

Aus der Universitätsklinik und Poliklinik für Hals-, Nasen-, Ohrenheilkunde, Kopf- und Halschirurgie

an der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg

(Kommissarischer Direktor: PD Dr. M. Bloching)



**Der Ames- und Mikrokerntest als Möglichkeiten
zur Früherkennung kanzerogener Exposition in der Mundhöhle
und ihre Beziehung zum dentalen Status**

Dissertation

zur Erlangung des akademischen Grades
Doktor der Zahnmedizin (Dr. med. dent.)

vorgelegt

der Medizinischen Fakultät
der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg

von Waldemar Reich

geboren am 14.10.1975 in Abai

Gutachter:

1. PD Dr. med. M. Bloching
2. Prof. Dr. med. dent. H.-G. Schaller
3. Prof. Dr. med. A. Dietz (Leipzig)

Datum der Verteidigung 21.12.2005

urn:nbn:de:gbv:3-000009610

[<http://nbn-resolving.de/urn/resolver.pl?urn=nbn%3Ade%3Agbv%3A3-000009610>]

Meinen Eltern in Dankbarkeit

Referat und bibliographische Angaben

Angeichts der hohen Inzidenz von weltweit ca. 500.000 Fällen pro Jahr haben Mundhöhlenkarzinome eine herausragende medizinische und gesundheitspolitische Bedeutung. Frühere epidemiologische Untersuchungen haben gezeigt, dass zu den Hauptrisikofaktoren der chronische Alkohol- und Tabakkonsum gehören. Darüber hinaus werden eine genetische Prädisposition, diätetische und virale Einflüsse bzw. präkanzeröse Läsionen oder Konditionen als wesentliche (Ko)Faktoren diskutiert. Der Einfluss individueller Mundhygiene und des sanierungsbedürftigen dentalen Status ist nicht hinreichend geklärt. Angesichts der durchschnittlichen 5-Jahres-Überlebensrate weltweit von unter 50 %, sind verschiedene Bio- und Tumormarker Gegenstand aktueller Studien. Die Bestrebungen richten sich auf eine Möglichkeit, individuelle prognostische Aussagen machen zu können. Inwiefern sich der sanierungsbedürftige dentale Status mit Befunden des Ames- und Mikrokern-Tests in Beziehung setzen lässt, wurde in der vorliegenden Arbeit an 100 Probanden geprüft. Der Ames-Test ist ein In-vitro-Verfahren zum Nachweis eines genotoxischen Potenzials (einer Prüfsubstanz oder eines Substanzgemisches) mittels histidindefizienten Mutantenstämmen des Keimes *Salmonella typhimurium*. Beim Mikrokerntest wird ein zytologisches Präparat auf das Vorhandensein von Mikrokernen untersucht, welche als ein Biomarker für zytogenetische Schäden gelten. Nicht stimulierter Speichel und ein Abstrich von der Wangenschleimhaut dienten in der vorgelegten Studie als Untersuchungsmaterial. Die Datenerhebung umfasste ferner eine ausführliche Anamnese und eine eingehende zahnärztliche Untersuchung. Bei Teilnehmern mit einem unterdurchschnittlich schlechten kariologischen (Revertanzahl) und parodontalen (Mikrokernzahl) Status ließen sich im Vergleich zu Fällen mit nahezu sanierten dentalen Verhältnissen signifikant höhere Messwerte ermitteln ($p \leq 0,051$). Träger von Amalgamrestorationen hatten in Relation zu Kompositfüllungen sowohl eine niedrigere Revertanzahl ($p=0,639$) als auch eine geringere Mikrokern-Rate ($p=0,006$). Außerdem fand sich eine Assoziation von Alkoholkonsum mit der Revertanzahl bzw. des Zigarettenrauchens mit der Revertanten- und Mikrokernzahl ($p \leq 0,032$). Es kann geschlussfolgert werden, dass ein kariös bzw. parodontal geschädigter Dentalstatus in Bezug auf die Speichelqualität und Epithelzellen der Mundschleimhaut zytogenetisch relevante Einflüsse hat, wie dies für die Noxen Alkohol und Tabak bekannt ist. Die Untersuchung bestätigt Beobachtungen von In-vitro-Studien, dass Bestandteile dentaler Komposite mit dem Chromatin von Mukosaepithelzellen interagieren.

Reich, Waldemar: Der Ames- und Mikrokerntest als Möglichkeiten zur Früherkennung kanzerogener Exposition in der Mundhöhle und ihre Beziehung zum dentalen Status. Halle, Univ., Med. Fak., Diss., 80 Seiten, 2005

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	1
1.1	Epidemiologie der Plattenepithelkarzinome im Mund-Rachen-Bereich.....	1
1.2	Mehrstufenmodell der Tumorentstehung.....	2
1.3	Risikofaktoren für Plattenepithelkarzinome im Mund-Rachen-Bereich.....	4
1.3.1	Gesicherte Risikofaktoren.....	4
1.3.2	Wahrscheinliche Risikofaktoren.....	7
1.3.3	Mögliche Risikofaktoren.....	10
1.4	Allgemeiner und dentaler Gesundheitszustand	12
1.5	Sozioökonomische Faktoren und dentaler Status	13
2	Zielstellung	14
3	Material und Methodik	15
3.1	Materialien.....	15
3.2	Probandenrekrutierung.....	15
3.3	Fragebogen	16
3.4	Gewinnung von Untersuchungsmaterial	16
3.5	Ames-Test.....	19
3.5.1	Grundlagen	19
3.5.2	Ablauf	19
3.6	Mikrokerntest	22
3.6.1	Grundlagen	22
3.6.2	Ablauf	22
3.7	Cariocheck-Test®	24
3.8	Statistische Methoden.....	24
4	Ergebnisse	25
4.1	Charakterisierung der Studienteilnehmer.....	25
4.2	Ergebnisse des Ames-Tests.....	27
4.2.1	Allgemeinanamnese und Ames-Test.....	28
4.2.2	Exogene Noxen und Ames-Test.....	29
4.2.3	Mundhygienegewohnheiten und Ames-Test.....	32
4.2.4	Dentaler Status und Ames-Test.....	33
4.3	Ergebnisse des Mikrokerntests.....	40
4.3.1	Allgemeinanamnese und Mikrokerntest.....	40
4.3.2	Exogene Noxen und Mikrokerntest.....	41

4.3.3	Mundhygienegewohnheiten und Mikrokerntest.....	42
4.3.4	Dentaler Status und Mikrokerntest.....	43
5	Diskussion	46
5.1	Biomonitoring und seine praktische Relevanz.....	46
5.1.1	Biomarker vs. Tumormarker.....	46
5.1.2	Biomarker und opportunistisches Screening.....	46
5.2	Diskussion des Ames-Tests.....	47
5.2.1	Allgemeine Faktoren	47
5.2.2	Exogene Noxen	48
5.2.3	Dentale Faktoren	49
5.3	Diskussion des Mikrokerntests.....	52
5.3.1	Allgemeine Faktoren	52
5.3.2	Exogene Noxen	53
5.3.3	Dentale Faktoren	55
5.4	Kombination mehrerer Marker vs. Einfachmarker.....	58
5.5	Kritische Bewertungen eingesetzter Testverfahren.....	59
5.6	Mögliche weiterführende Untersuchungen	60
6	Schlussfolgerungen	61
7	Zusammenfassung	63
8	Literatur	65
9	Thesen	78

Verzeichnis der Abkürzungen

Einleitung:

ADH	Enzym Alkoholdehydrogenase
Bcl-2	Antiapoptotisches Protein Bcl-2
CD44	Oberflächenrezeptorprotein für Hyaluronsäure, extrazelluläre Matrix und Wachstumsfaktoren
CMV	Zytomegalievirus
COX-2	Enzym Cyclooxygenase-2
DLE	Diskoider Lupus erythematoses
DÖSAK	Deutsch-Österreichisch-Schweizerischer Arbeitskreis für Tumoren im Kiefer- und Gesichtsbereich der Justus-Liebig-Universität Giessen
EBV	Epstein-Barr-Virus
HPV	Humane Papillomaviren
HSV	Herpes-simplex-Virus
IARC	International Agency for Research on Cancer
ICD-10	Internationale statistische Klassifikation der Krankheiten, 10. Revision
IL	Interleukin
MMP	Matrix-Metallo-Proteinase
NO	Stickstoffmonoxid
OADT	Oberer Aero-Digestiv-Trakt
OLL	Orale Lichenoide Läsion
OLP	Oraler Lichen Planus
OSMF	Orale submuköse Fibrose
p53-Protein	Produkt eines Tumorsuppressorgens
RDA	Recommended dietary allowance
ROS	Reaktive Sauerstoffspezies
TSNA	Tabakspezifische Nitrosamine
VEGF	Vascular Endothelial Growth Faktor

Material und Methodik:

API	Modifizierter Approximalraum-Plaque-Index
ASA-Score	Parameter zur Einschätzung des allgemeinen Gesundheitszustandes nach der American Society of Anaesthesiologists (ASA-Risikogruppen 1 bis 5)
CFU	Colony forming unit (Koloniebildende Einheiten)
DMF/T-Index	Decayed-Missing-Filled-Teeth-Index
D/T-Index	Decayed-Teeth-Index
M/T-Index	Missing-Teeth-Index
F/T-Index	Filled-Teeth-Index
HBV	Hepatitis-B-Virus
HCV	Hepatitis-C-Virus
IF	Induktionsfaktor (Ames-Test)
LB	Lactobacillus acidophilus
MK	Mikrokern (Mikrokerntest)
PBI	Papillen-Blutungs-Index
PJ	Packungsjahr (kumulative Tabakexposition)
PSI	Parodontaler-Screening-Index
SM	Streptococcus mutans
S9-Mix	Metabolisierende Fraktion aus Rattenleberhomogenat (Ames-Test)
WHO	World Health Organisation

Ergebnisse:

CT	Computertomographie
HWS	Halswirbelsäule
TA 98/-S9	Salmonella typhimurium, Stamm TA 98 ohne Zusatz des metabolisierenden Systems S9-Mix
TA 98/+S9	Salmonella typhimurium, Stamm TA 98 mit Zusatz des metabolisierenden Systems S9-Mix
TA 100/-S9	Salmonella typhimurium, Stamm TA 100 ohne Zusatz des metabolisierenden Systems S9-Mix
TA 100/+S9	Salmonella typhimurium, Stamm TA 100 mit Zusatz des metabolisierenden Systems S9-Mix
ZE	Zahnersatz

Diskussion:

ESR	Elektronenspinresonanz
GMA	Glycidymethacrylat
HEMA	2- Hydroxyethylmethacrylat
MMA	Methylmethacrylat
MRT	Magnetresonanztomographie
NMR	Nuklearmagnetische Resonanz
SLE	Systemischer Lupus erythematodes
SMF	Statisches magnetisches Feld
TEGMA	Triethylenglycoldimethacrylat
UDMA	Urethandimethacrylat

1 Einleitung

1.1 Epidemiologie der Plattenepithelkarzinome im Mund-Rachen-Bereich

Malignome der Mundhöhle und des Rachens sind ein globales gesundheitliches Problem. Innerhalb Europas und weltweit gibt es signifikante Unterschiede in Inzidenz und Prävalenz (vgl. Reichart 2001). Die Inzidenz von Plattenepithelkarzinomen der Lippe, Mundhöhle und des Pharynx (internationale Bezeichnung - oral cancer, ICD-10 C00-C14, exklusive C07-C08) liegt zwischen 1,8 (Frauen in Japan) und 47 (Männer in Malaysia) pro 100.000 per annum. Unter den malignen Tumoren sind die o.g. Karzinome weltweit an sechster und in den Entwicklungsländern bei Männern sogar an dritter Stelle zu nennen (Liao 2000, Shah & Johnson 2003). Demgegenüber sind Sarkome der oralen und maxillo-fazialen Region in weniger als 1 % der Neoplasiefälle des Kopf-Hals-Bereiches zu finden (Gorsky & Epstein 1998). Die Inzidenzrate der Karzinome je 100.000 Einwohner pro Jahr beträgt in Westeuropa für Frauen 3,2 und für Männer 16,6. Es dominieren ältere Patienten (98 % älter als 40 Jahre) und solche mit niedrigem sozialen Status (Lockhart et al. 1998; Reichart 2001). Bedingt durch kulturelle und soziale Verhaltensweisen beeinflussen Migrationsbewegungen aus Ländern mit hoher Inzidenz die Neuerkrankungsrate der Immigrationsländer (Shah & Johnson 2003).

In Deutschland beträgt die Inzidenz bei Männern 10-15 Fälle und bei Frauen ca. 4 pro 100.000 Einwohner pro Jahr. Bei sechzig Prozent der Patienten werden regionäre Lymphknotenmetastasen diagnostiziert (IARC 2002, Schwenzer & Ehrenfeld 2002).

Wenngleich Mundhöhlenkarzinome ubiquitär im Bereich der Mundschleimhaut vorkommen können, sind folgende Prädilektionsstellen bekannt: der anteriore und seitliche Mundboden, die retromolare Region, der Zungenrand sowie die Gaumenbögen. Während in Südostasien am häufigsten die bukkale Mukosa betroffen ist, sind es in den westlichen Ländern vor allem die Zunge und der Mundvorhof (Das & Nagpal 2002). Der Differenzierungsgrad ist unterschiedlich (gut differenziert, mäßig differenziert und undifferenziert), wobei 95 % gut bis mäßig differenziert sind.

In bis zu 15-20 % der Fälle werden im oberen Aerodigestivtrakt syn- oder metachrone (häufig erst nach 7-10 Jahren) Zweitkarzinome und in 28,7 % Präkanzerosen diagnostiziert (Braakhus et al. 2002, Schwenzer & Ehrenfeld 2002, Kramer et al. 2004). Die Lokalisation der Zweitkarzinome ist mehrheitlich postero-kaudal vom Primärtumor.

