkonsum etc.) aufgeklärt werden, sondern auch ein Verständnis für die notwendigen präventiven Maßnahmen erhalten. Patienten, die bereits an PA erkrankt sind könnten im Falle der oben genannten genetischen Konstellation ebenso davon profitieren. Das Verständnis für eine bereits etablierte PA-Erkrankung wird plausibler und macht die Notwendigkeit einer PA-Therapie deutlich, um ggf. auch das Risiko der Entwicklung einer RA zu verringern (Bıyıkođlu et al., 2013; Calderaro et al., 2017; Cosgarea et al., 2018).

Arbeitshypothese III: Es wird mit den schon genannten Limitationen bestätigt, dass RA häufiger bei Frauen vorkommt. Des Weiteren befinden sich unter den RA-Patienten, wie vermutet, mehr derzeitige/ehemalige Raucher. Es wird damit bekräftigt, dass Nikotinkonsum die Entwicklung einer RA begünstigen kann (Källberg et al., 2011; Di Giuseppe et al., 2014). Derzeitiger und ehemaliger Nikotinkonsum gleichermaßen Risikofaktoren für RA und PA zu sein. Dementsprechend essentiell ist es, Risikopatienten über die Folgen des Nikotinkonsums aufzuklären.

Bei RA-Patienten wurde ein signifikant erhöhtes Vorkommen von *P.g.* nachgewiesen. Dies unterstreicht die Bedeutung dieses parodontalen Bakteriums in der Pathogenese der RA.

Arbeitshypothese IV: Bei dem Vergleich demographischer und klinischer Parameter innerhalb der RA-Gruppe wurde verifiziert, dass Frauen vermehrt an RA erkranken und seltener von einer schweren PA betroffen sind. Bei Männern mit RA muss mit Verläufen schwerer PA gerechnet werden. Diese Ergebnisse sind aufgrund der kontrovers diskutierten Einflüsse der RA-Medikation (NSAIDs, DMARDs, Biologika) auf den parodontalen Zustand eingeschränkt zu betrachten.

7 Literatur

Åberg CH, Kelk P, Johansson A (2015) Aggregatibacter actinomycetemcomitans: virulence of its leukotoxin and association with aggressive periodontitis. *Virulence* 6:188–195. doi:10.4161/21505594.2014.982428

Agnihotri R, Gaur S (2014) Rheumatoid arthritis in the elderly and its relationship with periodontitis: a review. *Geriatrics & gerontology international* 14:8–22. doi:10.1111/ggi.12062

Al Shayeb KN, Turner W, Gillam DG (2014) Accuracy and reproducibility of probe forces during simulated periodontal pocket depth measurements. *The Saudi dental journal* 26:50–55. doi:10.1016/j.sdentj.2014.02.001

Alspaugh MA, Henle G, Lennette ET, Henle W (1981) Elevated Levels of Antibodies to Epstein-Barr Virus Antigens in Sera and Synovial Fluids of Patients with Rheumatoid Arthritis. *Journal of Clinical Investigation* 67:1134–1140

Aradi B, Kato M, Filkova M, Karouzakis E, Klein K, Scharl M, Kolling C, Michel BA, Gay RE, Buzas EI, Gay S, Jüngel A (2015) Protein tyrosine phosphatase nonreceptor type 2: an important regulator of Interleukin-6 production in rheumatoid arthritis synovial fibroblasts. *Arthritis & rheumatology (Hoboken, N.J.)* 67:2624–2633. doi:10.1002/art.39256

Araújo VMA, Melo IM, Lima V (2015) Relationship between Periodontitis and Rheumatoid Arthritis: Review of the Literature. *Mediators of inflammation* 2015:259074. doi:10.1155/2015/259074

Austad C, Kvien TK, Olsen IC, Uhlig T (2015) Health status has improved more in women than in men with rheumatoid arthritis from 1994 to 2009: results from the Oslo rheumatoid arthritis register. *Annals of the rheumatic diseases* 74:148–155. doi:10.1136/annrheumdis-2013-204014

Baelum V, López R (2012) Defining a periodontitis case: analysis of a never-treated adult population. *J Clin Periodontol* 39:10–19. doi:10.1111/j.1600-051X.2011.01812.x

Balandraud N, Roudier J (2018) Epstein-Barr virus and rheumatoid arthritis. *Joint, bone, spine : revue du rhumatisme* 85:165–170. doi:10.1016/j.jbspin.2017.04.011

Ball RJ, Avenell A, Aucott L, Hanlon P, Vickers MA (2015) Systematic review and meta-analysis of the sero-epidemiological association between Epstein-Barr virus and rheumatoid arthritis. *Arthritis research & therapy* 17:274. doi:10.1186/s13075-015-0755-6

Bang S-Y, Lee K-H, Cho S-K, Lee H-S, Lee KW, Bae S-C (2010) Smoking increases rheumatoid arthritis susceptibility in individuals carrying the HLA-DRB1 shared epitope, regardless of rheumatoid factor or anti-cyclic citrullinated peptide antibody status. *Arthritis and rheumatism* 62:369–377. doi:10.1002/art.27272.

Barendregt DS, van der Velden U, Timmerman MF, van der Weijden GA (2006) Comparison of two automated periodontal probes and two probes with a conventional readout in periodontal maintenance patients. *J Clin Periodontol* 33:276–282. doi:10.1111/j.1600-051X.2006.00900.x

- Bartold PM, Marshall RI, Haynes DR (2005) Periodontitis and Rheumatoid Arthritis: A Review. *Journal of Periodontology* 76:2066–2074. doi:10.1902/jop.2005.76.11-S.2066
- Bartova J, Linhartova PB, Podzimek S, Janatova T, Svobodova K, Fassmann A, Duskova J, Belacek J, Holla LI (2014) The effect of IL-4 gene polymorphisms on cytokine production in patients with chronic periodontitis and in healthy controls. *Mediators of inflammation* 2014:185757. doi:10.1155/2014/185757
- Bascones A, Noronha S, Gómez M, Mota P, González Moles MA, Villarroel Dorrego M (2005) Tissue destruction in periodontitis: bacteria or cytokines fault? *Quintessence international* (Berlin, Germany : 1985) 36:299–306
- Bender P, Bürgin WB, Sculean A, Eick S (2017) Serum antibody levels against *Porphyromonas gingivalis* in patients with and without rheumatoid arthritis - a systematic review and meta-analysis. *Clinical oral investigations* 21:33–42. doi:10.1007/s00784-016-1938-5
- Bergenholtz A, al-Harbi N, al-Hummayani FM, Anton P, al-Kahtani S (2000) The accuracy of the Vivacare true pressure-sensitive periodontal probe system in terms of probing force. *J Clin Periodontol* 27:93–98
- Bernhard J, Villiger PM (2001) Rheumatoide Arthritis: Pathogenese und Pathologie. *Swiss Med Forum*. doi:10.4414/smf.2001.04048
- Bıyıkoğlu B, Buduneli N, Aksu K, Nalbantsoy A, Lappin DF, Evrenosoğlu E, Kinane DF (2013) Periodontal therapy in chronic periodontitis lowers gingival crevicular fluid interleukin-1beta and DAS28 in rheumatoid arthritis patients. *Rheumatology international* 33:2607–2616. doi:10.1007/s00296-013-2781-5
- Bonfil JJ, Dillier FL, Mercier P, Reviron D, Foti B, Sambuc R, Brodeur JM, Sedarat C (1999) A "case control" study on the rôle of HLA DR4 in severe periodontitis and rapidly progressive periodontitis. Identification of types and subtypes using molecular biology (PCR.SSO). *J Clin Periodontol* 26:77–84
- Brown RS, Arany PR (2015) Mechanism of drug-induced gingival overgrowth revisited: a unifying hypothesis. *Oral diseases* 21:e51-61. doi:10.1111/odi.12264
- Burgos PI, Causey ZL, Tamhane A, Kelley JM, Brown EE, Hughes LB, Danila MI, van Everdingen A, Conn DL, Jonas BL, Callahan LF, Smith EA, Brasington RD, Moreland LW, van der Heijde DM, Alarcón GS, Bridges SL (2010) Association of IL4R single-nucleotide polymorphisms with rheumatoid nodules in African Americans with rheumatoid arthritis. *Arthritis research & therapy* 12:R75. doi:10.1186/ar2994
- Burmester G-R, Kalden JR (Hrsg) (2002) *Der IL-1-Rezeptor-Antagonist im Zytokin-Netzwerk; Funktion und Stellenwert*. Steinkopff, Heidelberg, s.l.
- Cadena-Sandoval D, Alemán-Ávila I, Barbosa-Cobos RE, Becerril-Mendoza LT, Fragoso JM, Ramírez-Bello J (2018) Tumor necrosis factor (TNF) and TNFR1 polymorphisms are not risk factors for rheumatoid arthritis in a Mexican population. *Molecular biology reports* 45:227–232. doi:10.1007/s11033-018-4155-2.
- Calderaro DC, Corrêa JD, Ferreira GA, Barbosa IG, Martins CC, Silva TA, Teixeira AL (2017) Influence of periodontal treatment on rheumatoid arthritis: a systematic

review and meta-analysis. *Revista brasileira de reumatologia* 57:238–244. doi:10.1016/j.rbre.2016.11.011.