Die weltweit geschätzte Mortalitätsrate für das Jahr 2000 wird mit ca. 128.000 Fällen beziffert. Trotz innovativer Therapiekonzepte hat sich die 5-Jahresüberlebensrate von Patienten mit Plattenepithelkarzinomen des oberen Aerodigestivtraktes seit Jahrzehnten nur

unwesentlich verbessert (Boring et al. 1993). Die 5-Jahresüberlebensrate beträgt in den deutschsprachigen Ländern ohne Berücksichtigung der Tumorformel 52,4 % (DÖSAK, zit. nach Schwenzer & Ehrenfeld 2002).

1.2 Mehrstufenmodell der Tumorentstehung

Unter Kanzerogenese versteht man den Prozess der Tumorentstehung. Bereits 1914 hat T. Boveri konstatiert, dass Tumorzellen Veränderungen im Chromosomenbestand aufweisen. Aufgrund experimenteller Beobachtungen an Seeigeleiern postulierte er für Tumorzellen ein Fehlen „teilungshemmender Chromosomen“ und/oder ein Übergewicht „teilungsfördernder Chromosomen“ als Folge von Unregelmäßigkeiten bei der Mitose (vgl. Boveri 1914). Obwohl die molekulare Natur des genetischen Materials noch unbekannt war, postulierte K. H. Bauer 1928 die Entstehung von Tumoren durch somatische Mutationen (Bauer 1928, zit. nach Löffler & Petrides 2003). Es gilt als gesichert, dass Kanzerogene u.a. die genetische Information der Wirtszelle verändern können (McCann & Ames 1976). Zur Transformation einer normalen Zelle in eine maligne reicht eine Mutation nicht aus. Vielmehr müssen mehrere genetische Veränderungen zusammentreffen. Diese Veränderungen finden in Schlüsselgenen statt, die unter physiologischen Bedingungen für die Signaltransduktion bzw. Wachstumsregulation verantwortlich sind: Protoonkogene bzw. Antionkogene. Folge einer Protoonkogenmutation ist die Anschaltung eines Signaltransduktionsweges, auch wenn kein exogenes Wachstumssignal vorliegt (Funktionsgewinn). Antionkogene sind Tumorsuppressorgene, die eine Tumorentstehung hemmen, indem sie den Zellzyklus regulieren. Infolge einer Mutation kommt es zum Funktionsverlust (Löffler & Petrides 2003). Beerenblum schuf Anfang der 40-er Jahre die Grundlagen für das Verständnis der Tumorentstehung als Mehrstufenprozess (Beerenblum 1941, Weinberg 1996). Durch Untersuchungen an der Haut von Mäusen mit organischen Substanzen schlussfolgerte er, dass dies ein in Phasen ablaufender Vorgang ist. Es ist allgemein akzeptiert, die Tumorentstehung in Initiation, Promotion, Konversion und Progression zu untergliedern. Im normalen Zellzyklus herrscht ein Gleichgewicht zwischen Schadenssetzung und Reparatur. Wenn ein Konzentrationsanstieg exogener Noxen und eine längere Exposition einerseits und/oder Schädigung bzw. Alterung der Abwehrmechanismen (DNA-Reparatur, Zellzyklusregulation, Apoptose, Biotransformation, Immunsystem) andererseits zusammentreffen, so ist eine Entartung wahrscheinlich (Tabelle 1).

Tabelle 1: Tumorentstehung als Mehrstufenprozess

Die Akkumulation genetischer Störungen bei der Kanzerogenese wird in Phasen eingeteilt: Initiation, Promotion, Konversion, Progression (Beerenblum 1941, Califano et al. 1996, Bedi et al. 2000, Hofmann 2000, Das & Nagpal 2002, Ha & Califano 2003, Péres et al. 2005).

In vivo	1. normales Epithel 2. Hyperplasie 3. Dysplasie 4. Carcinoma in situ 5. invasives Karzinom
Mechanismus	<p style="text-align: center;">-----<i>Akkumulation genetischer und epigenetischer Störungen</i>-----> und -----<i>Alteration von Abwehrmechanismen</i>-----></p> <p>1. <u>Initiation</u> 2. <u>Promotion</u> 3. <u>Konversion</u> 4. <u>Progression</u></p> <p>ad. 1. irreversible Aktivierung von Onkogenen, Inaktivierung von Tumorsuppressorgenen (zytotoxische, mutagene Substanzen)</p> <p>ad. 2. Verlust der Apoptosefähigkeit, Immortalisation</p> <p>ad. 3. Akkumulation von Mutationen, Angiogenese, exzessive Proliferation</p> <p>ad. 4. Übergang vom benignen zum malignen Tumor, zunehmende genetische Instabilität (Subklone), Erwerb der Fähigkeit zur Gewebeinvasion</p>
In vitro	1. normale Zellen 2. immortalisierte, nicht tumorigene Zellen 3. tumorigene Zellen

Ein Charakteristikum der Kanzerogenese u.a. im OADT ist die Feldkanzerierung (Slaughter et al. 1953, Braakhuis et al. 2002). Darunter wird eine prämaligne Schädigung anatomisch zusammenhängender Schleimhautregionen als Folge der flächigen Einwirkung exogener Noxen verstanden. Dieses Phänomen äußert sich durch das Auftreten von multiplen makro- oder mikromorphologischen präkanzerösen Schleimhautläsionen und syn- bzw. metachronen Zweitkarzinomen (Day & Blot 1992, Crosher et al. 1998, Bloching et al. 2000, Kramer et al. 2004). Aufgrund molekulargenetischer Untersuchungen von Primär- und Sekundärtumoren wird geschlussfolgert, dass einige Sekundärtumoren Folgen lokaler Metastasierung – also monoklonalen Ursprungs – sind, wobei der Metastasierungsweg unbekannt ist (Mukosa, Submukosa, Speichel, Blut ?, Braakhuis et al. 2003). In anderen Fällen wird eine tatsächliche genetische Diversität festgestellt. Für die Entstehung von Zweitkarzinomen sind demzufolge drei Modelle denkbar: echte Sekundärtumoren, sekundäre Feldtumoren und Rezidive bzw. lokale Metastasen (Califano et al. 1996, Braakhuis et al. 2002 & 2003).

1.3 Risikofaktoren für Plattenepithelkarzinome im Mund-Rachen-Bereich

Zu Beginn der Diskussion der Ätiologie muss zwischen Risikofaktoren und -indikatoren unterschieden werden. Im ersten Fall handelt es sich um ein Agens, ein Merkmal oder ein Verhalten, welches mit der Erkrankung im kausalen Zusammenhang steht. Ein Indikator oder Marker (Bio- bzw. Tumormarker) ist dagegen mit der Erkrankung assoziiert und ermöglicht eine Aussage über das Vorliegen, den Verlauf und/oder die Prognose einer Krankheit. Ein Risikoindikator steht nicht zwingend mit einer Erkrankung im kausalen Zusammenhang (siehe auch 5.1, Shah & Johnson 2003). Für Plattenepithelkarzinome des oberen Aerodigestivtraktes können intrinsische und extrinsische Risikofaktoren genannt werden, die entweder direkt die orale Mukosa alterieren oder diese für chemische und/oder biologische Karzinogene empfänglicher machen (Smith 1989). Präkanzerosen stellen zwar keine Risikofaktoren im eigentlichen Sinne dar, sind aber per definitionem Krankheitsbilder, die erfahrungsgemäß mit großer oder geringer Wahrscheinlichkeit eine Umwandlung in eine bösartige Geschwulst erwarten lassen (Lautenbach 1992).

Mehrheitlich werden Mundhöhlenkarzinome als Folge des individuellen Gesundheitsverhaltens und einer Exposition gegenüber Karzinogenen gesehen (Lamey et al. 1994; Lockhart et al. 1994). Für das Auftreten von oralen Plattenepithelkarzinomen bei jüngeren Patienten gilt eine genetische Instabilität als wahrscheinliche Ursache (Llewelyn et al. 2001). Nach Iype et al. (2001) haben orale Plattenepithelkarzinome bei unter 35-jährigen im Vergleich zu älteren Patienten ein aggressiveres Wachstum und damit eine schlechtere Prognose.

Die nachstehenden Ausführungen erheben nicht den Anspruch auf Vollständigkeit. Unter den jeweiligen Risikofaktoren wird beispielhaft auf einige Mechanismen eingegangen.

1.3.1 Gesicherte Risikofaktoren

In Europa ist in ca. 80 % der Fälle der chronische Alkohol- und Tabakkonsum als wichtiger Risikofaktor für orale Plattenepithelkarzinome bekannt (La Vecchia et al. 1997).

1. Ethanol wird seit 1998 als kanzerogener Arbeitsstoff bewertet und erhöht bei einem Verbrauch von mehr als 100 g/d das Risiko für ein Karzinom des OADT auf das 21,4-fache. Erstens führt der chronische Abusus zur einseitigen Ernährung mit mangelnder Vitaminzufuhr. Außerdem kommt eine Malassimilation infolge einer Alkoholgastritis, -

pankreatitis und -hepatitis hinzu. Zweitens ist bei schwerem Alkoholabusus die Detoxifikation von Karzinogenen durch die Leber reduziert. Und drittens kommt die schädliche Wirkung von Alkohol auf die Funktion von Neutrophilen und T-Lymphozyten zum Tragen, welche an der Erkennung von Krebszellen und zytotoxischer Abwehr beteiligt sind. Daraus folgt eine allgemeine Verminderung der Tumorresistenz (Nunn 2003, Pitiphat 2003, Shah & Johnson 2003).

Die Eigenschaft von Ethanol als Lösungsmittel ermöglicht desweiteren die Penetration von Karzinogenen ins Gewebe und damit eine systemische Belastung des Organismus bzw. das direkte mutagene Einwirken auf proliferierende Zellen der Schleimhaut des OADT. Ein weiterer Effekt von Ethanol ist die Metabolisierung zu Acetaldehyd, welches mutagene und kanzerogene Eigenschaften hat (Maier et al. 1991, Homann et al. 2000 et 2001, Shah & Johnson 2003). Bereits habituellem Alkoholkonsum führt zur Selektion von Bakterien (vor allem Neisserien) mit hoher Alkoholdehydrogenase-Aktivität (ADH, Muto et al. 2000). Ethanol wirkt alleine als Kanzerogen bzw. zusammen mit Tabak in synergistischer Weise (Maier et al. 1990).

2. Von den 2.500 bis 3.050 verschiedenen Stoffen, die Tabak enthält, werden 300 als kanzerogen beurteilt (IARC, zit. nach Das & Nagpal 2002). Wasserlösliche Substanzen sind im Speichel nachzuweisen und können so längere Zeit auf die Mukosa einwirken (Homann et al. 2000). Häufig genannte Kanzerogene sind tabakspezifische Nitrosamine (TSNA), reaktive Sauerstoffspezies (ROS, die als Oxidantien in der Lage sind, Proteine, Membranlipide und DNA zu schädigen), polyzyklische aromatische Kohlenwasserstoffe, das α -Teilchen emitierende Isotop ^{210}Po , Spurenelemente, Kohlenmonoxid, Phenole, Hydrogencyanid, Acet- und Formaldehyd (Brunnemann et al. 1996, Nair et al. 1996, Moreno-Lopez et al. 2000, Shah & Johnson 2003).

Zusätzlich zu den im Tabak bereits vorhandenen TSNA lässt sich bei Rauchern eine endogene Nitrosaminbildung aus Alkaloiden und Aminen wie Pyrrolidin (in beiden Fällen durch bakterielle Enzyme katalysiert) sowie aus Stickstoffmonoxid (bei entzündlichen Prozessen) nachweisen (Brunnemann et al. 1996, Nair et al. 1996). Außerdem verändert das Rauchen fundamental die orale Mikroflora, wodurch im Falle eines zusätzlichen Alkoholkonsums die Acetaldehydproduktion gesteigert wird (Homann et al. 2000).

Bei schwerem Tabakabusus (kummulative Tabakexposition mehr als 60 PJ) steigt das relative Risiko, an einem Karzinom des oberen Aerodigestivtraktes zu erkranken, auf das 23,4-fache (Maier et al. 1990).

3. Im Bereich der oralen Schleimhaut werden prä-maligne Läsionen und prä-maligne Konditionen unterschieden (Reichart 2001 & 2003, Shah & Johnson 2003). Erstere liegen bei morphologisch verändertem Gewebe vor, in dem das Auftreten von Krebs wahrscheinlicher ist als im entsprechend gesunden Gewebe (Leukoplakie, Erythroplakie, persistierende Ulzera, orale lichenoidale Läsionen (OLL)). Generalisierte Zustände wie atrophische, erosive und ulzerative Läsionen des oralen Lichen planus (OLP), orale submuköse Fibrose (OSMF), sideropenische Dysphagie (s.u.), diskoider Lupus erythematoses (DLE), Xeroderma pigmentosum, Epidermolysis bullosa sowie tertiäre Syphilis stellen eine prä-maligne Kondition mit einem erheblich erhöhten Risiko für einen Tumor dar (Guggenheimer & Hoffmann 1994, van der Meij et al. 2003, Fatahzadeh et al. 2004).¹

Die Prävalenz und das Entartungsrisiko dieser Krankheitsbilder sind sehr unterschiedlich. Während in einigen Fällen eine spontane Remission eintreten kann (z. B. bei OLP, van der Meij et al. 2003) bzw. nach Abstellen der Noxe eine Remission möglich ist (amalgamassoziierten OLL, Leukoplakie, Martin et al. 1999, Magnin et al. 2003), kommt es in anderen Fällen relativ häufig zu einer malignen Transformation (OSMF, Erythroplakie, Krogh et al. 1987, Mao et al. 1996, Reichart 2000).

Ein erhöhtes Risiko, eine prä-maligne Läsion zu entwickeln, haben überwiegend Personen mit niedrigem sozioökonomischem Status, Einkommen und Bildungsstand, eine Adjustierung nach Alter, Geschlecht, Rauch- und Trinkgewohnheiten vorweggenommen (Hashibe et al. 2003).

4. Die deskriptive Epidemiologie zeigt, dass das Alter bei der Karzinomentstehung als zeitlicher Faktor (Expositions-dauer der o.g. Noxen) eine wesentliche Rolle spielt, auch wenn kein spezifisches Risiko besteht (Reichart 2001). Bei älteren Patienten sind Veränderungen der oralen Mukosa häufig beobachtete Befunde. Infolge geringerer Regenerationsfähigkeit und Dicke ist die Schleimhaut für Noxen permeabler und gegenüber Karzinogenen vulnerabler. Ebenso sind prothesen-assoziierte Mundschleimhautveränderungen vor allem ein Problem älterer Patienten (Jainkittivong et al. 2002). Cruz und Mitarbeiter (1996) fanden eine altersabhängige Präsenz von HPV bei Tumorpatienten.

¹ Die aktinische Keratose (Elastose) ist eine Präkanzerose der Unterlippe (Reichart 2001). Beliën et al. (1995) zählen auch frühere Malignome des oberen Aerodigestivtraktes zu einer präkanzerösen Kondition.

1.3.2 Wahrscheinliche Risikofaktoren

Neben den genannten Hauptrisikofaktoren werden alimentäre und berufliche Ursachen sowie eine genetische Prädisposition und Virusinfektionen als weitere Risikofaktoren für eine Karzinogenese im Bereich des oberen Aerodigestivtraktes diskutiert.

1. Es ist bekannt, dass Eisenmangel sich auf die Integrität und Funktion der (Mund)Schleimhaut auswirkt. Die Vulnerabilität gegenüber Karzinogenen ist ein wichtiger Aspekt im Kontext der Kanzerogenese (Smith 1989; Lockhart et al. 1998). Die sideropenische Dysphagie (synonym Patterson-Kelly- oder Plummer-Vinson-Syndrom), ein auf komplexen Mangelzuständen basierendes Syndrom, gilt als Präkanzerose. Allerdings wurden in den letzten 20 Jahren dazu keine Berichte publiziert (Reichart 2003).

2. Epidemiologische Studien haben gezeigt, dass Früchte und Gemüse aufgrund ihres hohen Gehaltes an Antioxidantien (Vitamin A, C, E) u.a. eine tumor-protective Wirkung haben, was Barth et al. (1997) als Chemoprävention bezeichnet. Ein übermäßiger Konsum an Fleisch (gepökelt, gesalzen) und Chili-Gewürz stellen dagegen Risikofaktoren dar. Zum Schutz vor reaktiven Sauerstoffspezies (ROS) dienen neben Antioxidantien auch Enzyme wie Peroxiddismutase, Peroxidase sowie Katalase, für deren Funktion die ausreichende Zufuhr (RDA) von Eisen, Zink, Kupfer, Mangan und Selen wichtig ist. Ein erhöhter Konsum von diätetischem Nitrat und Nitrit stellt einen weiteren Aspekt dar. Infolge eines Anstieges der Nitratreduktase-Aktivität im Speichel resultiert eine Zunahme der endogenen Nitrosaminbildung (Badawi et al. 1998). Moynihan (2000) nennt als weiteren Risikofaktor durch Pilze kontaminierten Mais. Speziell in Südamerika kommen ferner zwei Getränke in Frage, die zu einer thermischen Schädigung der Mukosa führen: maté, ein teeartiges Getränk aus *Ilex paraguarensis*, und chimarrão (Smith 1989).

Petridou et al. (2002) haben basierend auf einer Fall-Kontroll-Studie geschlussfolgert, dass Früchte, Olivenöl, Cerealien, Riboflavin, Eisen und Magnesium im Gegensatz zu Fleisch und Fleischprodukten einen protektiven Effekt haben.

Im Allgemeinen führen Eisen-, Folsäure- und Cobalamin-Mangelzustände zur Atrophie der (oralen) Mukosa mit der Folge einer reduzierten Schutzfunktion gegenüber Karzinogenen (Johnson 1991). Molekularbiologische Untersuchungen stützen Befunde der epidemiologischen Studien (Schwartz et al. 1993).

3. Obwohl ein Großteil der deutschen Bevölkerung Tabak konsumiert, entwickelt nur ein geringer Prozentsatz ein Malignom. Umgekehrt sind nicht alle Patienten Raucher. Diese Beobachtung impliziert, dass die individuellen Unterschiede in der metabolischen Aktivität von Enzymen des Cytochrom-P450-Systems und der Glutathion-S-Transferase liegen (vgl. Das & Nagpal 2002). Es handelt sich um Enzyme, die u.a. Xenobiotika metabolisieren (Biotransformation). Bei exogener Belastung mit Kanzerogenen und reduzierter o.g. enzymatischer Aktivität resultiert ein relativer Konzentrationsanstieg von toxischen Substanzen und letztlich eine längere Einwirkung auf den Organismus. Es bestehen weiterhin genetisch determinierte Unterschiede in der Kapazität der DNA-Reparatur und des p53-Antionkogens (Matthias et al. 2003, Shah & Johnson 2003). Nach Harty et al. (1997) haben Patienten mit einer hohen Alkoholdehydrogenase-Aktivität (ADH-3) ein höheres Mundhöhlenkrebsrisiko. Der Grund ist offensichtlich eine zügige Metabolisierung von Ethanol zu Acetaldehyd.

Während nach Hara et al. (1988) unklar bleibt, welche ätiologischen Faktoren für das familiäre Auftreten von Karzinomen der Mundhöhle verantwortlich sind, geben Ankahtil und Mitarbeiter (1996) als Kofaktor der Kanzerogenese die genomische Instabilität an (hohe Spontanmutationsrate bzw. Mutagensensitivität). Dieser Aspekt ist insbesondere im Falle einer Erkrankung jüngerer Patienten von Bedeutung (Llewelyn et al. 2001, Löffler & Petrides 2003).

4. Die zytotoxische Reaktion, als Teil der spezifischen zellulären Immunabwehr unter Beteiligung der T-Lymphozyten, ist nicht nur gegen Krankheitserreger gerichtet, sondern auch an der Elimination von fehlgesteuerten Tumorzellen beteiligt. Bei Versagen dieses Mechanismus infolge medikamentöser Immunsuppression oder bei Immundefizienz (z.B. HIV-Infektion) besteht ein Entartungsrisiko (Abdelsayed et al. 2002, Van der Meij et al. 2003, Shah & Johnson 2003).

Die schädliche Wirkung von Alkohol auf die Funktion von Neutrophilen und T-Lymphozyten ist in einem anderen Kontext erklärt (vgl. Nunn 2003, Pitiphat 2003). Ein kritisches immunologisches Moment im Hinblick auf das Entartungsrisiko stellt auch die Glukokortikoidtherapie des oralen Lichen planus bzw. der oralen Lichenoiden Läsion dar (Van der Meij et al. 2003).

Das Immunsystem als intrinsischer Faktor hat demzufolge eine bedeutende Kontrollfunktion im Sinne der Tumorabwehr.

5. Eine exogene Belastung einzelner Personen oder bestimmter Bevölkerungsgruppen mit kanzerogenen Schadstoffen kann Folge einer Exposition am Arbeitsplatz sein. Die atmosphärische und Trinkwasserverschmutzung (z.B. Schwellenländer, Basu et al. 2004) durch industrielle Emissionen oder im Extremfall durch Industrieunfälle (Chemie-, Kernkraftwerke) sind ein ökologisches Problem mit kanzerogener Relevanz für eine größere Population. Die Verbrennung von fossilen Energieträgern führt zur Freisetzung von Kohlenstoff-, Schwefel- und Stickstoffoxiden. Durch industrielle Emissionen werden polyzyklische aromatische Kohlenwasserstoffe, Cadmium, Nitrosamine, flüchtige organische Lösungsmittel etc. freigesetzt. Dieser Faktor könnte zum Teil für die epidemiologischen Unterschiede von Tumorerkrankungen zwischen Stadt- und Landbevölkerung verantwortlich sein (Maier et al. 1991, Shah & Johnson 2003).

6. Bei der Ätiologie der Plattenepithelkarzinome des oberen Aerodigestivtraktes spielen auch humane Papillomaviren eine Rolle. Von den mehr als 70 Typen der epitheliotopen humanen Papillomaviren sind HPV 6 und 11 als sogenannte „low risk“ sowie HPV 16, 18 und 33 als „high risk“ Typen klassifiziert. Cruz et al. (1996) beobachteten, dass im Tumorgewebe von 54,3 % der untersuchten Karzinompatienten altersabhängig HPV-DNA (78,9 % vom Typ 16) nachzuweisen war. Dagegen ließen sich in keiner biopsierten gesunden Mundschleimhaut humane Papillomaviren finden. Eine signifikante Korrelation zwischen den Inzidenzen von Mundhöhlen- und Zervixkarzinomen bzw. Peniskarzinomen fanden andere Autoren (Munoz et al. 1990; Franceschi et al. 1996) und weisen auf die Rolle der sexuellen Gewohnheiten hin. HPV kodieren für ein Onkoprotein (E6), welches mit dem Tumorsuppressorprotein p53 interagiert und in der Lage ist, dieses zu degradieren (Riethdorf et al. 1998). Papillomaviren können lange latent bleiben bevor eine histologische oder klinische Manifestation eintritt (Shah & Johnson 2003). Darüber hinaus wird bei 50 % der Plattenepithelkarzinome der o.g. Lokalisation die Anwesenheit von EBV bestätigt.

7. Bei oralen Ulzera und Leukoplakien, die durch *Candida* superinfiziert sind, besteht ein erhöhtes Risiko für eine maligne Transformation (Krogh 1990, Johnson 1991). *Candida*-Pilze sind aufgrund ihres katalytischen Potenzials zur Nitrosierung an der Bildung endogener Nitrosamine beteiligt. Zwischen diesem enzymatischen Potenzial verschiedener *Candida*-Stämme und dem histologischen Befund präkanzeröser Läsionen ließ sich eine Assoziation ermitteln (Krough et al. 1987, Krogh 1990).

Fall-Kontroll-Studien belegten, dass Syphilis-Patienten (Tertiärstadium) in der Vergangenheit ein höheres Risiko hatten, an einem Plattenepithelkarzinom der Mundhöhle zu erkranken. Unklar ist allerdings, ob die Ursache in der Infektion an sich lag (ulzerierende, sklerosierende, gummöse Glossitis bzw. zirkulatorische Defizienz aufgrund der Endarteriitis) oder Folge der Behandlung in der präantibiotischen Ära war (Schwermetallsalze und Arsen; Smith 1989, Reichart 2003).

1.3.3 Mögliche Risikofaktoren

Die Bedeutung oraler Einflüsse – der individuellen Mundhygiene und des dentalen Status mit starker Bakterienbesiedlung und chronischen Entzündungen – als mögliche ätiologische Kofaktoren der Kanzerogenese im OADT wird zum Teil widersprüchlich diskutiert (Smith 1989). Während einige Autoren im schlechten dentalen Status bei Tumorpatienten ein Epiphänomen des mangelnden Gesundheitsbewusstseins und einer Selbstvernachlässigung sehen, finden andere, dass ein schlechter dentaler Status ein unabhängiger, wenn auch schwacher Risikofaktor für die Entstehung von Plattenepithelkarzinomen der Mundhöhle ist. Eine Untersuchung von Lockhart (1994) dokumentiert die mangelhafte Compliance von Tumorpatienten, von welchen 97 % vor der Tumoroperation einer zahnärztlichen Behandlung bedurften. Die Mehrheit (81 %) hat sich dieser jedoch nicht unterzogen. Eine Vernachlässigung der Mundgesundheit bei Karzinompatienten wird auch von anderen Autoren bestätigt (Maier et al. 1991, Talamini et al. 2000; Kruk-Zagajewska et al. 2001). Balaram et al. (2002) fanden dagegen in Indien, dass bei weiblichen Tumorpatienten in 95 % der Fälle Kautabak und eine schlechte Mundhygiene bzw. in 76 % bei Männern Rauchen, Trinken und eine schlechte Mundhygiene als Risikofaktoren ermittelt wurden.

1. Eine ausgeprägte bakterielle Besiedlung der Mundhöhle von Patienten mit schlechter Mundhygiene führt zur vermehrten Bildung von bakteriellen Metaboliten mit karzinogenem Potential. Auch wird durch Vorhandensein einer Prothese (insbesondere einer Totalprothese) die Clearance-Funktion des Speichels eingeschränkt (Hase & Birkhed 1991). Bei Rauchern führt eine mangelhafte Mundhygiene zur lokalen Persistenz von Tabakbestandteilen oder von anderen biologischen Kanzerogenen, die anderenfalls entfernt würden (Velly et al. 1998). Andererseits akzentuierten Milillo et al. (2005), dass eine schlechte Mundhygiene ein Risikofaktoren für die orale Candidiasis darstellt, deren metabolische Leistung zur endogenen Nitrosierung beiträgt.

2. Im Ergebnis einer aktuellen tierexperimentellen Studie wird geschlussfolgert, dass dem chronisch-traumatischen Ulkus in der Mundhöhle, welches durch scharfe Zahnkanten, abstehende Prothesenklammern oder schlecht passende Prothesen entstehen kann, die Bedeutung eines Promoters in Gegenwart von Initiatoren wie Alkohol und Tabak zukommt (Péres et al. 2005).