Cantore S, Mirgaldi R, Ballini A, Coscia MF, Scacco S, Papa F, Inchingolo F, Dipalma G, Vito D de (2014) Cytokine gene polymorphisms associate with microbiological agents in periodontal disease: our experience. *International journal of medical sciences* 11:674–679. doi:10.7150/ijms.6962

Chapple ILC, Bouchard P, Cagetti MG, Campus G, Carra M-C, Cocco F, Nibali L, Hujuel P, Laine ML, Lingstrom P, Manton DJ, Montero E, Pitts N, Rangé H, Schlueter N, Teughels W, Twetman S, van Loveren C, van der Weijden F, Vieira AR, Schulte AG (2017) Interaction of lifestyle, behaviour or systemic diseases with dental caries and periodontal diseases: consensus report of group 2 of the joint EFP/ORCA workshop on the boundaries between caries and periodontal diseases. *J Clin Periodontol* 44 Suppl 18:S39-S51. doi:10.1111/jcpe.12685

Chen D, Zhang T-L, Wang X (2016) Association between Polymorphisms in Interleukins 4 and 13 Genes and Chronic Periodontitis in a Han Chinese Population. *BioMed research international* 2016:8389020. doi:10.1155/2016/8389020

Cholmakow-Bodechtel C, Füßl-Grünig E, Geyer S, Hertrampf K, Hoffmann T, Holtfreter B, Jordan AR, Kocher T, Micheelis W, Nitschke I, Scharf L, Schiffner U, Schützhold U, Stark H, Zimmer S (2016) Fünfte Deutsche Mundgesundheitsstudie (DMS V) - Kurzfassung:14–17

Chou Y-Y, Lai K-L, Chen D-Y, Lin C-H, Chen H-H (2015) Rheumatoid Arthritis Risk Associated with Periodontitis Exposure: A Nationwide, Population-Based Cohort Study. *PloS one* 10:e0139693. doi:10.1371/journal.pone.0139693

Cosgarea R, Tristiu R, Dumitru RB, Arweiler NB, Rednic S, Sirbu CI, Lascu L, Sculean A, Eick S (2018) Effects of non-surgical periodontal therapy on periodontal laboratory and clinical data as well as on disease activity in patients with rheumatoid arthritis. *Clinical oral investigations*. doi:10.1007/s00784-018-2420-3

Costenbader KH, Feskanich D, Mandl LA, Karlson EW (2006) Smoking intensity, duration, and cessation, and the risk of rheumatoid arthritis in women. *The American journal of medicine* 119:503.e1-9. doi:10.1016/j.amjmed.2005.09.053

da Silva HEC, Stefani CM, Santos Melo N de, Almeida Lima A de, Rösing CK, Porporatti AL, Canto GDL (2017) Effect of intra-pregnancy nonsurgical periodontal therapy on inflammatory biomarkers and adverse pregnancy outcomes: a systematic review with meta-analysis. *Systematic reviews* 6:197. doi:10.1186/s13643-017-0587-3

Detert J, Pischon N, Burmester GR, Buttgereit F (2010) The association between rheumatoid arthritis and periodontal disease. *Arthritis research & therapy* 12:218. doi:10.1186/ar3106.

Deutsche Gesellschaft für Rheumatologie e.V. (Hrsg) (25.04.2018) Deutsche Gesellschaft für Rheumatologie e.V. <https://dgrh.de/Start/DGRh/Presse/Daten-und-Fakten/Rheuma-in-Zahlen.html>. Zugegriffen: 25. April 2018

Deutsche Rheuma- Liga Bundesverband e. V. (2018) Rheumatoide Arthritis – Therapie und Lebensperspektiven:9

Deutsches Ärzteblatt (2016) In klinischen Studien sind Frauen oft unterrepräsentiert. <https://www.aerzteblatt.de/nachrichten/66613/In-klinischen-Studien-sind-Frauen-oft-unterrepraesentiert>

Di Giuseppe D, Discacciati A, Orsini N, Wolk A (2014) Cigarette smoking and risk of rheumatoid arthritis: a dose-response meta-analysis. *Arthritis research & therapy* 16:R61. doi:10.1186/ar4498

Ding C, Ji X, Chen X, Xu Y, Zhong L (2014) TNF- α gene promoter polymorphisms contribute to periodontitis susceptibility: evidence from 46 studies. *J Clin Periodontol* 41:748–759. doi:10.1111/jcpe.12279

Domínguez-Pérez RA, Loyola-Rodríguez JP, Abud-Mendoza C, Alpuche-Solis AG, Ayala-Herrera JL, Martínez-Martínez RE (2017) Association of cytokines polymorphisms with chronic periodontitis and rheumatoid arthritis in a Mexican population. *Acta odontologica Scandinavica* 75:243–248. doi:10.1080/00016357.2017.1280846

Dutzan N, Vernal R, Hernandez M, Dezerega A, Rivera O, Silva N, Aguillon JC, Puente J, Pozo P, Gamonal J (2009) Levels of interferon-gamma and transcription factor T-bet in progressive periodontal lesions in patients with chronic periodontitis. *Journal of Periodontology* 80:290–296. doi:10.1902/jop.2009.080287

Eick S, Straube A, Guentsch A, Pfister W, Jentsch H (2011) Comparison of real-time polymerase chain reaction and DNA-strip technology in microbiological evaluation of periodontitis treatment. *Diagnostic microbiology and infectious disease* 69:12–20. doi:10.1016/j.diagmicrobio.2010.08.017.

Eke PI, Page RC, Wei L, Thornton-Evans G, Genco RJ (2012) Update of the case definitions for population-based surveillance of periodontitis. *Journal of Periodontology* 83:1449–1454. doi:10.1902/jop.2012.110664

Emonts M, Hazes MJMW, Houwing-Duistermaat JJ, van der Gaast-de Jongh CE, Vogel L de, Han HKH, Wouters JMGW, Laman JD, Dolhain RJEM (2011) Polymorphisms in genes controlling inflammation and tissue repair in rheumatoid arthritis: a case control study. *BMC medical genetics* 12:36. doi:10.1186/1471-2350-12-36.

Ertugrul AS, Arslan U, Dursun R, Hakki SS (2013) Periodontopathogen profile of healthy and oral lichen planus patients with gingivitis or periodontitis. *International journal of oral science* 5:92–97. doi:10.1038/ijos.2013.30.

Farber JM (1990) A macrophage mRNA selectively induced by gamma-interferon encodes a member of the platelet factor 4 family of cytokines. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 87:5238–5242

Fiorillo L, Cervino G, Herford AS, Lauritano F, D'Amico C, Lo Giudice R, Laino L, Troiano G, Crimi S, Ciccì M (2018) Interferon Crevicular Fluid Profile and Correlation with Periodontal Disease and Wound Healing: A Systemic Review of Recent Data. *International journal of molecular sciences* 19. doi:10.3390/ijms19071908.

Firestein GS, Budd R, Gabriel SE, McInnes IB, O'Dell JR (Hrsg) (2012) *Kelley's Textbook of Rheumatology*. Elsevier Saunders

- Fontana L (2009) Modulating human aging and age-associated diseases. *Biochimica et biophysica acta* 1790:1133–1138. doi:10.1016/j.bbagen.2009.02.002
- Fousteri G, Liossis S-NC, Battaglia M (2013) Roles of the protein tyrosine phosphatase PTPN22 in immunity and autoimmunity. *Clinical immunology (Orlando, Fla.)* 149:556–565. doi:10.1016/j.clim.2013.10.006
- Fousteri G, Jofra T, Debernardis I, Stanford SM, Laurenzi A, Bottini N, Battaglia M (2014) The protein tyrosine phosphatase PTPN22 controls forkhead box protein 3 T regulatory cell induction but is dispensable for T helper type 1 cell polarization. *Clinical and experimental immunology* 178:178–189. doi:10.1111/cei.12393
- Frampton JE (2017) Golimumab: A Review in Inflammatory Arthritis. *BioDrugs : clinical immunotherapeutics, biopharmaceuticals and gene therapy* 31:263–274. doi:10.1007/s40259-017-0217-6
- Geisinger ML, Geurs NC, Bain JL, Kaur M, Vassilopoulos PJ, Cliver SP, Hauth JC, Reddy MS (2014) Oral health education and therapy reduces gingivitis during pregnancy. *J Clin Periodontol* 41:141–148. doi:10.1111/jcpe.12188.
- Genco RJ, Borgnakke WS (2013) Risk factors for periodontal disease. *Periodontology* 2000 62:59–94. doi:10.1111/j.1600-0757.2012.00457.x.
- González-Jaranay M, Téllez L, Roa-López A, Gómez-Moreno G, Moreu G (2017) Periodontal status during pregnancy and postpartum. *PloS one* 12:e0178234. doi:10.1371/journal.pone.0178234.
- Górska R, Gregorek H, Kowalski J, Laskus-Perendyk A, Syczewska M, Madaliński K (2003) Relationship between clinical parameters and cytokine profiles in inflamed gingival tissue and serum samples from patients with chronic periodontitis. *J Clin Periodontol* 30:1046–1052. doi:10.1046/j.0303-6979.2003.00425.x
- Graffelman J, Weir BS (2016) Testing for Hardy–Weinberg equilibrium at biallelic genetic markers on the X chromosome. *Heredity* 116:558 EP -. doi:10.1038/hdy.2016.20
- Graves DT, Cochran D (2003) The contribution of interleukin-1 and tumor necrosis factor to periodontal tissue destruction. *Journal of Periodontology* 74:391–401. doi:10.1902/jop.2003.74.3.391
- Guo Q, Wang Y, Xu D, Nossent J, Pavlos NJ, Xu J (2018) Rheumatoid arthritis: pathological mechanisms and modern pharmacologic therapies. *Bone research* 6:15. doi:10.1038/s41413-018-0016-9
- HADINEDOUSHAN H, NOORBAKHS P, SOLEYMANI-SALEHABADI H (2016) Tumor Necrosis Factor Alpha Gene Polymorphism and Association With Its Serum Level in Iranian Population with Rheumatoid Arthritis. *Archives of Rheumatology* 31:306–313. doi:10.5606/ArchRheumatol.2016.5907
- Hahner P, Marchi M, Pinneker M, Gaßmann G (2017) Wechselwirkungen von rheumatoider Arthritis und Parodontitis
- Harvey J, Lotze M, Stevens MB, Lambert G, Jacobson D (1981) Rheumatoid arthritis in a Chippewa Band. I. Pilot screening study of disease prevalence. *Arthritis and rheumatism* 24:717–721