Das durch entzündliche Stimuli (z.B. mikrobielle Plaque, exogene Noxen) induzierbare Enzym Cyclooxygenase-2 (COX-2) spielt möglicherweise bei der Karzinogenese im OADT eine bedeutende Rolle. Mohan und Epstein (2003) weisen in diesem Kontext auf die Mitbeteiligung des Enzyms bei folgenden Prozessen hin (vgl. dazu Mehrstufenprozess der Tumorentstehung in Tab.1): Aktivierung tabakspezifischer Prokarzinogene (Peroxidase-Aktivität), Hemmung der Apoptose (Bcl-2, p53), Immunsuppression (IL10), Angiogenese (VEGF) und Invasion (CD44, MMP). Jeng et al. (2003) unterstreichen im Kontext der Kanzerogenese die Rolle der Entzündungsreaktion von Keratinozyten, die exogenen Noxen ausgesetzt wurden.

3. Die Speichelfließrate wird durch Alkohol- und Zigarettenabusus reduziert. In der Konsequenz resultiert eine quantitative (Zunahme der bakteriellen Besiedlung) und qualitative (Konzentrationsanstieg insbesondere von Neisserien- und Candida-Spezies) Veränderung der Mundflora (Muto et al. 2000, Homann et al. 2001). Die endogene Nitrosierung (Bildung von Nitrosaminen durch mikrobielle Enzyme) ist unter diesen Umständen signifikant höher (Nair et al. 1996). Auch die erhöhte Bildung von Stickstoffmonoxid (NO), die mit entzündlichen Prozessen einhergeht, hat eine Steigerung endogener Nitrosaminbildung zur Folge (Ohshima & Bartsch 1994).

Experimentelle (Muto et al. 2000) und klinische (Homann et al. 2000 & 2001) Untersuchungen liefern zudem die Evidenz, dass der oralen Mikroflora bei der Acetaldehydsynthese aus Alkohol eine wichtige Bedeutung zukommt (α -hämolyisierende Streptokokken, Corynebakterien, nicht-pathogene Neisserien und *Candida albicans*; Tillonen et al. 1999; Homann et al. 2000; Muto et al. 2000). Durch Verteilung und Evaporisation kann Acetaldehyd aus dem Speichel alle Gewebe des OADT erreichen: Pharynx, Larynx, Ösophagus und den Magen (Homann et al. 2000). Dagegen ist eine signifikante Reduktion der Acetaldehydbildung bereits nach einer dreitägigen Mundspülung mit antiseptischer Lösung zu erzielen (zit. nach Shah & Johnson 2003).

1.4 Allgemeiner und dentaler Gesundheitszustand

Das Gesundheitsverhalten sollte, wenn auch unterschiedlich gewichtet, als Einheit gesehen werden. Nach Ylöstalo et al. (2003) und Mack et al. (2004) können psychosoziale Faktoren als gemeinsame Determinanten für dentales und allgemeines Gesundheitsverhalten gesehen werden. Zahlreiche Studien demonstrieren auch eine signifikante ätiopathogenetische Wechselbeziehung von oralen und allgemeinmedizinischen Erkrankungen. Einerseits wirken sich systemische Erkrankungen und deren Behandlung auf die orale Gesundheit aus², und andererseits haben pathologische Prozesse des stomatognathen Systems Einfluss auf die somatische Gesundheit³ sowie auf die psychosoziale Lebensqualität⁴. Longitudinalstudien demonstrieren darüber hinaus eine Korrelation zwischen dem kariologischen, dem parodontalen und dem zahnprothetischen Status (Albandar et al. 1995, Yeung et al. 2000, Rocha et al. 2003).

Die Beobachtung dieser Zusammenhänge legt die Schlussfolgerung nahe, dass der individuelle Gesundheitszustand zusätzlich zu komplexen pathogenetischen Aspekten von psychosozialen Ressourcen abhängt: vom Optimismus und der Lebenszufriedenheit, dem Interesse an eigener Gesundheit, der Bereitschaft zur Verhaltensänderung sowie der Fähigkeit, Instruktionen zu befolgen (Ylöstalo et al. 2003).

² Bei immunsupprimierten Patienten treten orale bakterielle (pathologische Überwucherung der Standortflora) und virale Infektionen (HSV, CMV, EBV) sowie Mykosen auf (Folwaczny et al. 2002). Andererseits zeigen 8,7% der Patienten einer zahnärztlichen Praxis somatisierungsspezifisches Verhalten (De Jough 2003).

³ Parodontopathien werden als modulierender oder Risikofaktor für Herz-Kreislauf-Erkrankungen sowie für chronisch rezidivierende Bronchitiden und rheumatoide Arthritiden gesehen. Kritisch diskutiert werden der Insulinbedarf bei Diabetes-Patienten und eine vorzeitige Wehentätigkeit im letzten Schwangerschaftstrimenon (Drangsholt 1998, Klinger et al. 2002, Seymour et al. 2003). Candida aus der Mundhöhle kann in den Gastrointestinaltrakt gestreut werden (Szigoleit et al. 2002).

⁴ Die hochemotionale Bedeutung des Kauorgans äußert sich u. a. in der dezidierten Erwartung an eine zahnprothetische Therapie. Schmerzen und ästhetische Einbußen im stomatognathen Bereich können zum sozialen Rückzug führen und berufliche Chancen beeinträchtigen (Imfeld et al. 1995, Micheelis & Reich 1999).

1.5 Sozioökonomische Faktoren und dentaler Status

Dass der Gesundheitszustand in Zusammenhang mit sozioökonomischen Faktoren steht, ist eine mehrfach berichtete und seit langem bekannte epidemiologische Feststellung (Fischer et al. 1998, Greenwood et al. 2003, Hashibe et al. 2003, Hobdel et al. 2003). Die Faktoren Alter, Geschlecht, Einkommen, Bildung und Beschäftigung werden unterschiedlich gewichtet. Ungeachtet des solidarischen Versicherungsprinzips bestehen in den Bereichen Inanspruchnahme von medizinischen Leistungen und Vorsorgeverhalten (z.B. Impfungen) deutliche Unterschiede zwischen den sozialen Schichten (Röckl-Wiedmann 2002). Aus den Ergebnissen der Dritten Deutschen Mundgesundheitsstudie (DMS III) wird geschlussfolgert, dass Personen mit einem niedrigen Bildungsstatus und einem geringen Einkommen ein stärkeres beschwerdeorientiertes Inanspruchnahmeverhalten zeigen, zu gesundheitsriskantem Verhalten neigen und in stärkerem Ausmaß unter Munderkrankungen wie Karies und Parodontopathien leiden (Micheelis & Reich 1999). Nach Hobdell et al. (2003) ist die Prävalenz von Parodontalerkrankungen, Karies und Karzinomen der Mundhöhle unter Personen eines niedrigen sozioökonomischen Status' höher. Fischer et al. (1998) nennen ein niedriges Einkommen und niedrige Bildung als Risikofaktoren für Zahnverlust. Konsekutiv ist die Notwendigkeit einer prothetischen Rehabilitation höher.

Laut einer Untersuchung von Maier et al. (1991) sind die schlechte Mundhygiene und der sanierungsbedürftige dentale Status bei Tumorpatienten auf eine soziale Verwahrlosung, Vernachlässigung der Körperhygiene und Gesundheitsfürsorge sowie erheblichen Alkoholabusus und Tabakkonsum zurückzuführen. Die Ergebnisse einer prospektiven Studie von Greenwood und Mitarbeitern (2003) beweisen auch, dass bei der Tumorgenese materielle Deprivation und Langzeitarbeitslosigkeit eine Rolle spielen. Langzeitarbeitslosigkeit fördert das Risikoverhalten, und umgekehrt lassen sich Personen mit einem schlechten Gesundheitszustand schwieriger auf dem Arbeitsmarkt vermitteln. Die Untersuchung zeigt, dass die überwiegende Mehrzahl der Tumorpatienten aus der Arbeiterschicht kommt.

Daraus lässt sich ableiten, dass für die Ungleichheit im Gesundheitszustand sowohl innerhalb eines Landes als auch international ursächlich gleiche Faktoren in Frage kommen wie Ernährungsgewohnheiten, Alkohol- und Tabakkonsum, körperliche Fitness, Zugang zu Versorgungseinrichtungen, Schichtzugehörigkeit bzw. psychosozialer Stress sowie die Struktur des öffentlichen Gesundheitswesens (public health service).

2 Zielstellung

Bei der vorliegenden Studie handelt es sich um eine klinische Anwendung des Ames- und Mikrokerntests mit der Zielstellung, eine mögliche Assoziation zwischen dem dentalen Status und zwei ausgewählten Biomarkern zum Nachweis von Gentoxizität zu untersuchen.

Dabei soll erstens geprüft werden, inwiefern anamnestische Angaben einschließlich Genussmittel- und Mundhygieneanamnese, der kariologische und parodontale sowie der prothetische Befund der Studienteilnehmer einen Einfluss auf die Speichelqualität unter dem Aspekt eines gentoxischen Potenzials haben.

Zweitens ist zu ermitteln, ob zwischen den o.g. Einflussgrößen und der Mikrokernfrequenz der Wangenschleimhaut als Marker für einen zytogenetischen Schaden ein Zusammenhang besteht.

Die Vordergrundfragen lauten: Lässt sich bei Vorliegen eines schlechten dentalen Status mit Hilfe des Ames-Tests ein gentoxisches Potenzial im Speichel nachweisen? Sind gentoxische Schäden im Bereich der Mundschleimhaut – wie sie mittels Mikrokern-Test zu finden sind – mit einem sanierungsbedürftigen Zahnstatus assoziiert?

Während Tumormarker eine Individualisierung der Therapie bei Karzinompatienten zum Ziel haben, könnten Biomarker in Zukunft helfen, individuelle Risikoprofile bezüglich der Kanzerogenese im OADT zu erstellen.

Die ausgewählten Untersuchungsmethoden sind im Kontext der aktuellen Bemühungen der (Zahn)Medizin zur Früherkennung von Karzinomen des oberen Aerodigestivtraktes zu diskutieren. Durch den regelmäßigen Patientenkontakt und eine systematische Untersuchung der Mundhöhle ist der Zahnarzt in der Lage, in Tumor-Screeninguntersuchungen im Bereich des OADT einbezogen zu werden. Ein opportunistisches Screeningkonzept stellt in diesem Kontext eine praktikable Lösung dar, da Patienten, die eine Zahnarztpraxis aufsuchen, für die Gesamtbevölkerung repräsentativ sind.

Zu erörtern sind deshalb Vor- und Nachteile der eingesetzten Biomarker, Barrieren für präventive Bemühungen und mögliche weiterführende Untersuchungen.

3 Material und Methodik

3.1 Materialien

Für die Gewinnung des Schleimhautabstriches und der Speichelprobe sowie für die Erhebung der dentalen Befunde sind folgende Materialien verwendet worden:

- mikroskopische Objektträger aus Glas, Elka, Sondheim, Deutschland,
- Cytobrush[®] Plus GT, Medscand Medical, Schweden,
- verschließbare Plastikröhrchen 15 ml, Greiner, Nürtingen, Deutschland,
- CarioCheck[®] plus, Hain Diagnostika, Nehren, Deutschland,
- Plaquerelevator Mira-2-Ton[®], Hager & Werken, Duisburg, Deutschland,
- zahnärztliches Grundinstrumentarium und Parodontalsonden.

3.2 Probandenrekrutierung

In die prospektive klinische Beobachtungsstudie wurden 100 Probanden im Alter zwischen 30 und 60 Jahren eingeschlossen, die im Zentrum für Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg routinemäßig den Zahnarzt konsultierten bzw. sich in parodontologischer, konservierender, prothetischer oder zahnärztlich-chirurgischer (präoperativ) Behandlung befanden. Es wurden 3 Altersgruppen gebildet: 30 bis 40 Jahre, 41 bis 50 Jahre und 51 bis 60 Jahre. Die Rekrutierung des Probandenkollektivs erfolgte konsekutiv (Patientenanmeldung). Dabei wurden folgende Ausschlusskriterien berücksichtigt:

- zahnlose Patienten,
- Probanden, die an einem Malignom des oberen Aerodigestivtraktes erkrankten,
- im Kopf-Hals-Bereich bestrahlte Patienten,
- Probanden, bei denen anamnestisch eine Immunsuppressions- und/oder Chemotherapie bekannt war,
- multimorbide Patienten, die den ASA-Risikogruppen höher II zugeordnet werden konnten (Van Aken & Rolf 1997),
- Probanden mit Endokarditisrisiko,
- Probanden mit erhöhtem Blutungsrisiko (z.B. bei Antikoagulantientherapie),
- Patienten mit Infektionskrankheiten (z.B. HIV, HBV, HCV, Tbc),
- laufende antibiotische Therapie,
- Verwendung antiseptischer Mundspüllösungen (z.B. Listerine, Chlorhexamed, Hexoral).

Die Forderungen der Deklaration von Helsinki wurden erfüllt (Deklaration des Weltärztebundes 2000).

3.3 Fragebogen

Zur Aufnahme probandenspezifischer Daten wurde in Anlehnung an Carrano und Natarajan ein Fragebogen erstellt (Carrano & Natarajan 1987). Dieser beinhaltete 26 Angaben zur Sozialanamnese, zur Röntgenstrahlen- und Schadstoffexposition, sowie zu Alkohol- und Tabakkonsum. Ferner wurden Angaben zur Allgemeinanamnese, Dauermedikation, zur Fluoridanamnese, zu Mundhygiene- und Ernährungsgewohnheiten sowie zur Häufigkeit der Zahnartztkonsultation erfasst. Bei der Familienanamnese interessierte den Untersucher das Auftreten von Erbkrankheiten und -fehlern sowie Frühgeburten und Geburtsfehlern in der eigenen Familie oder bei Verwandten ersten Grades.

Unter folgenden Umständen wurde die Mundhygiene als gut bezeichnet: Zahnpflege mindestens zweimal täglich, jeweils mindestens zwei Minuten. Anderenfalls galt sie als schlecht (Micheelis & Reich 1999).