- Havemose-Poulsen A, Sørensen LK, Stoltze K, Bendtzen K, Holmstrup P (2005) Cytokine profiles in peripheral blood and whole blood cell cultures associated with aggressive periodontitis, juvenile idiopathic arthritis, and rheumatoid arthritis. *Journal of Periodontology* 76:2276–2285. doi:10.1902/jop.2005.76.12.2276
- Heidari Z, Mahmoudzadeh-Sagheb H, Hashemi M, Ansarimoghaddam S, Moudi B, Sheibak N (2015) Association between IFN- γ +874A/T and IFN- γ R1 (-611A/G, +189T/G, and +95C/T) Gene Polymorphisms and Chronic Periodontitis in a Sample of Iranian Population. *International journal of dentistry* 2015:375359. doi:10.1155/2015/375359
- Hense S, Luque Ramos A, Callhoff J, Albrecht K, Zink A, Hoffmann F (2016) Prävalenz der rheumatoiden Arthritis in Deutschland auf Basis von Kassendaten : Regionale Unterschiede und erste Ergebnisse der PROCLAIR-Studie. *Zeitschrift für Rheumatologie* 75:819–827. doi:10.1007/s00393-016-0088-0
- Holla LI, Hrdlickova B, Linhartova P, Fassmann A (2011) Interferon- γ +874A/T polymorphism in relation to generalized chronic periodontitis and the presence of periodontopathic bacteria. *Archives of oral biology* 56:153–158. doi:10.1016/j.archoralbio.2010.09.005
- Hujoel PP, Lingström P (2017) Nutrition, dental caries and periodontal disease: a narrative review. *J Clin Periodontol* 44 Suppl 18:S79-S84. doi:10.1111/jcpe.12672
- Hussein Y, El-Tarhouny S, Mohamed R, Pasha H, Abul-Saoud A (2012) Association of interleukin-4 receptor gene polymorphisms with rheumatoid arthritis in Egyptian female patients. *Joint, bone, spine : revue du rhumatisme* 79:38–42. doi:10.1016/j.jbspin.2011.02.017
- Isaza-Guzmán DM, Cardona-Vélez N, Gaviria-Correa DE, Martínez-Pabón MC, Castaño-Granada MC, Tobón-Arroyave SI (2015) Association study between salivary levels of interferon (IFN)-gamma, interleukin (IL)-17, IL-21, and IL-22 with chronic periodontitis. *Archives of oral biology* 60:91–99. doi:10.1016/j.archoralbio.2014.09.002.
- Ismail AF, McGrath CP, Yiu CKY (2017) Oral health status of children with type 1 diabetes: a comparative study. *Journal of pediatric endocrinology & metabolism : JPem* 30:1155–1159. doi:10.1515/jpem-2017-0053.
- Jahid M, Rehan-Ul-Haq, Chawla D, Avasthi R, Ahmed RS (2018) Association of polymorphic variants in IL1B gene with secretion of IL-1 β protein and inflammatory markers in north Indian rheumatoid arthritis patients. *Gene* 641:63–67. doi:10.1016/j.gene.2017.10.051
- Javed F, Ahmed HB, Mikami T, Almas K, Romanos GE, Al-Hezaimi K (2014) Cytokine profile in the gingival crevicular fluid of rheumatoid arthritis patients with chronic periodontitis. *Journal of investigative and clinical dentistry* 5:1–8. doi:10.1111/jicd.12066.
- Jiang P, Li H, Li X (2015) Diabetes mellitus risk factors in rheumatoid arthritis: a systematic review and meta-analysis. *Clinical and experimental rheumatology* 33:115–121
- Källberg H, Ding B, Padyukov L, Bengtsson C, Rönnelid J, Klareskog L, Alfredsson L (2011) Smoking is a major preventable risk factor for rheumatoid arthritis: estimations

of risks after various exposures to cigarette smoke. *Annals of the rheumatic diseases* 70:508–511. doi:10.1136/ard.2009.120899.

Karam RA, Zidan HE, Khater MH (2017) Genetic variants of interferon-gamma and its mRNA expression and inflammatory parameters in the pathogenesis of vitiligo. *Biochemistry and cell biology = Biochimie et biologie cellulaire* 95:474–481. doi:10.1139/bcb-2016-0228.

Karimbux NY, Saraiya VM, Elangovan S, Allareddy V, Kinnunen T, Kornman KS, Duff GW (2012) Interleukin-1 gene polymorphisms and chronic periodontitis in adult whites: a systematic review and meta-analysis. *Journal of Periodontology* 83:1407–1419. doi:10.1902/jop.2012.110655

Karlson EW, Deane K (2012) Environmental and gene-environment interactions and risk of rheumatoid arthritis. *Rheumatic diseases clinics of North America* 38:405–426. doi:10.1016/j.rdc.2012.04.002

Kässer UR, Gleissner C, Dehne F, Michel A, Willershausen-Zönnchen B, Bolten WW (1997) Risk for periodontal disease in patients with longstanding rheumatoid arthritis. *Arthritis and rheumatism* 40:2248–2251. doi:10.1002/1529-0131(199712)40:12<2248::AID-ART20>3.0.CO;2-W

Khan S, Khalid T, Awan KH (2016) Chronic periodontitis and smoking. Prevalence and dose-response relationship. *Saudi medical journal* 37:889–894. doi:10.15537/smj.2016.8.14223

Kharlamova N, Jiang X, Sherina N, Potempa B, Israelsson L, Quirke A-M, Eriksson K, Yucel-Lindberg T, Venables PJ, Potempa J, Alfredsson L, Lundberg K (2016) Antibodies to Porphyromonas gingivalis Indicate Interaction Between Oral Infection, Smoking, and Risk Genes in Rheumatoid Arthritis Etiology. *Arthritis & rheumatology (Hoboken, N.J.)* 68:604–613. doi:10.1002/art.39491

Klippel JH, Crofford LJ, Stone JH, White PH (2008) *Primer on the Rheumatic Diseases*. Springer Science+Business Media LLC, New York, NY

Kobayashi T, Yoshie H (2015) Host Responses in the Link Between Periodontitis and Rheumatoid Arthritis. *Current oral health reports* 2:1–8. doi:10.1007/s40496-014-0039-2

Kobayashi T, Ito S, Kuroda T, Yamamoto K, Sugita N, Narita I, Sumida T, Gejyo F, Yoshie H (2007) The interleukin-1 and Fcγ receptor gene polymorphisms in Japanese patients with rheumatoid arthritis and periodontitis. *Journal of Periodontology* 78:2311–2318. doi:10.1902/jop.2007.070136

Kobayashi T, Murasawa A, Ito S, Yamamoto K, Komatsu Y, Abe A, Sumida T, Yoshie H (2009) Cytokine gene polymorphisms associated with rheumatoid arthritis and periodontitis in Japanese adults. *Journal of Periodontology* 80:792–799. doi:10.1902/jop.2009.080573.

Kobayashi T, Yokoyama T, Ito S, Kobayashi D, Yamagata A, Okada M, Oofusa K, Narita I, Murasawa A, Nakazono K, Yoshie H (2014) Periodontal and serum protein profiles in patients with rheumatoid arthritis treated with tumor necrosis factor inhibitor adalimumab. *Journal of Periodontology* 85:1480–1488. doi:10.1902/jop.2014.140194.