Der Berechnung des Alkoholkonsums in Gramm pro Tag dienten folgende Werte: 1 Bier (0,5 l) entspricht 25 g, 1 Glas Wein (250 ml) entspricht 20 g, 4 cl Spirituose entspricht 16 g Alkohol (Stephan 1999).

Die kumulative Tabakexposition wurde als Konsum in Packungsjahren (PJ) ermittelt. Die Berechnung erfolgte nach der folgenden Formel: $PJ = \text{täglich gerauchte Zigarettenpackungen (20 Zigaretten)} \times \text{Anzahl konsumierter Jahre}$ (Hofmann 2000). Eine Zigarre entsprach dabei 4 Zigaretten (Moreno-López et al. 2000). Aus toxikologischer Sicht wurden ehemalige Raucher, die seit über 5 Jahren keine Zigaretten konsumiert hatten, als Nichtraucher gewertet (Grummt 2004, persönliche Angabe). Bei der Analyse der exogenen Noxen waren die Schadstoffexposition am Arbeitsplatz (Asbest, Kunststoffe, organische Lösungsmittel, Pestizide, radioaktive Strahlung, Schwermetalle), der Alkohol- und Tabakkonsum sowie die röntgendiagnostische Strahlenexposition im Kopf-Hals-Bereich einschließlich zahnärztlicher Röntgenaufnahmen (bezogen auf den Monat vor der Studie) berücksichtigt worden.

3.4 Gewinnung von Untersuchungsmaterial

Jeder Studienteilnehmer sammelte zwischen zwei Hauptmahlzeiten (9 bis 12 Uhr oder 13 bis 17 Uhr) 2 ml nicht stimulierten Speichel im Standzylinder (je 1 ml der Probe für den

CarioCheck[®]- bzw. den Ames-Test). Im ersten Fall wurde die Probe nach Herstellerangaben auf das Nährmedium aufgetragen, bei 37 °C für 48 h im Brutkasten inkubiert und anschließend ausgewertet. Die Untersuchung diente der semiquantitativen Ermittlung der Konzentration von Streptococcus mutans und Lactobacillus acidophilus im Speichel (vgl. CarioCheck-Test[®]). Der für den Ames-Test gewonnene Speichel wurde bis zur biologischen Testung bei -20 °C gelagert (Bloching et al. 2001; siehe Ablauf des Ames-Tests). Eine Stunde vor Probengewinnung sollte der Studienteilnehmer weder essen, trinken noch rauchen oder Alkohol konsumieren. Mundhygienemaßnahmen sollten wie gewöhnlich durchgeführt werden, zuletzt jedoch mindestens eine Stunde vor der Studienteilnahme erfolgt sein.

Nach einmaligem Spülen der Mundhöhle mit Leitungswasser folgte der Schleimhautabstrich vom linken Planum buccale mittels Cytobrush[®] Plus GT durch einmaliges Drehen der Bürste um die Längsachse (vgl. Ablauf des Mikrokerntests). Frühere Untersuchungen zeigten, dass zwischen der Mikrokernelrate der Wangenschleimhaut rechts und links keine signifikanten Unterschiede bestehen (Beliën et al. 1995; Bloching et al. 2000).

Es folgte die ausführliche Erhebung des dentalen Status in Anlehnung an die Befundbögen der Universitätsklinik und Poliklinik für Zahnerhaltung und Parodontologie der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg:

- Mundhygieneindizes: modifizierter Approximalplaque-Index (API) nach Lange et al. (1977), modifizierter Papillen-Blutungs-Index (PBI) nach Saxer und Mühlemann (1975, beide zit. nach Hellwig et al. 1995),
- kariologischer (DMF/T-Index, Art der Füllungsmaterialien),
- klassischer klinischer Parodontalbefund („Parodontaler Screening Index“ PSI, Bengel 2002),
- individuelle Kariesaktivität und prothetischer Status.

In die Bestimmung der individuellen Kariesaktivität flossen folgende dentale Parameter ein: DMF/T-Index, Plaque- und Papillenblutungsindex, Ernährungsgewohnheiten, Vorhandensein aktiver initialer Karies, Einschätzung der Compliance (Inanspruchnahmeverhalten), semiquantitative Bestimmung kariogener Keime (vgl. Tab. 2).

Anhand des DMF/T-Indizes wurden die Studienteilnehmer in drei Gruppen eingeteilt: „DMF/T-Wert überdurchschnittlich hoch“, „DMF/T-Wert im Durchschnitt“ und „DMF/T-Wert unterdurchschnittlich niedrig“. Für die Einteilung wurden die altersabhängigen Durchschnittswerte in Deutschland herangezogen.

Während der Plaque- und Papillenblutungsindex, die Mundhygiene- und Ernährungsgewohnheiten sowie Inanspruchnahme zahnärztlicher Leistungen das aktuelle

Mundgesundheitsverhalten des Probanden reflektieren, stellt der den WHO-Statistiken zugrunde liegende DMF/T-Index das frühere Verhalten dar. Bei diesem Index werden die während der einzelnen Lebensabschnitte entstandenen Schäden aufsummiert (Anzahl kariöser Zähne – D/T-Index, Anzahl fehlender Zähne – M/T-Index und Anzahl gefüllter Zähne – F/T-Index). Bei der Erfassung des kariologischen Befundes erfolgte zusätzlich die Dokumentation der Füllungsmaterialien: direkte Restaurationen – Amalgam, Komposit, Glasionomerzement, indirekte Restaurationen – metallische Restauration, Metallkeramik und Keramik.

Tabelle 2: Bestimmung der individuellen Kariesaktivität pro Proband

In die Bestimmung der individuellen Kariesaktivität fließen acht Parameter ein. Die Kodierung ist in der linken Spalte dargestellt (* Hauszahnarzt).

Umrechnung der Bewertung:	Faktoren	Bewertung
- niedrig = 1	-----	-----
- mittel = 2		
- hoch = 3		
DMF/T-Rate:	DMF/T-Index	=
- niedrig = besser als der Durchschnitt	Aktive initiale Karies	=
- mittel = im Durchschnitt	API	=
- hoch = schlechter als der Durchschnitt	PBI	=
<i>Durchschnittlicher DMF/T-Index nach Altersgruppen in BRD 1989:</i>	Ernährung	=
15 – 34 J.: ca. 11,6	Compliance	=
35 – 44 J.: 16,7	LB	=
45 – 54 J.: 18,4	SM	=
aktive initiale Karies:	Quotient aus Summe/ Anzahl der Faktoren	=
- niedrig = keine klinische Anzeichen	-----	-----
- mittel = Verdachtsmomente		
- hoch = deutliche Zeichen	Kariesaktivität	=
API und PBI		
- niedrig = gut (<20 %)		
- mittel = mittel (20-50 %)		
- hoch = schlecht (>50 %)		
Süße Zwischenmahlzeiten:		
- niedrig = <2		
- mittel = 2-4		
- hoch = >4		
Compliance:		
- niedrig = Konsultation des HZA* mind. einmal im Jahr		
- mittel = Konsultation des HZA ca. alle 2 Jahre einmal		
- hoch = Konsultation des HZA nur bei Beschwerden		
LB:		
- niedrig = Klasse 1		
- mittel = Klasse 2		
- hoch = Klasse 3		
SM:		
- niedrig = Klasse 0		
- mittel = Klasse 1		
- hoch = Klasse 2 bis 3		

3.5 Ames-Test (Salmonella/Mikrosomen-Test)

3.5.1 Grundlagen

Für die Untersuchung des Speichels auf genotoxische Aktivität wurde der Salmonella/Mikrosomen-Test (Ames-Test) herangezogen, welcher auf den amerikanischen Biochemiker Bruce Nathan Ames zurückgeht (McCann & Ames 1975). Es kommen histidindefiziente Mutantenstämme *Salmonella typhimurium* TA 98 und TA 100 zum Einsatz. Diese Bakterienstämme sind im Gegensatz zum Wildtyp nicht in der Lage, Histidin selbst zu synthetisieren, wachsen also unter histidinfreien Bedingungen nicht. Unter dem Einfluss genotoxischer Substanzen mutieren die Zellen von Histidinauxotrophie zu Histidinprototrophie, d.h. sie können auf selektivem Nährboden (histidinfreier Minimal-Glukose-Agar) wachsen. Die makroskopisch sichtbaren Kolonien entstehen jeweils aus einer Revertanten. Ihre Anzahl ist ein Maß für die mutagene Wirkung der getesteten Probe. Der Stamm TA 98 dient dem Nachweis von Frameshift-Mutationen (his D 3052), während TA 100 Basenpaarsubstitutionen (his G 46) anzeigt. Neben der Histidinauxotrophie sind den Stämmen noch weitere genetische Veränderungen gemeinsam, die ihre Sensitivität gegenüber genotoxischen Substanzen erhöhen: fehleranfälliges Reparaturenzym, erniedrigte DNA-Reparaturkapazität, erhöhte Permeabilität auch für hochmolekulare und vernetzte Schadstoffmoleküle durch teilweisen Verlust der Liposaccharidhülle.

Zur Simulation des Säugerstoffwechsels (Aktivierung von Mutagenen, besonders von Aromaten) wurde den Bakterienkulturen eine Fraktion aus Rattenleberenzymen zugesetzt (S9-Mix; Stephan 1999)

3.5.2 Ablauf

Die eingesetzten Medien, Referenzsubstanzen und das metabolisierende System (S9-Mix) sind in Tabelle 3 bis 5 gelistet.

Pro Testansatz wurden zu 2 ml Topagar in dieser Reihenfolge zugegeben: 0,1 ml Speichelprobe, 0,1 ml Bakterienkultur, 0,5 ml S9-Mix oder Pufferlösung. Nach Durchmischen der Komponenten wurde der Topagar auf histidinfreiem Nähragar (Vogel-Bonner-Medium) ausplattiert. Es folgte eine 48- bis 72-stündige Inkubation bei 37 °C im Dunkeln mit anschließender Auszählung der Kolonien.

Pro Proband wurden je drei Testserien mit und ohne Zusatz des metabolisierenden Systems angesetzt, wobei eine Negativ- und Positivkontrolle immer mitgeführt worden ist. Der Ansatz

für die Negativkontrolle bestand aus Bakterien, Topagar und ggf. metabolisierender Fraktion (S9-Mix) sowie Aqua dest. In der Positivkontrolle wurde anstatt Aqua dest. eine der in Tabelle 3 gelisteten mutagenen Substanzen in Abhängigkeit vom Teststamm und vom Zusatz des metabolisierenden Systems zugegeben. Das metabolisierende Enzymsystem (S9-Mix) wurde unmittelbar vor Testbeginn aus einem kommerziell erworbenen Rattenleberpräparat (S9-Fraktion) und den in Tabelle 5 angeführten Kofaktoren gemischt. Für jeden Prüfansatz sind aus drei Wiederholungen der arithmetische Mittelwert und der Induktionsfaktor (IF) ermittelt worden:

$$\text{IF} = \frac{\text{induzierte Revertanzahl (Probe)}}{\text{spontane Revertanzahl (Negativkontrolle)}}$$

Eine Probe wurde als genotoxisch eingestuft, wenn $\text{IF} \geq 1,2$ erreichte (Bloching et al. 2001).

Tabelle 3: Referenzsubstanzen im Salmonella/Mikrosomen-Test

Referenzsubstanz	Stamm TA 98		Stamm TA 100	
	-S9	+S9	-S9	+S9
1. Negativkontrolle	Aqua dest. 0,1 ml/Platte		Aqua dest. 0,1 ml/Platte	
2. Positivkontrolle	Dinitro-o-kresol (DNOC) 0,1 mg/Platte	N-Fluoren-2-ylacetamid (AAF) 0,01 mg/Platte	Bis(2-chlorethyl)ammonium-chlorid (Nor-HN ₂) 0,1 mg/Platte	Fluorenamin-2 (AF) 0,01 mg/Platte

Tabelle 4: Nährmedien und Lösungen für den Salmonella/Mikrosomen-Test

Nährmedium/Lösung	Zusammensetzung
Glukoselösung	50 g Glukose ad 1 Liter Aqua dest.
Salzlösung für Minimalmedium	50 g K ₂ HPO ₄ , 24 g KH ₂ PO ₄ , 8 g (NH ₄) ₂ SO ₄ , 4 g Natriumcitrat und 1,6 g MgSO ₄ x 7H ₂ O ad 1 Liter Aqua dest.
Basalmedium für Minimalmedium	24 g Fadenagar ad 1 l Aqua dest.
Top-Agar	5 g NaCl und 10 g Difco-Agar ad 1 l Aqua dest.
Biotin-Histidin-Lösung	7,25 mg L-Histidin und 12,2 mg Biotin ad 0,1 Liter Aqua dest.
Puffersaline	7 g Na ₂ HPO ₄ x 2H ₂ O und KH ₂ PO ₄ ad 1 Liter Aqua dest.
Vollmedium	15 g Nährbouillon II und 20 g Agar ad 1 l Aqua dest.
Nährmedium	15 g Nährbouillon II ad 1 l Aqua dest. für Bakterienschüttelkultur
Ampicillin-Agar	30 g Difco-Agar und 15 g Nährbouillon II ad 1 l Phosphatpuffer, pH 7, autoklavieren, abkühlen auf 60 °C, Zugabe von 10 ml Ampicillin-Stammlösung
Ampicillin-Stammlösung	80 mg Ampicillin ad 10 ml Aqua dest., steril filtrieren
Phosphat-Puffer	392 ml Lösung A: 9,08 g KH ₂ PO ₄ ad 1 l H ₂ O; 608 ml Lösung B: 11,88 g Na ₂ HPO ₄ x 2H ₂ O ad 1 l H ₂ O

Tabelle 5: Zusammensetzung des metabolisierenden Systems S9-Mix (Endvolumen 1 ml)

Komponenten	Menge/Volumen	Bemerkung
S9-Fraktion	0,1 ml	Überstand des Leberhomogenats (ca. 40 mg Protein/ml), Rat liver S9 products der Fa. INC Biochemical GmbH, Eschwege
MgCl ₂	8 µmol	0,2 ml einer Stammlösung von 406,51 mg MgCl ₂ x 6H ₂ O pro 50 ml Aqua dest., steril gefiltert
KCl	33 µmol	0,2 ml einer Stammlösung von 615 mg KCl pro 50 ml Aqua dest., steril filtriert
Glukose-6-Phosphat	5 µmol	5 µmol Glukose-6-Phosphat (0,1 ml einer Stammlösung von 304 mg Glukose-6-Phosphat-Na ₂ pro 20 ml Aqua dest., steril filtriert
NADP	4 µmol	0,1 ml einer Stammlösung von 726 mg NADP pro 20 ml Aqua dest., steril filtriert
Na-K-Phosphat	100 µmol	= 0,3 ml Phosphatstammlösung, pH 7,4, aus 19,6 ml Lösung A (4,804 g KH ₂ PO ₄ /100 ml Aqua dest.) + 80,4 ml Lösung B (6,286 g Na ₂ HPO ₄ x 2H ₂ O/100 ml Aqua dest.), steril filtriert

3.6 Mikrokerntest

3.6.1 Grundlagen

Mikrokerne sind von einer Kernmembran umgebenes Chromatin im Zytoplasma, das sich vom Hauptkern abgesondert hat. Im lichtmikroskopischen Bild erscheinen sie als Strukturen, die kleiner als der Hauptkern sind (max. $\frac{1}{3}$ des Hauptkerndurchmessers). In der Farbintensität entsprechen sie dem Hauptkern. Zur Entstehung von Mikrokerneln trägt der Verlust von Chromatin aus dem Hauptkern infolge einer Mutagenbelastung bei (Fenech 2000). Mikrokerne (MK) können aus ganzen Chromosomen (durch Verzögerung der Anaphase nicht in die Tochterzelle integriert) oder aus Chromosomenfragmenten (Bruchereignis) bestehen. Aus ganzen Chromosomen bestehende Mikrokerne (zentromer-positiv, größere MK) deuten auf einen aneuploidogenen gentoxischen Effekt hin. Bei Mikrokerneln, die dagegen Chromosomenfragmente enthalten (zentromer-negativ, kleinere MK), liegt ein klastogener gentoxischer Effekt zugrunde (Moore et al. 1996). Mikrokerne werden als Indikator für eine Genomschädigung verwendet. Sie stellen lediglich ein quantitatives Maß für chromosomale Schäden dar, da strukturelle Chromosomenaberrationen wie Inversion oder Translokation zu keiner Fragmentierung führen.

Der MK-Test wird seit 1937 als Indikator für eine gentoxische Exposition eingesetzt (Ramirez et Saldanha 2002). In den 50er Jahren haben Evans und Mitarbeiter bei Pflanzenzellen, die gegenüber einer ionisierenden Strahlung exponiert wurden, eine erhöhte Anzahl von Mikrokerneln festgestellt (Evans et al. 1959). Heddle und Mitarbeiter führten Ende der 70er Jahre In-vivo-Versuche an Knochenmarkzellen von Kleinsäugetieren durch (Heddle & Carrano 1977). Klinische Studien zeigen, dass die Bestimmung der Mikrokernelzahl in verschiedenen zytologischen Präparaten reproduzierbar erfolgen kann, z.B. in Präparaten der Schleimhaut des oberen Aerodigestivtraktes, des Intestinaltraktes, der Lunge sowie der Lympho- und Erythrozyten (Garewal et al. 1993, Shin et al. 1994, Basu et al. 2004).

Die Aussagefähigkeit des MK-Tests lässt sich u.a. durch den Einsatz der Zytokineseblock-Methode verbessern (Fenech 2000).

3.6.2 Ablauf

Die Entnahme des Wangenschleimhautabstriches erfolgte durch Abhalten der linken Wange mit dem zahnärztlichen Spiegel und einmaliges Drehen der Bürste um die eigene Achse. Zu beachten war, dass alle Borsten gleichmäßigen Kontakt mit der Schleimhaut hatten. Dem

Auftragen der Zytologie auf einen Objektträger und der Lufttrocknung folgte die Fixierung mit einem kalten Methanol-Eisessiggemisch (4:1) über 30 min. Anschließend wurde der Objektträger noch einmal getrocknet und bis zur Untersuchung auf Mikrokerne bei Raumtemperatur gelagert. Da der Einsatz von Zytobürsten für die Probengewinnung von Vorteil ist, kam bei dieser Untersuchung die Cytobrush[®] Plus GT zum Einsatz (Bloching et al. 2000).

Die Färbung geschah über 10 min. mit 1 %iger Giemsa-Lösung. Im Anschluss wurde der Objektträger in Aqua dest. gespült und luftgetrocknet. Die lichtmikroskopische Auswertung der Präparate auf Mikrokerne erfolgte bei 400-facher (10 x 40) Vergrößerung (Bloching et al. 2000). Zur Vermeidung von Verwechslungen mit Artefakten diente nachstehende international anerkannte Definition der Mikrokerne (Beliën et al. 1995): Mikrokerne (MK) weisen im Vergleich zu Farbstoffpartikeln keine Reflexionen auf, die Größe des MK darf max. 1/3 des Durchmessers vom Hauptkern betragen, die Färbung des MK darf höchstens so stark wie die des Hauptkerns sein, MK liegen innerhalb des Zytoplasmas (in die Bewertung gelangten nur Zellen mit intaktem Zytoplasma und erkennbaren Zellgrenzen), MK haben keinen Kontakt zum Hauptkern.

Pro Präparat wurden 1.000 Epithelzellen ausgewertet. Es wurden Zellen mit einem, zwei, drei und mehr als drei Mikrokerneln separat erfasst und anschließend die Mikrokernelzahl je 1.000 Zellen pro Proband bestimmt (Abb. 1).



Abb. 1: Zytologisches Präparat des Wangenschleimhautepithels (Giemsa-Färbung)

Die Zelle in der Bildmitte enthält zwei Mikrokerne (Pfeilmarkierung) von gleicher Farbintensität wie der Hauptkern.

3.7 CarioCheck-Test®

Der CarioCheck-Test® – eine Dip-Slide-Methode, die in der Zahnarztpraxis ohne aufwendige Laborausstattung durchführbar ist – ermöglicht eine semiquantitative Ermittlung (CFU) der bedeutsamen kariogenen Keime *Streptococcus mutans* und *Lactobacillus acidophilus*. Da für den Ames-Test nicht stimulierter Speichel zum Einsatz kam, wurde die Durchführung des CarioCheck-Tests® dahingehend modifiziert, dass die selektiven Nährböden mit nichtstimuliertem Speichel beimpft wurden. Nachdem die Röhrchen 48 h bei 37 °C bebrütet worden waren, erfolgte die Auswertung und semiquantitative Einordnung in Risikoklassen separat für Streptokokken (SM)⁵ und Lactobazillen (LB)⁶ nach Herstellerangaben.

3.8 Statistische Methoden

Die statistische Auswertung der Daten erfolgte mit dem SPSS-Programm für Windows, Version 10.0 (SPSS, Chicago, IL, USA). Die deskriptive Statistik bezog sich auf die Feststellung der Ereignishäufigkeit, der Häufigkeitsverteilung und der Merkmalskombinationen. Für die Überprüfung auf Normalverteilung wurde der Test nach Kolmogorov-Smirnov herangezogen. Der analytischen Statistik dienten je nach Skalierung der Parameter unterschiedliche Tests jeweils auf einem Signifikanzniveau von $p \leq 0,05$.⁷ Bei Vergleichen von mehr als zwei Stichproben erfolgte die Korrektur nach Bonferroni. Im Rahmen dieser Arbeit sollte lediglich eine einfaktorielle statistische Auswertung durchgeführt werden: Assoziation anamnestischer Angaben mit den Biomarkern, Assoziation exogener Noxen mit den Biomarkern, Assoziation der Mundhygiene mit den Biomarkern und Assoziation des dentalen Status mit den Biomarkern. Ein mögliches Confounding seitens der Noxen Alkohol und Tabak in Bezug auf die Assoziation dentaler Faktoren mit beiden Zielgrößen sollte berücksichtigt werden.

⁵ Der Keim SM ist für die Initiation des kariösen Prozesses verantwortlich (Hellwig et al. 1995). Die Anzahl der Keime im Speichel korreliert zum einen mit der Anzahl von Oberflächen (Zähne, Füllungen, Prothesen), die von SM besiedelt sind, zum anderen mit deren Konzentration in der Plaque.

⁶ Die LB-Konzentration ist ein zuverlässiger Indikator für eine zuckerreiche Ernährung, ferner ist der Keim LB mit fortgeschrittenen kariösen Läsionen assoziiert (Hellwig et al. 1995, Hirsch 1999).

⁷ Chi-Quadrat-Test nach Pearson für kategoriale Variablen (Ames- und Mikrokerntest); t-Test nach Student und ANOVA für Mittelwertvergleiche (Mikrokerntest); nichtparametrische Tests nach Mann und Whitney bzw. Kruskal und Wallis für Vergleiche der mittleren Ränge (Ames-Test).

4 Ergebnisse

4.1 Charakterisierung der Studienteilnehmer

An der Studie nahmen 100 Probanden im Alter zwischen 30 und 60 Jahren teil. Davon waren 52 % männlich und 48 % weiblich. Das mittlere Alter betrug 42,4 Jahre (Standardabweichung 7,9 Jahren, Normalverteilung). Die Tabelle 6 beschreibt das Gesamtkollektiv hinsichtlich der wesentlichen unabhängigen Variablen: Anamnese, exogene Noxen, individuelle Mundhygienegewohnheiten und dentaler Status.

Tabelle 6: Charakterisierung der Studienteilnehmer

Anamnese	ja		nein	
Allgemeinerkrankungen - gastrointestinale Erkr. - kardiovaskuläre Erkr. - sonstige	n=42 n=19 n=17 n=6		n=58	
Dauermedikamente	n=38		n=62	
Familienanamnese	n=20		n=80	
Schadstoffexposition	n=32		n=68	
Alkoholkonsum - regelmäßig - gelegentlich	n=47 n=37 n=10		n=53	
Tabakkonsum - in Vergangenheit - in Gegenwart	n=41 n=32		n=59 n=68	
Zahnärztl. Rö-Diagnostik im letzten Monat	n=28		n=72	
Mundhygiene-Gewohnheiten	ja		nein	
Fluoridierung	n=29		n=71	
Gute Mundhygiene	n=77		n=23	
Hilfsmittel für interdentale Hygiene	n=43		n=57	
Mundspüllösung	n=30		n=70	
Dentaler Status	schlecht	mittel	gut	
Hygieneindizes - API - PBI	n=54 n=43	n=36 n=39	n=10 n=18	
Kariogene Keime - LB - SM	n=22 n=18	n=49 n=38	n=29 n=44	
Indiv. Kariesaktivität	n=9	n=72	n=19	
DMF/T-Index	n=53	n=17	n=30	
Füllungsmaterialien (direkte Restaurationen)	Komposit n=21	Komposit und Amalgam n=39	Amalgam n=32	
PSI	schwere Parodontitis n=45	mittel-schwere Parodontitis n=33	Gingivitis/ ges. Parodont n=22	
ZE	prothetisch unversorgt n=5	kein festsitz. ZE n=6	festsitzender ZE n=53	

Der Alkohol- und Tabakkonsum im Probandenkollektiv zeigte signifikante geschlechterspezifische Unterschiede mit einer Dominanz des männlichen Geschlechts (Raucher 71,9 % von n=32, $p=0,017$; regelmäßiger Alkoholkonsum 62,2 % von n=37, $p=0,286$). Außerdem bestand hinsichtlich des Alkohol- und Tabakkonsums zum Untersuchungszeitpunkt eine Polarität. Nichtraucher waren häufiger gleichzeitig abstinent (62,7 % von n=67) und Raucher haben häufiger regelmäßig Alkohol konsumiert (53,1 % von n=32; $p=0,035$). Teilnehmer, die zum Untersuchungszeitpunkt Tabak konsumierten, rauchten pro Tag im Durchschnitt $17,8 \pm 9,7$ Zigaretten (min. 0,43 und max. 40 Zigaretten). Daraus ergab sich eine durchschnittliche kumulative Tabakexposition von $16,80 \pm 11,26$ Packungsjahren. Der mittlere Alkoholkonsum war bei Nichtberücksichtigten eines Extremwertes (250 g Ethanol/d) $16,60 \pm 8,60$ g Ethanol pro Tag.

Die Befragung hinsichtlich einer Röntgendiagnostik im Kopf-Hals-Bereich ergab – neben den in Tabelle 6 genannten zahnärztlichen Aufnahmen – in 23 von 100 Fällen eine andere röntgenologische Untersuchung. Im Laufe der vergangenen fünf Jahre unterzogen sich diese Personen einer oder mehreren folgenden Untersuchungen: CT, konventionelle Schädelaufnahmen, HWS-Aufnahmen.

Unter Berücksichtigung der anamnestischen Angaben war die Mundhygiene bei 77 % aller Studienteilnehmer als gut und bei den übrigen 23 % als schlecht zu bewerten. Im Vergleich dazu ergab die objektive Einschätzung anhand der Mundhygieneindizes API und PBI lediglich bei einem Drittel der Probanden eine durchschnittliche (26 %) bis gute (8 %) Mundhygiene.