- Kokkonen H, Söderström I, Rocklöv J, Hallmans G, Lejon K, Rantapää Dahlqvist S (2010) Up-regulation of cytokines and chemokines predates the onset of rheumatoid arthritis. *Arthritis and rheumatism* 62:383–391. doi:10.1002/art.27186
- Konig MF, Paracha AS, Moni M, Bingham CO, Andrade F (2015) Defining the role of *Porphyromonas gingivalis* peptidylarginine deiminase (PPAD) in rheumatoid arthritis through the study of PPAD biology. *Annals of the rheumatic diseases* 74:2054–2061. doi:10.1136/annrheumdis-2014-205385
- Konig MF, Abusleme L, Reinholdt J, Palmer RJ, Teles RP, Sampson K, Rosen A, Nigrovic PA, Sokolove J, Giles JT, Moutsopoulos NM, Andrade F (2016) Aggregatibacter actinomycetemcomitans-induced hypercitrullination links periodontal infection to autoimmunity in rheumatoid arthritis. *Science translational medicine* 8:369ra176. doi:10.1126/scitranslmed.aaj1921
- Kornman KS, Crane A, Wang HY, Di Giovine FS, Newman MG, Pirk FW, Wilson TG, Higginbottom FL, Duff GW (1997) The interleukin-1 genotype as a severity factor in adult periodontal disease. *J Clin Periodontol* 24:72–77
- Koziel J, Mydel P, Potempa J (2014) The link between periodontal disease and rheumatoid arthritis: an updated review. *Current rheumatology reports* 16:408. doi:10.1007/s11926-014-0408-9
- Kurgan Ş, Fentoğlu Ö, Önder C, Serdar M, Eser F, Tatakis DN, Günhan M (2016) The effects of periodontal therapy on gingival crevicular fluid matrix metalloproteinase-8, interleukin-6 and prostaglandin E2 levels in patients with rheumatoid arthritis. *Journal of periodontal research* 51:586–595. doi:10.1111/jre.12337.
- Lagervall M, Jansson L, Bergstrom J (2003) Systemic disorders in patients with periodontal disease. *J Clin Periodontol* 30:293–299. doi:10.1034/j.1600-051X.2003.00325.x
- Lalla E, Papapanou PN (2011) Diabetes mellitus and periodontitis: a tale of two common interrelated diseases. *Nature reviews. Endocrinology* 7:738–748. doi:10.1038/nrendo.2011.106
- Lee YH, Bae S-C (2015a) Associations between interleukin-1 and IL-1 receptor antagonist polymorphisms and susceptibility to rheumatoid arthritis: A meta-analysis. *Cellular and molecular biology (Noisy-le-Grand, France)* 61:105–111
- Lee YH, Bae SC (2015b) Associations between TNF- α polymorphisms and susceptibility to rheumatoid arthritis and vitiligo: a meta-analysis. *Genetics and molecular research : GMR* 14:5548–5559. doi:10.4238/2015.May.25.6
- Lee YH, Ji JD, Song GG (2007) Tumor necrosis factor-alpha promoter -308 A/G polymorphism and rheumatoid arthritis susceptibility: a metaanalysis. *The Journal of rheumatology* 34:43–49
- LeResche L, Dworkin SF (2002) The role of stress in inflammatory disease, including periodontal disease: review of concepts and current findings. *Periodontology 2000* 30:91–103. doi:10.1034/j.1600-0757.2002.03009.x
- Liao KP, Alfredsson L, Karlson EW (2009) Environmental influences on risk for rheumatoid arthritis. *Current opinion in rheumatology* 21:279–283. doi:10.1097/BOR.0b013e32832a2e16

- Liu KA, Mager NAD (2016) Women's involvement in clinical trials: historical perspective and future implications. *Pharmacy practice* 14:708. doi:10.18549/PharmPract.2016.01.708
- Loos BG, John RP, Laine ML (2005) Identification of genetic risk factors for periodontitis and possible mechanisms of action. *J Clin Periodontol* 32 Suppl 6:159–179. doi:10.1111/j.1600-051X.2005.00806.x
- López-Maderuelo D, Arnalich F, Serantes R, González A, Codoceo R, Madero R, Vázquez JJ, Montiel C (2003) Interferon-gamma and interleukin-10 gene polymorphisms in pulmonary tuberculosis. *American journal of respiratory and critical care medicine* 167:970–975. doi:10.1164/rccm.200205-438BC
- Lundy FT, El Karim IA, Linden GJ (2009) Neuropeptide Y (NPY) and NPY Y1 receptor in periodontal health and disease. *Archives of oral biology* 54:258–262. doi:10.1016/j.archoralbio.2008.10.002
- Ma VY, Chan L, Carruthers KJ (2014) Incidence, prevalence, costs, and impact on disability of common conditions requiring rehabilitation in the United States: stroke, spinal cord injury, traumatic brain injury, multiple sclerosis, osteoarthritis, rheumatoid arthritis, limb loss, and back pain. *Archives of physical medicine and rehabilitation* 95:986-995.e1. doi:10.1016/j.apmr.2013.10.032
- Malysheva IE, Topchieva LV, Balan OV, Marusenko IM, Barysheva OY, Kurbatova IV (2018) Analysis of the Association of TNF -238GA Gene Polymorphism with the Risk of Rheumatoid Arthritis Development in Russian Population in the Republic of Karelia. *Bulletin of experimental biology and medicine* 165:674–677. doi:10.1007/s10517-018-4239-y
- Masamatti SS, Kumar A, Baron TKA, Mehta DS, Bhat K (2012) Evaluation of interleukin -1B (+3954) gene polymorphism in patients with chronic and aggressive periodontitis: A genetic association study. *Contemporary clinical dentistry* 3:144–149. doi:10.4103/0976-237X.96815
- Mayer Y, Balbir-Gurman A, Machtei EE (2009) Anti-tumor necrosis factor-alpha therapy and periodontal parameters in patients with rheumatoid arthritis. *Journal of Periodontology* 80:1414–1420. doi:10.1902/jop.2009.090015.
- Mayo O (2008) A century of Hardy-Weinberg equilibrium. *Twin research and human genetics : the official journal of the International Society for Twin Studies* 11:249–256. doi:10.1375/twin.11.3.249
- McGuire MK, Nunn ME (1999) Prognosis versus actual outcome. IV. The effectiveness of clinical parameters and IL-1 genotype in accurately predicting prognoses and tooth survival. *Journal of Periodontology* 70:49–56. doi:10.1902/jop.1999.70.1.49
- Mercado FB, Marshall RI, Klestov AC, Bartold PM (2001) Relationship between rheumatoid arthritis and periodontitis. *Journal of Periodontology* 72:779–787. doi:10.1902/jop.2001.72.6.779
- Mercado FB, Marshall RI, Bartold PM (2003) Inter-relationships between rheumatoid arthritis and periodontal disease. A review. *J Clin Periodontol* 30:761–772. doi:10.1034/j.1600-051X.2003.00371.x

- Meyer M, Czachurski D, Tran TH, Hien T, Opelz G, Mytilineos J (2005) A new PCR-SSP typing method for six single-nucleotide polymorphisms impairing the blood-clotting cascade as well as T-cell stimulation. *Tissue antigens* 66:650–655. doi:10.1111/j.1399-0039.2005.00493.x
- Meyle J, Chapple I (2015) Molecular aspects of the pathogenesis of periodontitis. *Periodontology* 2000 69:7–17. doi:10.1111/prd.12104
- Michel J, Gonzáles JR, Wunderlich D, Diète A, Herrmann JM, Meyle J (2001) Interleukin-4 polymorphisms in early onset periodontitis. *J Clin Periodontol* 28:483–488
- Moen K, Brun JG, Madland TM, Tynning T, Jonsson R (2003) Immunoglobulin G and A Antibody Responses to *Bacteroides forsythus* and *Prevotella intermedia* in Sera and Synovial Fluids of Arthritis Patients. *Clinical and Vaccine Immunology* 10:1043–1050. doi:10.1128/CDLI.10.6.1043-1050.2003
- Moreno O, González CI, Saaibi DL, Otero W, Badillo R, Martín J, Ramírez G (2007) Polymorphisms in the IL4 and IL4RA genes in Colombian patients with rheumatoid arthritis. *The Journal of rheumatology* 34:36–42
- Mori M, Yamada R, Kobayashi K, Kawaida R, Yamamoto K (2005) Ethnic differences in allele frequency of autoimmune-disease-associated SNPs. *Journal of human genetics* 50:264–266. doi:10.1007/s10038-005-0246-8
- Nagy G, van Vollenhoven RF (2015) Sustained biologic-free and drug-free remission in rheumatoid arthritis, where are we now? *Arthritis research & therapy* 17:181. doi:10.1186/s13075-015-0707-1
- Neering SH, Adyani-Fard S, Klocke A, Rüttermann S, Flemmig TF, Beikler T (2015) Periodontitis associated with plasminogen deficiency: a case report. *BMC oral health* 15:59. doi:10.1186/s12903-015-0045-3
- Nibali L, Di Iorio A, Tu Y-K, Vieira AR (2017) Host genetics role in the pathogenesis of periodontal disease and caries. *J Clin Periodontol* 44 Suppl 18:S52-S78. doi:10.1111/jcpe.12639
- Niedzielska I, Cierpka S (2010) Interferon gamma in the etiology of atherosclerosis and periodontitis. *Thrombosis research* 126:324–327. doi:10.1016/j.thromres.2010.06.018.
- Nociti FH, Casati MZ, Duarte PM (2015) Current perspective of the impact of smoking on the progression and treatment of periodontitis. *Periodontology* 2000 67:187–210. doi:10.1111/prd.12063.
- Ohki T, Itabashi Y, Kohno T, Yoshizawa A, Nishikubo S, Watanabe S, Yamane G, Ishihara K (2012) Detection of periodontal bacteria in thrombi of patients with acute myocardial infarction by polymerase chain reaction. *American heart journal* 163:164–167. doi:10.1016/j.ahj.2011.10.012.
- Olsen I, Singhrao SK, Potempa J (2018) Citrullination as a plausible link to periodontitis, rheumatoid arthritis, atherosclerosis and Alzheimer's disease. *Journal of oral microbiology* 10:1487742. doi:10.1080/20002297.2018.1487742
- Orozco G, Barton A (2010) Update on the genetic risk factors for rheumatoid arthritis. *Expert review of clinical immunology* 6:61–75

Page RC, Schroeder HE (1982) Periodontitis in man and other animals; A comparative review ; 88 figures and 14 tables. Karger, Basel

Page RC, Kornman KS (1997) The pathogenesis of human periodontitis: an introduction. *Periodontology* 2000 14:9–11

Page RC, Eke PI (2007) Case Definitions for Use in Population-Based Surveillance of Periodontitis. *Journal of Periodontology* 78:1387–1399. doi:10.1902/jop.2007.060264

Papathanasiou E, Teles F, Griffin T, Arguello E, Finkelman M, Hanley J, Theoharides TC (2014) Gingival crevicular fluid levels of interferon- γ , but not interleukin-4 or -33 or thymic stromal lymphopoietin, are increased in inflamed sites in patients with periodontal disease. *Journal of periodontal research* 49:55–61. doi:10.1111/jre.12078.

Pers J-O, Saraux A, Pierre R, Youinou P (2008) Anti-TNF-alpha immunotherapy is associated with increased gingival inflammation without clinical attachment loss in subjects with rheumatoid arthritis. *Journal of Periodontology* 79:1645–1651. doi:10.1902/jop.2008.070616

Peruzzo DC, Benatti BB, Ambrosano GMB, Nogueira-Filho GR, Sallum EA, Casati MZ, Nociti FH (2007) A systematic review of stress and psychological factors as possible risk factors for periodontal disease. *Journal of Periodontology* 78:1491–1504. doi:10.1902/jop.2007.060371

Pezzutto A, Ulrichs T, Burmester G-R (2007) Taschenatlas der Immunologie; Grundlagen, Labor, Klinik. THIEME, Stuttgart, New York

Pisetsky DS (2017) Advances in the Treatment of Rheumatoid Arthritis: Costs and Challenges. *North Carolina medical journal* 78:337–340. doi:10.18043/ncm.78.5.337

Platanias LC (2005) Mechanisms of type-I- and type-II-interferon-mediated signalling. *Nature reviews. Immunology* 5:375–386. doi:10.1038/nri1604

Pravica V, Perrey C, Stevens A, Lee JH, Hutchinson IV (2000) A single nucleotide polymorphism in the first intron of the human IFN-gamma gene: absolute correlation with a polymorphic CA microsatellite marker of high IFN-gamma production. *Human immunology* 61:863–866

Ramos PS, Shedlock AM, Langefeld CD (2015) Genetics of autoimmune diseases: insights from population genetics. *Journal of human genetics* 60:657–664. doi:10.1038/jhg.2015.94

Rashid T, Wilson C, Ebringer A (2013) The link between ankylosing spondylitis, Crohn's disease, Klebsiella, and starch consumption. *Clinical & developmental immunology* 2013:872632. doi:10.1155/2013/872632

Rateitschak EM, Wolf HF, Rateitschak KH (2004) Parodontologie. THIEME, s.l.

Rawlings JS, Rosler KM, Harrison DA (2004) The JAK/STAT signaling pathway. *Journal of cell science* 117:1281–1283. doi:10.1242/jcs.00963

Reddy MS, Palcanis KG, Geurs NC (1997) A comparison of manual and controlled-force attachment-level measurements. *J Clin Periodontol* 24:920–926

Reichert S, Machulla HKG, Klapproth J, Zimmermann U, Reichert Y, Gläser CH, Schaller HG, Stein J, Schulz S (2008) The interleukin-10 promoter haplotype ATA is a

putative risk factor for aggressive periodontitis. *Journal of periodontal research* 43:40–47. doi:10.1111/j.1600-0765.2007.00992.x

Reichert S, Stein JM, Klapproth J, Zimmermann U, Reichert Y, Gläser C, Schaller H-G, Schulz S (2011) The genetic impact of the Q551R interleukin-4 receptor alpha polymorphism for aggressive or chronic periodontitis and the occurrence of periodontopathic bacteria. *Archives of oral biology* 56:1485–1493. doi:10.1016/j.archoralbio.2011.06.003

Reichert S, Haffner M, Keyßer G, Schäfer C, Stein JM, Schaller H-G, Wienke A, Strauss H, Heide S, Schulz S (2013) Detection of oral bacterial DNA in synovial fluid. *J Clin Periodontol* 40:591–598. doi:10.1111/jcpe.12102

Renatus A, Trentzsch L, Schönfelder A, Schwarzenberger F, Jentsch H (2016) Evaluation of an Electronic Periodontal Probe Versus a Manual Probe. *Journal of clinical and diagnostic research : JCDR* 10:ZH03-ZH07. doi:10.7860/JCDR/2016/22603.8886

Rodríguez-Lozano B, González-Febles J, Garnier-Rodríguez JL, Dadlani S, Bustabad-Reyes S, Sanz M, Sánchez-Alonso F, Sánchez-Piedra C, González-Dávila E, Díaz-González F (2019) Association between severity of periodontitis and clinical activity in rheumatoid arthritis patients: a case-control study. *Arthritis research & therapy* 21:27. doi:10.1186/s13075-019-1808-z

Rodríguez-Rodríguez L, González-Juanatey C, Palomino-Morales R, Vázquez-Rodríguez TR, Miranda-Fillooy JA, Fernández-Gutiérrez B, Llorca J, Martín J, González-Gay MA (2011) TNFA -308 (rs1800629) polymorphism is associated with a higher risk of cardiovascular disease in patients with rheumatoid arthritis. *Atherosclerosis* 216:125–130. doi:10.1016/j.atherosclerosis.2010.10.052.

Romero-Sanchez C, Rodríguez C, Santos-Moreno P, Mesa AM, Lafaurie GI, Giraldo-Q S, De-Avila J, Castillo DM, Duran M, Chalem PC, Bello Gualtero JM, Valle-Oñate R (2017) Is the Treatment with Biological or Non-biological DMARDs a Modifier of Periodontal Condition in Patients with Rheumatoid Arthritis? *Current rheumatology reviews* 13:139–151. doi:10.2174/1573397113666170407161520

Rönblom L, Eloranta M-L (2013) The interferon signature in autoimmune diseases. *Current opinion in rheumatology* 25:248–253. doi:10.1097/BOR.0b013e32835c7e32.

Ruiz Garcia V, Burls A, Cabello JB, Vela Casasempere P, Bort-Martí S, Bernal JA (2017) Certolizumab pegol (CDP870) for rheumatoid arthritis in adults. *The Cochrane database of systematic reviews* 9:CD007649. doi:10.1002/14651858.CD007649.pub4.

Ruszczak Z, Detmar M, Imcke E, Orfanos CE (1990) Effects of rIFN Alpha, Beta, and Gamma on the Morphology, Proliferation, and Cell Surface Antigen Expression of Human Dermal Microvascular Endothelial Cells In Vitro. *Journal of Investigative Dermatology* 95:693–699. doi:10.1111/1523-1747.ep12514496

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

Sakkas LI, Daoussis D, Lioussis S-N, Bogdanos DP (2017) The Infectious Basis of ACPA-Positive Rheumatoid Arthritis. *Frontiers in microbiology* 8:1853. doi:10.3389/fmicb.2017.01853

Sanz M, Ceriello A, Buysschaert M, Chapple I, Demmer RT, Graziani F, Herrera D, Jepsen S, Lione L, Madianos P, Mathur M, Montanya E, Shapira L, Tonetti M, Vegh D (2018) Scientific evidence on the links between periodontal diseases and diabetes: Consensus report and guidelines of the joint workshop on periodontal diseases and diabetes by the International diabetes Federation and the European Federation of Periodontology. *Diabetes research and clinical practice* 137:231–241. doi:10.1016/j.diabres.2017.12.001.

Scher JU, Abramson SB (2013) Periodontal disease, *Porphyromonas gingivalis*, and rheumatoid arthritis: what triggers autoimmunity and clinical disease? *Arthritis research & therapy* 15:122. doi:10.1186/ar4360

Schmickler J, Rupprecht A, Patschan S, Patschan D, Müller GA, Haak R, Mausberg RF, Schmalz G, Kottmann T, Ziebolz D (2017) Cross-Sectional Evaluation of Periodontal Status and Microbiologic and Rheumatoid Parameters in a Large Cohort of Patients With Rheumatoid Arthritis. *Journal of Periodontology* 88:368–379. doi:10.1902/jop.2016.160355.