Im Gesamtkollektiv fanden sich im Durchschnitt ein kariöser Zahn (D/T-Index), vier fehlende (M/T-Index) und neun gefüllte Zähne (F/T-Index). Dies entsprach einem mittleren DMF/T-Index von $14,1 \pm 6,09$ (Normalverteilung). Probanden mit einem überdurchschnittlich guten DMF/T-Wert (n=53) waren häufiger Nichtraucher (88,7 % von 53, $p<0,001$) und abstinent (58,5 % von 53, $p=0,104$; Chiquadrat-Test). Unter Studienteilnehmern mit einem schlechten DMF/T-Index (n=30) rauchten 60 % ($p<0,001$) und 50 % tranken regelmäßig Alkohol ($p=0,104$). In Bezug auf die Korrelation des Parodontalstatus mit Alkohol- und Tabakkonsum war eine ähnliche Konstellation zu beobachten, die statistisch nicht signifikant war ($p \geq 0,209$). In der Gruppe mit nahezu gesundem Parodont (n=22) dominierten Nichtraucher mit 86,4 % und abstinente Personen mit 63,6 %. Bei Teilnehmern mit schwerer Parodontitis (n=45) rauchten 35,6 % der Teilnehmer, während in 42,2 % dieser Fälle regelmäßiger Alkoholkonsum angegeben wurde ($p \geq 0,209$).

4.2 Ergebnisse des Ames-Tests

Die Testansätze mit den Stämmen TA 98 und TA 100 dienten dem Nachweis unterschiedlicher Mutationen. Während der Stamm TA 98 Frameshift-Mutationen aufdeckt (his D 3052), zeigt der Stamm TA 100 Basenpaarsubstitutionen an (his G 46). Nach Bestimmung der Revertanzahl wurden die Ergebnisse als Induktionsfaktor (IF) errechnet: Quotient aus Revertanzahl der Speichelprobe und Revertanzahl der Negativprobe. Die Werte der Induktionsfaktoren für beide Stämme bewegten sich zwischen 0,69 (Minimum) und 2,96 (Maximum, keine Normalverteilung). Definitionsgemäß wurde eine Probe als gentoxisch gewertet, wenn der Induktionsfaktor $\geq 1,2$ erreichte (Tab. 7). Während ohne S9-Mix der Anteil von gentoxischen Speichelproben (IF $\geq 1,2$) über 20 bzw. 10 Prozent lag, war dies mit S9-Zusatz lediglich bei unter fünf Prozent der Proben der Fall. Unter Einbeziehung beider Stämme des Prokaryonten *Salmonella typhimurium* fand sich von den 100 Speichelproben eine nicht gentoxische Aktivität in 67 % der Fällen. In sieben von 100 Fällen wurde eine gentoxische Aktivität bei der Analyse mit beiden Stämmen TA 98 und TA 100 gefunden, 18 % der Proben waren nur bei der Untersuchung mit dem Stamm TA 98 gentoxisch und 8 % aller Proben zeigten eine gentoxische Aktivität nur bei der Untersuchung mit dem Stamm TA 100.

Tabelle 7: Gentoxizitätsprüfung der Speichelproben im Ames-Test mit den Stämmen TA 98 und TA 100 ohne und mit metabolisierendem Zusatz (S9-Mix)

Eine Probe wurde als gentoxisch definiert, wenn der Induktionsfaktor (IF) einen Wert größer oder gleich 1,2 erreichte.

Teststämme	IF bei n=100 Mittelwert \pm SD (Median)	Bewertung (bezogen auf n=100)	
		nicht gentoxisch (IF<1,2)	gentoxisch (IF \geq 1,2)
TA 98/-S9	1,18 \pm 0,42 (1,03)	76 %	24 %
TA 98/+S9	0,98 \pm 0,15 (0,97)	96 %	4 %
TA 100/-S9	1,06 \pm 0,16 (1,00)	88 %	12 %
TA 100/+S9	1,00 \pm 0,13 (0,98)	97 %	3 %

Die Darstellung der Ergebnisse des Ames-Tests erfolgt erstens als metrische Variable (Korrelation der entsprechenden Einflussgrößen mit Induktionsfaktoren) und zweitens – im Falle eines signifikanten Zusammenhanges – als dichotome Variable (Assoziation der

Einflussgrößen mit einer gentoxischen/nicht gentoxischen Aktivität der Speichelproben). Aufgrund der geringen Fallzahl gentoxischer Proben bei Zusatz des metabolisierenden Systems (4 % bei der Testung mit dem Stamm TA 98 und 3 % bei der Untersuchung mit dem Stamm TA 100) werden im Rahmen der analytischen Statistik nachstehend nur Testansätze ohne S9-Mix berücksichtigt.

4.2.1 Allgemeinanamnese und Ames-Test

Zunächst wurde die Arbeitshypothese geprüft, dass allgemeinanamnestische Faktoren keinen Einfluss auf die errechneten IF-Werte für die Stämme TA 98 und TA 100 des Keimes *Salmonella typhimurium* und damit nicht in Zusammenhang mit einer gentoxischen Aktivität im Speichel stehen. Als allgemeinanamnestische Angaben wurden bei der Auswertung die Faktoren Alter, Geschlecht, Allgemeinerkrankungen einschließlich Dauermedikation und Familienanamnese berücksichtigt. Unter Einbeziehung der jeweiligen Variablen konnten durchgehend keine signifikanten Unterschiede festgestellt werden. Der Median der Induktionsfaktoren für beide Teststämme lag bei allen Untergruppen um den Wert eins (Tab. 8). Wenngleich zwischen dem Probandenalter und den Induktionsfaktoren eine geringe negative Korrelation ermittelt wurde ($r=-0,240$, $p=0,016$ nach Spearman), so waren die altersabhängigen Unterschiede im Sinne einer gentoxischen Aktivität statistisch nicht signifikant ($p=0,590$, vgl. Abb. 2).

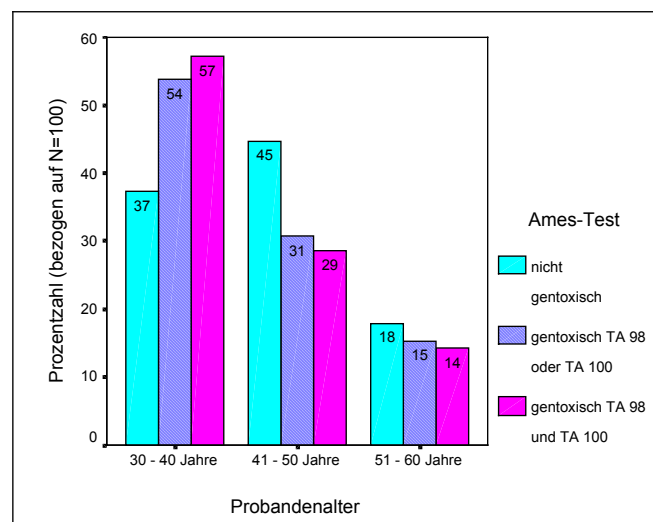


Abb. 2: Altersstruktur des Probandenkollektivs und Ergebnisse des Ames-Tests

Das prozentuale Überwiegen gentoxischer (54 % von $n=26$ bzw. 57 % von $n=7$) gegenüber nicht gentoxischen Speichelproben (37 % von $n=67$) in der Altersgruppe 30-40 Jähriger ($n=43$) war im Vergleich zu den übrigen Untergruppen (41-50 J. $n=40$ und 51-60 J. $n=17$) nicht signifikant ($p=0,590$; Chiquadrat-Test).

Tabelle 8: Anamnese und Induktionsfaktoren für beide Stämme TA 98 und TA 100

Dargestellt sind Induktionsfaktoren (Mittelwert \pm Standardabweichung, Median, Irrtumswahrscheinlichkeiten) in Abhängigkeit von anamnestischen Angaben separat für die Stämme TA 98 und TA 100 des Erregers *Salmonella typhimurium*. Es ließen sich keine bedeutsamen Unterschiede ermitteln (Test nach Mann und Whitney).

	ja IF	nein IF	p-Wert
Allgemeinerkrankungen	(n=42)	(n=58)	
TA 98 /-S9	1,19 \pm 0,40 (1,06)	1,18 \pm 0,44 (1,01)	p=0,279
TA 100 /-S9	1,06 \pm 0,16 (0,99)	1,06 \pm 0,17 (1,00)	p=0,201
Dauermedikamente	(n=38)	(n=62)	
TA 98 /-S9	1,10 \pm 0,24 (1,01)	1,23 \pm 0,50 (1,03)	p=0,704
TA 100 /-S9	1,08 \pm 0,19 (0,99)	1,04 \pm 0,15 (1,00)	p=0,833
Familienanamnese	(n=20)	(n=80)	
TA 98 /-S9	1,25 \pm 0,54 (1,02)	1,17 \pm 0,40 (1,03)	p=0,670
TA 100 /-S9	1,11 \pm 0,25 (1,01)	1,04 \pm 0,14 (1,00)	p=0,557
Geschlecht	♂ (n=52)	♀ (n=48)	
TA 98 /-S9	1,19 \pm 0,38 (1,03)	1,18 \pm 0,48 (1,02)	p=0,863
TA 100 /-S9	1,09 \pm 0,20 (1,01)	1,02 \pm 0,11 (0,99)	p=0,014

4.2.2 Exogene Noxen und Ames-Test

Unter den exogenen Einflüssen, die in diese Auswertung eingeschlossen wurden, waren die Schadstoffexposition am Arbeitsplatz und der Alkohol- und Tabakkonsum. Die zu prüfende Hypothese war: Die Exposition gegenüber Schadstoffen sowie der Konsum von Alkohol und Tabak haben Einfluss auf die Induktionsfaktoren bei der Analyse mit beiden Stämme TA 98 und TA 100 und sind folglich signifikant mit einer genotoxischen Aktivität im Speichel assoziiert.

In Abhängigkeit von den Rauchgewohnheiten in der Vergangenheit (Raucher n=41, Nichtraucher n=59) und zum Untersuchungszeitpunkt (Raucher n=32, Nichtraucher n=68) ließen sich hoch signifikante Unterschiede der Induktionsfaktoren (IF) bei der Testung mit beiden Stämmen ohne Zusatz des metabolisierenden Systems feststellen (U-Test nach Mann und Whitney, $p \leq 0,001$, Tab. 9). Mit zunehmender Rauchdauer ($r \geq 0,376$, $p < 0,001$) und konsumierter Zigarettenmenge pro Tag ($r \geq 0,453$, $p < 0,001$, nach Spearman) stiegen die Werte der Induktionsfaktoren für beide Teststämme im Sinne einer positiven Korrelation. Auch zwischen konsumierter Alkoholmenge in Gramm pro Tag und den Induktionsfaktoren sowohl für TA 98 als auch TA 100 ohne S9-Mix wurde eine geringe Korrelation errechnet ($r = 0,42$, $p = 0,014$ nach Spearman). In Bezug auf die Häufigkeit des Alkoholkonsums wurden bedeutsame Unterschiede der Induktionsfaktoren lediglich bei den Ansätzen mit dem Stamm TA 100 festgestellt. In den Abbildungen 3, 4 und 5 sind die Befunde des Ames-Tests für den Alkohol- sowie den Zigarettenkonsum zusammenfassend als Balkendiagramme dargestellt, differenziert nach gentoxischen oder nicht gentoxischen Speichelproben.

Tabelle 9: Induktionsfaktoren für TA 98 und TA 100 in Abhängigkeit von exogenen Noxen
 Dargestellt sind Mittelwerte, Standardabweichungen und Mediane der Induktionsfaktoren (IF) sowie Irrtumswahrscheinlichkeiten für beide Stämme.
 (* Mehrfachnennungen möglich, *signifikante Unterschiede hervorgehoben*)

	regelmäßig IF	gelegentlich IF	abstinent IF	p-Wert
Alkoholkonsum	(n=37)	(n=10)	(n=53)	
TA 98 /-S9	1,22±0,38 (1,06)	1,17±0,41 (1,02)	1,16±0,46 (1,01)	$p \geq 0,180$
TA 100 /-S9	1,11±0,21 (1,02)	1,07±0,19 (1,01)	1,01±0,10 (0,99)	$p \geq 0,204$ $p = 0,015$
	gegenwärt.	früher	nein	p-Wert
Tabakkonsum*	(n=32)	(n=41)	(n=68)	
TA 98 /-S9	1,37±0,49 (1,23)	1,34±0,50 (1,08)	1,07±0,32 (1,00)	$p \leq 0,001$
TA 100 /-S9	1,15±0,23 (1,06)	1,12±0,22 (1,02)	1,01±0,10 (0,99)	$p \leq 0,001$
	ja	nein		p-Wert
Schadstoffexposition	(n=32)	(n=68)		
TA 98 /-S9	1,19±0,42 (1,04)	1,15±0,43 (1,01)		$p = 0,224$
TA 100 /-S9	1,07±0,21 (1,00)	1,05±0,15 (1,00)		$p = 0,550$

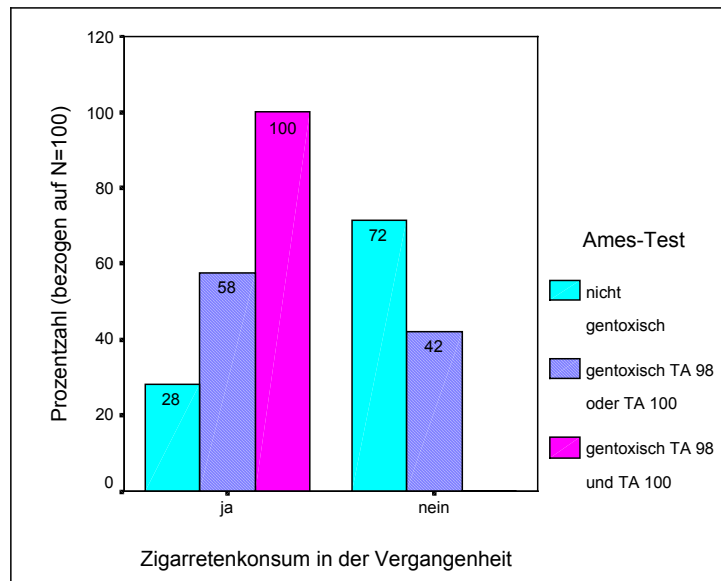


Abb. 3: Tabakkonsum in der Vergangenheit und Ergebnisse des Ames-Tests

Speichelproben von Nichtrauchern (n=59) waren mehrheitlich nicht genotoxisch (72 % von n=67). Demgegenüber dominierten bei Rauchern (n=41) genotoxische Proben (58 % von n=26 bzw. 100 % von n=7; $p < 0,001$; Chi-Quadrat-Test).