Schneider WM, Chevillotte MD, Rice CM (2014) Interferon-stimulated genes: a complex web of host defenses. *Annual review of immunology* 32:513–545. doi:10.1146/annurev-immunol-032713-120231

Schulz S, Porsch M, Grosse I, Hoffmann K, Schaller H-G, Reichert S (2019) Comparison of the oral microbiome of patients with generalized aggressive periodontitis and periodontitis-free subjects. *Archives of oral biology* 99:169–176. doi:10.1016/j.archoralbio.2019.01.015

Schütt S (2011) Parodontitis - eine immunologische Erkrankung mit genetischer Komponente. *ZWR* 120:94–101. doi:10.1055/s-0031-1275608

Scott DL, Wolfe F, Huizinga TWJ (2010) Rheumatoid arthritis. *The Lancet* 376:1094–1108. doi:10.1016/S0140-6736(10)60826-4

Seitter L (2018) Polymorphismen im Gen der nicht-codierenden RNA ANRIL als parodontale und kardiovaskuläre Risikomarker (Longitudinale Kohortenstudie) 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 Linda Seitter geboren am 24.04.1991 in Baden-Württemberg. Betreuer: Dr. rer. nat., rer. medic. habil. Susanne Schulz Polymorphismen im Gen der nicht-codierenden RNA ANRIL als parodontale und kardiovaskuläre Risikomarker (Longitudinale Kohortenstudie)

Sharif K, Sharif A, Jumah F, Oskouian R, Tubbs RS (2018) Rheumatoid arthritis in review: Clinical, anatomical, cellular and molecular points of view. *Clinical anatomy (New York, N.Y.)* 31:216–223. doi:10.1002/ca.22980

Shi Q, Cai C, Xu J, Liu J, Liu H, Huo N (2017) Is there an association between IFN- γ +874A/T polymorphism and periodontitis susceptibility?: A meta-analysis. *Medicine* 96:e7288. doi:10.1097/MD.00000000000007288

Silman AJ, Pearson JE (2002) Epidemiology and genetics of rheumatoid arthritis. *Arthritis research* 4 Suppl 3:S265-72. doi:10.1186/ar578

- Smit MJ de, Westra J, Brouwer E, Janssen KMJ, Vissink A, van Winkelhoff AJ (2015) Periodontitis and Rheumatoid Arthritis: What Do We Know? *Journal of Periodontology* 86:1013–1019. doi:10.1902/jop.2015.150088
- Socransky SS, Haffajee AD, Cugini MA, Smith C, Kent RL (1998) Microbial complexes in subgingival plaque. *J Clin Periodontol* 25:134–144. doi:10.1111/j.1600-051X.1998.tb02419.x
- Song GG, Bae S-C, Kim J-H, Lee YH (2013a) Interleukin-4, interleukin-4 receptor, and interleukin-18 polymorphisms and rheumatoid arthritis: a meta-analysis. *Immunological investigations* 42:455–469. doi:10.3109/08820139.2013.804084.
- Song GG, Bae S-C, Kim J-H, Lee YH (2013b) The PTPN22 C1858T polymorphism and rheumatoid arthritis: a meta-analysis. *Rheumatology international* 33:1991–1999. doi:10.1007/s00296-013-2679-2
- Sorsa T, Tjäderhane L, Salo T (2004) Matrix metalloproteinases (MMPs) in oral diseases. *Oral diseases* 10:311–318. doi:10.1111/j.1601-0825.2004.01038.x
- Stanko P, Izakovicova Holla L (2014) Bidirectional association between diabetes mellitus and inflammatory periodontal disease. A review. *Biomedical papers of the Medical Faculty of the University Palacky, Olomouc, Czechoslovakia* 158:35–38. doi:10.5507/bp.2014.005
- Stoker AW (2005) Protein tyrosine phosphatases and signalling. *The Journal of endocrinology* 185:19–33. doi:10.1677/joe.1.06069
- Suerbaum S, Burchard GD, Kaufmann SHE, Schulz TF (Hrsg) (2016) *Medizinische Mikrobiologie und Infektiologie*. Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg, s.l.
- Taba Jr M, Souza SLSd, Mariguela VC (2012) Periodontal disease: a genetic perspective. *Periodontology 2000* 26:32–38. doi:10.1590/S1806-83242012000700006
- Tanaka MH, Giro EMA, Cavalcante LB, Pires JR, Apponi LH, Valentini SR, Spolidório DMP, Capela MV, Rossa C, Scarel-Caminaga RM (2012) Expression of interferon- γ , interferon- α and related genes in individuals with Down syndrome and periodontitis. *Cytokine* 60:875–881. doi:10.1016/j.cyto.2012.08.020.
- Teeuw WJ, Laine ML, Bizzarro S, Loos BG (2015) A Lead ANRIL Polymorphism Is Associated with Elevated CRP Levels in Periodontitis: A Pilot Case-Control Study. *PloS one* 10:e0137335. doi:10.1371/journal.pone.0137335
- The American Rheumatism Association (1988) Revised criteria for the classification of rheumatoid arthritis
- Tonetti MS, Claffey N (2005) Advances in the progression of periodontitis and proposal of definitions of a periodontitis case and disease progression for use in risk factor research; Group C Consensus report of the 5th European workshop in periodontology
- Trajkov D, Mishevskaja-Perchinkova S, Karadzova-Stojanoska A, Petlichkovski A, Strezova A, Spiroski M (2009) Association of 22 cytokine gene polymorphisms with rheumatoid arthritis in population of ethnic Macedonians. *Clinical rheumatology* 28:1291–1300. doi:10.1007/s10067-009-1238-4

- Tupta-Veselicky L, Famili P, Ceravolo FJ, Zullo T (1994) A clinical study of an electronic constant force periodontal probe. *Journal of Periodontology* 65:616–622. doi:10.1902/jop.1994.65.6.616
- Urbán E, Terhes G, Radnai M, Gorzó I, Nagy E (2010) Detection of periodontopathogenic bacteria in pregnant women by traditional anaerobic culture method and by a commercial molecular genetic method. *Anaerobe* 16:283–288. doi:10.1016/j.anaerobe.2010.02.005.
- van der Woude D, Lie BA, Lundström E, Balsa A, Feitsma AL, Houwing-Duistermaat JJ, Verduijn W, Nordang GBN, Alfredsson L, Klareskog L, Pascual-Salcedo D, Gonzalez-Gay MA, Lopez-Nevot MA, Valero F, Roep BO, Huizinga TWJ, Kvien TK, Martín J, Padyukov L, Vries RRP de, Toes REM (2010) Protection against anti-citrullinated protein antibody-positive rheumatoid arthritis is predominantly associated with HLA-DRB1*1301: a meta-analysis of HLA-DRB1 associations with anti-citrullinated protein antibody-positive and anti-citrullinated protein antibody-negative rheumatoid arthritis in four European populations. *Arthritis and rheumatism* 62:1236–1245. doi:10.1002/art.27366.
- van Vollenhoven RF (2009) Sex differences in rheumatoid arthritis: more than meets the eye. *BMC medicine* 7:12. doi:10.1186/1741-7015-7-12
- Wasserman AM (2011) Diagnosis and management of rheumatoid arthritis. *American family physician* 84:1245–1252
- Wegner N, Lundberg K, Kinloch A, Fisher B, Malmström V, Feldmann M, Venables PJ (2010) Autoimmunity to specific citrullinated proteins gives the first clues to the etiology of rheumatoid arthritis. *Immunological Reviews* 233:34–54. doi:10.1111/j.0105-2896.2009.00850.x
- Xu H, Li B (2017) Effect of Interferon- γ Polymorphisms on Ankylosing Spondylitis: A Case-Control Study. *Medical science monitor : international medical journal of experimental and clinical research* 23:4126–4131
- Yarwood A, Huizinga TWJ, Worthington J (2016) The genetics of rheumatoid arthritis: risk and protection in different stages of the evolution of RA. *Rheumatology (Oxford, England)* 55:199–209. doi:10.1093/rheumatology/keu323
- Yu H (2006) Relationship between IFN- γ gene polymorphism and susceptibility to intrauterine HBV infection. *WJG* 12:2928. doi:10.3748/wjg.v12.i18.2928
- Zhang S, Crivello A, Offenbacher S, Moretti A, Paquette DW, Barros SP (2010) Interferon-gamma promoter hypomethylation and increased expression in chronic periodontitis. *J Clin Periodontol* 37:953–961. doi:10.1111/j.1600-051X.2010.01616.x.
- Zhao Y, Li Z, Zhang L, Zhang Y, Yang Y, Tang Y, Fu P (2014) The TNF-alpha -308G/A polymorphism is associated with type 2 diabetes mellitus: an updated meta-analysis. *Molecular biology reports* 41:73–83. doi:10.1007/s11033-013-2839-1

8 Thesen

1. Parodontitis (PA) und Rheumatoide Arthritis (RA) sind chronisch-entzündliche Erkrankungen multifaktorieller Genese. Es sind bereits eine Reihe von Genpolymorphismen bekannt, die mit einer vermehrten bzw. verminderten Zytokin-freisetzung assoziiert sind. In der Pathogenese der RA und PA scheint genau diese Balance zwischen der Freisetzung pro- und antiinflammatorischer Zytokine gestört zu sein.
2. Hauptziel dieser Studie war es Assoziationen von 22 Zytokinpolymorphismen 13 ausgewählter pro- und antiinflammatorischer Zytokine zur RA bzw. PA zu untersuchen.
3. Unter allen in der Studie geprüften Zytokinpolymorphismen konnten für das G-Allel des SNP rs1801275 im IL4R- α -Gen ($p=0,043$) und das G-Allel des SNP rs361525 im TNF- α -Gen ($p=0,005$) signifikante Assoziationen zu einer RA-Erkrankung identifiziert werden. (multivariate Analysen: G-Allel rs1801275: $p=0,248$; G-Allel rs361525: $p=0,422$).
4. Eine signifikante Assoziation des AA-Genotyps ($p=0,043$) und des A-Allels ($p=0,039$) des SNP rs2430561 im IFN- γ -Gen wurde zu schwerer PA bei RA-Patienten detektiert. (multivariate Analysen: AA-Genotyp: $p=0,060$; A-Allel: $p=0,068$).
5. Beim Vergleich der Kontroll-Gruppe mit RA-Patienten mit schwerer PA wurde das A-Allel des SNP rs2430561 im IFN- γ -Gen signifikant zur schweren PA assoziiert (bivariate Analyse: $p=0,039$; multivariate Analyse: $p=0,024$).
6. Als Nebenziel galt es Unterschiede in demographischen Parametern (inkl. Raucherstatus) und subgingivalem Keimspektrum zwischen RA- und Kontroll-Gruppe und innerhalb der RA-Gruppe zu analysieren.
7. Es wurde bestätigt, dass RA-Patienten im Vergleich zur Kontroll-Gruppe vermehrt weiblich ($p=0,002$) sind. Des Weiteren befinden sich unter den RA-Patienten, mehr derzeitige/ehemalige Raucher ($p=0,005$) im Vergleich zur Kontroll-Gruppe. Es wird damit bekräftigt, dass Nikotinkonsum ein Risikofaktor für RA darstellt.
8. Bei RA-Patienten wurde ein signifikant erhöhtes Vorkommen von *Porphyromonas gingivalis* ($p=0,001$) nachgewiesen. Dies könnte auf die bereits vermutete Bedeutung dieses parodontalen Leitkeims in der Pathogenese der RA hindeuten.
10. Die Studie liefert neue Erkenntnisse über mögliche gemeinsame Schnittstellen von PA und RA und hebt die Bedeutung der interdisziplinären Zusammenarbeit von Parodontologen und Rheumatologen hervor.

9 Tabellenanlagen

Anlage I - Ausgewählte Zytokinpolymorphismen RA-Gruppe vs. Kontroll-Gruppe

| TNF-α SNP rs361525 | Gesamt | RA-Gruppe | Kontroll- Gruppe | p-Wert |
|--|---------------|------------------|-----------------------------|---------------|
| Genotypen | (n = 201) | (n = 101) | (n = 100) | |
| AA (%) | 1 | 1 | 1 | 0,186*** |
| AG (%) | 10,9 | 6,9 | 15 | |
| GG (%) | 88,1 | 92,1 | 84 | |
| AA + AG vs. GG (%) | 11,9 | 7,9 \downarrow | 16 | 0,077** |
| AG + GG vs. AA (%) | 99 | 99 | 99 | 1,000*** |
| AA + GG vs. AG (%) | 89,1 | 93,1 | 85 | 0,067** |
| Allele | (n = 201) | (n = 101) | (n = 100) | |
| A (%) | 5,5 | 1 \downarrow | 10 | 0,005*** |
| G (%) | 94,5 | 99 | 90 | |
| TNF-α SNP rs1800629 | Gesamt | RA-Gruppe | Kontroll- Gruppe | p-Wert |
| Genotypen | (n = 195) | (n = 100) | (n = 95) | |
| AA (%) | 1,5 | 2 | 1 \downarrow | 0,857*** |
| AG(%) | 25,9 | 26,7 | 25 | |
| GG (%) | 72,6 | 71,3 | 74 | |
| AA + GA (%) | 27,4 | 28,7 | 26 | 0,666** |
| GA + GG(%) | 98,5 | 98 | 99 | 1,00*** |
| AA + GG (%) | 74,1 | 73,3 | 75 | 0,779** |
| Allele | (n = 402) | (n = 202) | (n = 200) | |
| A (%) | 14,4 | 15,3 | 13,5 | 0,598** |
| G (%) | 85,6 | 84,7 | 86,5 | |
| Haplotypen | (n = 402) | (n = 202) | (n = 200) | |
| GG (%) | 78,1 | 80,2 | 76 | 0,343*** |
| AG (%) | 15,2 | 14,9 | 15,5 | |
| GA (%) | 6,7 | 5 | 8,5 | |
| Haplotyp Kombi | (n = 201) | (n = 101) | (n = 100) | |
| GG-GG (%) | 62,2 | 65,3 | 59 | |
| GG-AG (%) | 23,9 | 23,8 | 24 | |

| | | | | |
|--------------------------------|---------------|------------------|-----------------------------|---------------|
| AG-AG (%) | 1,5 | 2 | 1 | 0,721*** |
| AG-GA (%) | 3,5 | 2 ↓ | 5 | |
| GA-GA (%) | 1 | 1 | 1 | |
| Haplotyp Kombi | (n = 201) | (n = 101) | (n = 100) | |
| GG (%) | 62,2 | 65,3 | 59 | 0,354** |
| others (%) | 37,8 | 34,7 | 41 | |
| IL-12 SNP rs3212227 | Gesamt | RA-Gruppe | Kontroll- Gruppe | p-Wert |
| Genotypen | (n = 199) | (n = 99) | (n = 100) | |
| AA (%) | 65,3 | 69,7 | 61 | 0,091** |
| AC (%) | 27,1 | 26,3 | 28 | |
| CC (%) | 7,5 | 4 ↓ | 11 | |
| AA + CA (%) | 92,5 | 96 | 89 | 0,063** |
| CA + CC (%) | 34,7 | 30,3 | 39 | 0,197** |
| AA + CC (%) | 72,9 | 73,7 | 72 | 0,783** |
| Allele | (n = 398) | (n = 198) | (n = 200) | |
| A (%) | 78,9 | 82,8 | 75,0 | 0,056** |
| C (%) | 21,1 | 17,2 | 25,0 | |
| IFN-γ SNP rs2430561 | Gesamt | RA-Gruppe | Kontroll- Gruppe | p-Wert |
| Genotypen | (n = 200) | (n = 101) | (n = 99) | |
| AA (%) | 30,0 | 31,7 | 28,3 | 0,091** |
| AT (%) | 46,0 | 47,5 | 44,4 | |
| TT (%) | 24,0 | 20,8 | 27,3 | |
| Allele | (n = 400) | (n = 202) | (n = 198) | |
| A (%) | 53,0 | 55,4 | 44,6 | 0,556** |
| T (%) | 47,0 | 50,5 | 49,5 | |
| TGF-β SNP rs1800470 | Gesamt | RA-Gruppe | Kontroll- Gruppe | p-Wert |
| Genotypen | (n = 195) | (n = 100) | (n = 95) | |
| CC (%) | 17,9 | 41,1 | 16,8 ↓ | 0,268** |
| CT (%) | 45,6 | 50,0 | 41,1 | |
| TT (%) | 36,4 | 31,0 | 42,1 | |

| | | | | |
|---|---------------|------------------|-----------------------------|---------------|
| Allele | (n = 390) | (n = 200) | (n = 190) | |
| C (%) | 40,8 | 44,0 | 37,4 | 0,183** |
| T (%) | 59,2 | 56,0 | 62,6 | |
| TGF-β SNP rs1800471 | Gesamt | RA-Gruppe | Kontroll- Gruppe | p-Wert |
| Genotypen | (n = 195) | (n = 100) | (n = 95) | |
| CC (%) | 1,5 | 0,0 | 3,2 | 0,099*** |
| CG (%) | 13,8 | 17,0 | 10,5 | |
| GG (%) | 84,6 | 83,0 | 86,3 | |
| Haplotypen | (n = 390) | (n = 200) | (n = 190) | |
| CG (%) | 33,3 | 35,5 | 31,1 | 0,535** |
| CC (%) | 7,9 | 8,5 | 7,4 | |
| TG (%) | 58,7 | 56 | 61,6 | |
| Allele | (n = 390) | (n = 200) | (n = 190) | |
| C (%) | 8,5 | 8,5 | 8,4 | 0,978** |
| G (%) | 91,5 | 91,5 | 91,6 | |
| IL-2 SNP rs2069762 | Gesamt | RA-Gruppe | Kontroll- Gruppe | p-Wert |
| Genotypen | (n = 190) | (n = 99) | (n = 91) | |
| TT (%) | 45,8 | 46,5 | 45,1 | 0,653** |
| TG (%) | 44,7 | 42,4 | 47,3 | |
| GG (%) | 9,5 | 11,1 | 7,7 | |
| Allele | (n = 190) | (n = 99) | (n = 99) | |
| T (%) | 63,7 | 65,7 | 61,5 | 0,555** |
| G (%) | 36,3 | 34,3 | 38,5 | |
| IL-2 SNP rs2069763 | Gesamt | RA-Gruppe | Kontroll- Gruppe | p-Wert |
| Genotypen | (n = 190) | (n = 99) | (n = 91) | |
| TT (%) | 12,6 | 14,1 | 11,0 | 0,857** |
| TG (%) | 45,8 | 42,4 | 49,5 | |
| GG (%) | 41,6 | 43,4 | 36,6 | |
| Haplotypen | (n = 380) | (n = 198) | (n = 182) | |
| TG (%) | 33,4 | 32,8 | 34,1 | 0,645*** |

| | | | | |
|-------------------------------|---------------|------------------|-----------------------------|---------------|
| GG (%) | 31,1 | 31,8 | 30,2 | |
| GT (%) | 0,5 | 0 | 1,1 | |
| TT (%) | 35 | 35,4 | 34,6 | |
| Allele | (n = 402) | (n = 202) | (n = 200) | |
| T (%) | 12,6 | 14,1 | 11,0 | 0,590** |
| G (%) | 87,4 | 85,9 | 89,0 | |
| IL-4 SNP rs2243248 | Gesamt | RA-Gruppe | Kontroll- Gruppe | p-Wert |
| Genotypen | (n = 197) | (n = 100) | (n = 97) | |
| TT (%) | 88,8 | 88,0 | 89,7 | 0,357*** |
| TG (%) | 9,6 | 9,0 | 10,3 | |
| GG (%) | 1,5 | 3,0 | 0,0 | |
| Allele | (n = 394) | (n = 200) | (n = 194) | |
| T (%) | 93,7 | 92,5 | 94,8 | 0,340** |
| G (%) | 6,3 | 7,5 | 5,2 | |
| IL-4 SNP rs2243250 | Gesamt | RA-Gruppe | Kontroll- Gruppe | p-Wert |
| Genotypen | (n = 197) | (n = 100) | (n = 97) | |
| TT (%) | 1,5 | 1,0 | 2,1 | 0,599*** |
| TC (%) | 26,4 | 29,0 | 23,7 | |
| CC (%) | 72,1 | 70,0 | 74,2 | |
| Allele | (n = 394) | (n = 200) | (n = 194) | |
| T (%) | 14,7 | 15,5 | 13,9 | 0,658** |
| C (%) | 85,3 | 84,5 | 86,1 | |
| IL-4 SNP rs2070874 | Gesamt | RA-Gruppe | Kontroll- Gruppe | p-Wert |
| Genotypen | (n = 195) | (n = 98) | (n = 97) | |
| TT (%) | 2,1 | 1,0 | 3,1 | 0,683*** |
| TC (%) | 26,7 | 27,6 | 25,8 | |
| CC (%) | 71,3 | 71,4 | 71,1 | |
| Allele | (n = 392) | (n = 198) | (n = 194) | |
| T (%) | 15,6 | 15,2 | 16,0 | 0,821** |
| C (%) | 84,4 | 84,8 | 84,0 | |

| Haplotypen | (n = 392) | (n = 198) | (n = 194) | |
|--------------------------------|---------------|------------------|-----------------------------|---------------|
| TTT (%) | 13,58 | 15,2 | 12,4 | 0,040*** |
| TCC (%) | 78,6 | 77,3 | 79,9 | |
| GCC (%) | 5,6 | 7,6 | 3,6 | |
| TCT (%) | 1 | 0 | 2,1 | |
| GTT (%) | 0,3 | 0 | 0,5 | |
| TTC (%) | 0,5 | 0 | 1 | |
| GCT (%) | 0,3 | 0 | 0,5 | |
| IL-10 SNP rs1800896 | Gesamt | RA-Gruppe | Kontroll- Gruppe | p-Wert |
| Genotypen | (n = 199) | (n = 100) | (n = 99) | |
| GG (%) | 18,6 | 23,0 | 14,1 | 0,274** |
| GA(%) | 55,3 | 52,0 | 58,6 | |
| AA (%) | 26,1 | 25,0 | 27,3 | |
| Allele | (n = 398) | (n = 200) | (n = 198) | |
| G (%) | 46,2 | 49,0 | 43,4 | 0,265** |
| A (%) | 53,8 | 51,0 | 56,6 | |
| IL-10 SNP rs1800871 | Gesamt | RA-Gruppe | Kontroll- Gruppe | p-Wert |
| Genotypen | (n = 199) | (n = 100) | (n = 99) | |
| TT (%) | 5,0 | 4,0 | 6,1 | 0,719*** |
| TC(%) | 61,0 | 35,0 | 37,4 | |
| CC (%) | 58,8 | 61,0 | 56,6 | |
| Allele | (n = 398) | (n = 200) | (n = 198) | |
| T (%) | 23,1 | 21,5 | 24,7 | 0,442** |
| C (%) | 76,9 | 78,5 | 75,3 | |
| IL-10 SNP rs1800872 | Gesamt | RA-Gruppe | Kontroll- Gruppe | p-Wert |
| Genotypen | (n = 199) | (n = 100) | (n = 99) | |
| AA (%) | 5,0 | 4,0 | 6,1 | 0,719*** |
| AC(%) | 36,1 | 35,0 | 37,4 | |
| CC (%) | 58,8 | 61,0 | 56,6 | |
| Allele | (n = 398) | (n = 200) | (n = 198) | |

| | | | | |
|-------------------|-----------|-----------|-----------|---------|
| A (%) | 23,1 | 21,5 | 24,7 | 0,442** |
| C (%) | 76,9 | 78,5 | 75,3 | |
| Haplotypen | (n = 398) | (n = 200) | (n = 198) | |
| GCC (%) | 46,5 | 49,5 | 43,4 | 0,479** |
| ACC (%) | 30,7 | 29 | 32,3 | |
| ATA (%) | 22,9 | 21,5 | 24,2 | |

= Chi²-Test, p-Werte korrigiert mit Yates-Korrektur, *= Chi²-Test, p-Werte korrigiert mit Fisher's Exact Test, ↓ = signifikantes Ergebnis, ⋮ = Tendenz zu einer Signifikanz, RA = Rheumatoide Arthritis

Anlage II - Ausgewählte Zytokinpolymorphismen innerhalb der RA-Gruppe (schwere PA vs. milde/keine PA)

| IL-4 SNP rs2243248 | Gesamt | schwere Parodontitis | milde/keine Parodontitis | p-Wert |
|-------------------------------|---------------|---------------------------------|-------------------------------------|---------------|
| Genotypen | (n = 100) | (n = 24) | (n = 76) | |
| GG (%) | 3 | 0 | 3,9 | 0,529*** |
| GT (%) | 9 | 12,5 [↑] ⋮ | 7,9 | |
| TT (%) | 88 | 87,5 | 88,2 | |
| TT + GT (%) | 97 | 100 | 96,1 | 0,577*** |
| GG + GT (%) | 12 | 12,5 | 11,8 | 1,000*** |
| GG + TT (%) | 91 | 87,5 | 92,1 | 0,445*** |
| Allele | (n = 200) | (n = 48) | (n = 152) | |
| G (%) | 7,5 | 6,3 | 7,9 | 0,770*** |
| T (%) | 92,5 | 93,8 | 92,1 | |
| IL-4 SNP rs2243250 | Gesamt | schwere Parodontitis | milde/keine Parodontitis | p-Wert |
| Genotypen | (n = 100) | (n = 24) | (n = 76) | |
| CC (%) | 70 | 83,3 | 65,8 | 0,292*** |
| CT (%) | 29 | 16,7 [↓] ⋮ | 32,9 | |
| TT (%) | 1 | 0 | 1,3 | |
| TT + TC vs. CC (%) | 30 | 16,7 | 34,2 | 0,102** |
| CC + TC vs. TT (%) | 99 | 100 | 98,7 | 1,000*** |
| CC + TT vs. CT (%) | 71 | 83,3 | 67,1 | 0,196** |
| Allele | (n = 200) | (n = 48) | (n = 152) | |

| | | | | |
|-------------------------------|---------------|---------------------------------|-------------------------------------|---------------|
| C (%) | 84,5 | 91,7 | 82,2 | 0,116** |
| T (%) | 15,5 | 8,3 ↓ | 17,8 | |
| IL-4 SNP rs2072874 | Gesamt | schwere Parodontitis | milde/keine Parodontitis | p-Wert |
| Genotypen | (n = 98) | (n = 23) | (n = 75) | |
| CC (%) | 71,4 | 87 | 66,7 | 0,181*** |
| CT (%) | 27,6 | 13 | 32 | |
| TT (%) | 1 | 0 | 1,3 | |
| TT + CT vs. CC (%) | 28,6 | 13 | 33,3 | 0,060** |
| CC + CT vs. TT (%) | 99 | 100 | 98,7 | 1,000*** |
| CC + TT vs. CT (%) | 72,4 | 87 | 68 | 0,075** |
| Allele | (n = 198) | (n = 47) | (n = 151) | |
| C (%) | 84,8 | 93,6 | 82,1 | 0,056** |
| T (%) | 15,2 | 6,4 ↓ | 17,9 | |
| Haplotypen | (n = 98) | (n = 23) | (n = 75) | |
| TTT (%) | 15,2 | 6,4 | 17,9 | 0,123*** |
| TCC (%) | 77,3 | 87,2 | 74,2 | |
| GCC (%) | 7,6 | 6,4 | 7,9 | |
| Haplotyp-Kombi | (n = 98) | (n = 23) | (n = 75) | |
| TTT-TTT (%) | 1 | 0 | 1,3 | 0,340*** |
| TTT-TCC (%) | 26,5 | 13 | 30,7 | |
| TCC-TCC (%) | 60,2 | 73,9 | 56 | |
| TCC-GCC (%) | 8,2 | 13 | 6,7 | |
| GCC-GCC (%) | 3,1 | 0 | 4 | |
| TTT-GCC (%) | 1 | 0 | 1,3 | |
| Haplotyp-Kombi | (n = 98) | (n = 23) | (n = 75) | |
| TCC-TCC (%) | 60,2 | 73,9 | 56 | 0,125** |
| Others (%) | 39,8 | 26,1 | 44 | |

= Chi²-Test, p-Werte korrigiert mit Yates-Korrektur, *= Chi²-Test, p-Werte korrigiert mit Fisher's Exact Test, ↓ = Tendenz zu einer Signifikanz, RA= Rheumatoide Arthritis, PA = Parodontitis

Eidesstattliche Erklärung (Selbstständigkeitserklärung)

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 04.06.2019

Natalie Alexandra Pütz

Erklärung über frühere Promotionsversuche

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

Halle (Saale), den 04.06.2019

Natalie Alexandra Pütz