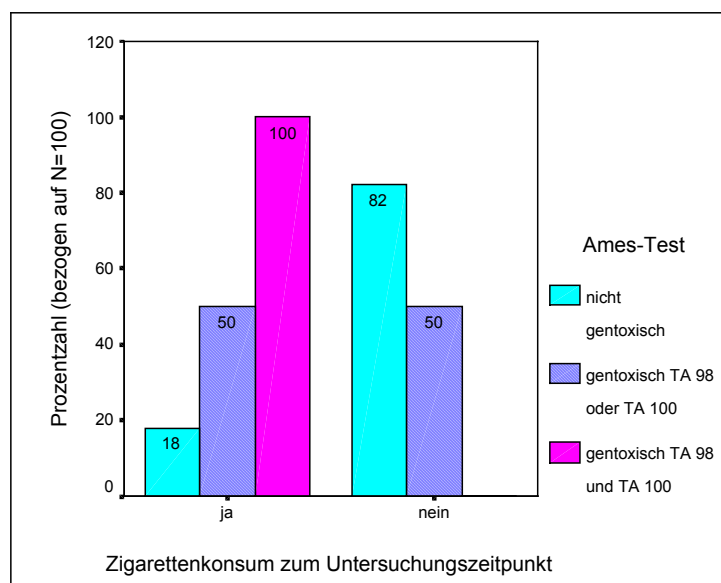


Abb. 4: Tabakkonsum zum Untersuchungszeitpunkt und Ergebnisse des Ames-Tests

Speichelproben von Nichtrauchern (n=68) waren mehrheitlich nicht genotoxisch (82 % von n=67). Demgegenüber dominierten bei Rauchern (n=32) genotoxische Proben (100 % von n=7; $p < 0,001$; Chi-Quadrat-Test). Speichelproben, die nur bei einem der Teststämme eine genotoxische Aktivität zeigten (n=26), entfielen jeweils zu 50 % auf Raucher und Nichtraucher.

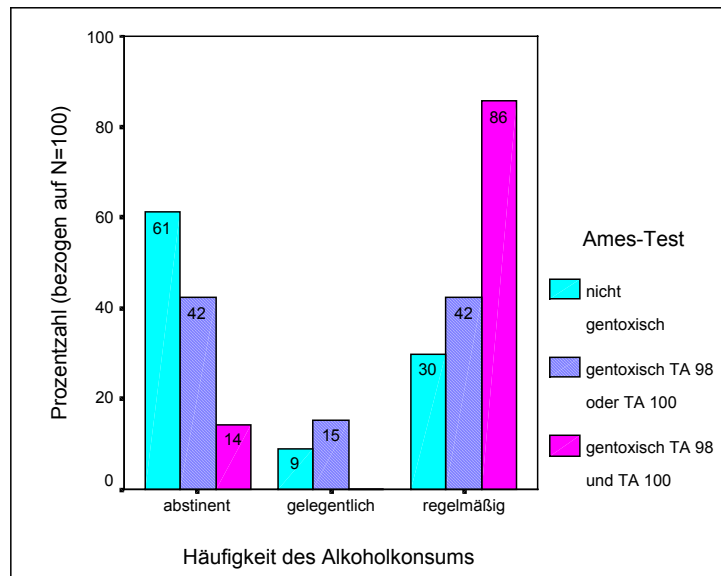


Abb. 5: Alkoholkonsum zum Untersuchungszeitpunkt und Ergebnisse des Ames-Tests
 Speichelproben von abstinenten Teilnehmern (n=53) zeigten mehrheitlich eine nicht gentoxische Aktivität (61 % von n=67). Dagegen entfiel die Mehrheit der gentoxischen Proben bei der Untersuchung mit beiden Stämmen (86 % von n=7) auf Teilnehmer mit regelmäßigem Alkoholkonsum (n=37; Chi-Quadrat-Test; p=0,032).

4.2.3 Mundhygienegewohnheiten und Ames-Test

Ferner war die Arbeitshypothese zu prüfen, dass Variablen der individuellen Mundhygiene mit den Induktionsfaktoren und damit auch mit einer gentoxischen Aktivität im Speichel assoziiert sind. In die Auswertung wurden die Häufigkeit der Mundhygiene, die Verwendung von Hilfsmitteln zur Interdentalhygiene, Fluoridierungsmaßnahmen und der Gebrauch von Mundspüllösungen als Faktoren der individuellen Mundhygiene einbezogen.

Die Analyse hinsichtlich einer Korrelation mit den Induktionsfaktoren ließ die nachstehend in Tabelle 10 genannten Befunde in Erscheinung treten.

Tabelle 10: Mundhygieneanamnese und Induktionsfaktoren für TA 98 und TA 100

Dargestellt sind Induktionsfaktoren (Mittelwert, Standardabweichung, Median, Irrtumswahrscheinlichkeiten) in Abhängigkeit von der individuellen Mundhygiene für beide Stämme TA 98 und TA 100 des Prokaryonten *Salmonella typhimurium*.

	ja IF	nein IF	p-Wert
Gute Mundhygiene	(n=77)	(n=23)	
TA 98 /-S9	1,18±0,37 (1,03)	0,99±0,02 (1,03)	p=0,528
TA 100 /-S9	1,05±0,12 (1,00)	0,98±0,02 (0,99)	p=0,948
Fluoridierung	(n=29)	(n=71)	
TA 98 /-S9	1,19±0,34 (1,03)	1,19±0,34 (1,01)	p=0,416
TA 100 /-S9	1,08±0,15 (1,01)	1,08±0,15 (0,99)	p=0,389
Interdent. Hilfsmittel	(n=43)	(n=57)	
TA 98 /-S9	1,16±0,32 (1,04)	1,19±0,43 (1,01)	p=0,791
TA 100 /-S9	1,06±0,14 (1,01)	1,01±0,05 (0,99)	p=0,262
Mundspüllösung	(n=30)	(n=70)	
TA 98 /-S9	1,19±0,34 (1,03)	1,15±0,39 (1,02)	p=0,441
TA 100 /-S9	1,08±0,15 (1,01)	1,01±0,05 (1,00)	p=0,324

4.2.4 Dentaler Status und Ames-Test

Die vordergründige Arbeitshypothese zur Gentoxizitätsuntersuchung war, dass der dentale Status mit den Induktionsfaktoren für beide Teststämme bzw. mit einer gentoxischen Aktivität im nicht stimulierten Speichel assoziiert ist. Folgende dentale Parameter sind einzeln einbezogen worden: Mundhygieneindizes (API, PBI), Besiedlung des Speichels mit kariogenen Keimen (SM, LB), kariologischer Status (DMF/T-Index einschließlich der Aufgliederung nach D/T-, M/T- und F/T-Index), Art der Füllungsmaterialien, parodontaler (PSI) und prothetischer Befund.

Die Tabellen 11 und 12 geben einen Überblick über die einzelnen Induktionsfaktoren separat für die Teststämme TA 98 und TA 100 im Gesamtkollektiv.

Tabelle 11: Induktionsfaktoren für TA 98 und TA 100 in Abhängigkeit vom Dentalstatus I

Dargestellt sind Induktionsfaktoren (Mittelwert \pm Standardabweichung, Median, Irrtumswahrscheinlichkeiten) in Abhängigkeit von der Besiedlung des Speichels mit kariogenen Keimen (SM und LB), den Mundhygieneindizes (API, PBI) und der individuellen Kariesaktivität für beide Stämme TA 98 und TA 100 des Keimes *Salmonella typhimurium*. Unter dem Aspekt der Streptokokken-Konzentration wurden vereinzelt signifikante Unterschiede festgestellt (*hervorgehoben*, Test nach Mann und Whitney, Korrektur nach Bonferroni).

	niedrig IF	mittel IF	hoch IF	p-Wert
SM	(n=40)	(n=46)	(n=14)	
TA 98 /-S9	1,05\pm0,21 (1,02)	1,23 \pm 0,49 (1,01)	1,39\pm0,55 (1,12)	p \geq 0,150 p=0,018
TA 100 /-S9	1,04\pm0,16 (0,99)	1,05\pm0,13 (1,01)	1,11 \pm 0,26 (1,01)	p \geq 0,171 p=0,018
LB	(n=43)	(n=38)	(n=19)	
TA 98 /-S9	1,13 \pm 0,36 (1,03)	1,23 \pm 0,45 (1,02)	1,21 \pm 0,50 (1,04)	p \approx 1,00
TA 100 /-S9	1,07 \pm 0,17 (1,00)	1,05 \pm 0,18 (1,00)	1,03 \pm 0,11 (0,99)	p \approx 1,00
API	(n=10)	(n=36)	(n=54)	
TA 98 /-S9	1,00 \pm 0,11 (0,96)	1,10 \pm 0,34 (1,03)	1,28 \pm 0,49 (1,03)	p \geq 0,126
TA 100 /-S9	1,08 \pm 0,22 (0,98)	1,02 \pm 0,10 (0,99)	1,07 \pm 0,18 (1,00)	p \geq 0,555
PBI	(n=18)	(n=39)	(n=43)	
TA 98 /-S9	1,02 \pm 0,11 (0,99)	1,1,24 \pm 0,49 (1,04)	1,20 \pm 0,42 (1,01)	p \geq 0,360
TA 100 /-S9	1,07 \pm 0,20 (0,99)	1,03 \pm 0,15 (1,00)	1,07 \pm 0,16 (1,00)	p \geq 0,597
Kariesaktivität	(n=19)	(n=72)	(n=9)	
TA 98 /-S9	1,00 \pm 0,09 (0,97)	1,21 \pm 0,43 (1,04)	1,40 \pm 0,65 (1,01)	p \geq 0,066
TA 100 /-S9	1,04 \pm 0,17 (0,98)	1,06 \pm 0,17 (1,01)	1,02 \pm 0,07 (1,00)	p \geq 0,156

Tabelle 12: Induktionsfaktoren für TA 98 und TA 100 in Abhängigkeit vom Dentalstatus II

Dargestellt sind Mittelwerte, Standardabweichungen, Mediane der Induktionsfaktoren und Irrtumswahrscheinlichkeiten für beide Stämme TA 98 und TA 100 des Prokaryonten *Salmonella typhimurium* in Abhängigkeit vom kariologischen (DMF/T), parodontalen (PSI) und prothetischen Befund (ZE). *Signifikante Unterschiede sind hervorgehoben.*

Füllungsmaterialien (direkte Restaurat.)	Komposit IF	Komposit und Amalgam IF	Amalgam IF	p-Wert
TA 98 /-S9	(n=21) 1,28±0,52 (1,06)	(n=39) 1,16±0,38 (1,04)	(n=32) 1,17±0,44 (1,02)	p≈1.00
TA 100 /-S9	1,06±0,13 (1,01)	1,09±0,21 (1,01)	1,03±0,14 (0,99)	p≥0,129
DMF/T-Index	schlecht	mittel	gut	
TA 98 /-S9	(n=53) 1,43±0,56 (1,20)	(n=17) 1,19±0,32 (1,02)	(n=30) 1,08±0,34 (1,00)	p≥0,369 p=0,012
TA 100 /-S9	1,11±0,21 (1,02)	1,04±0,06 (1,02)	1,04±0,16 (0,98)	p≥0,063 p=0,039
PSI	schwere Parodontitis	mittel-schw. Parodontitis	Gingivitis / ges. Parodont	
TA 98 /-S9	(n=45) 1,23±0,42 (1,06)	(n=33) 1,25±0,53 (1,00)	(n=22) 1,05±0,28 (1,00)	p≥0,465 p=0,012
TA 100 /-S9	1,02±0,07 (1,00)	1,12±0,23 (1,02)	1,05±0,18 (0,98)	p≥0,141
ZE	prothetisch unversorgt	kein festsitz. ZE	festsitzender ZE	
TA 98 /-S9	(n=5) 1,54±0,32 (1,69)	(n=6) 1,30±0,82 (0,96)	(n=53) 1,12±0,33 (1,02)	p≥0,378 p=0,027
TA 100 /-S9	1,06±0,10 (1,00)	1,05±0,13 (1,00)	1,03±0,11 (1,00)	p≥0,759

Von den oben genannten dentalen Faktoren hatten folgende Parameter eine biologische Relevanz im Hinblick auf eine gentoxische Aktivität im Speichel: der Plaque-Index (API,

Teststamm TA 98), die Anzahl kariöser Zähne (D/T-Index, Stamm TA 98 und TA 100) und der prothetische Status (Teststamm TA 98). Die semiquantitative Streptokokken-Konzentration ($p=0,326$) und der parodontale Status ($p=0,491$, Chi-Quadrat-Test) hatten nach Differenzierung der Proben hinsichtlich einer „gentoxischen“ und einer „nicht gentoxischen“ Aktivität keinen bedeutsamen Einfluss mehr.

Wie in Abbildung 6 dargestellt, entfielen drei Viertel der gentoxischen Speichelproben (75 % von $n=24$) auf Teilnehmer mit einem schlechten Plaque-Index ($p=0,050$, Chi-Quadrat-Test).

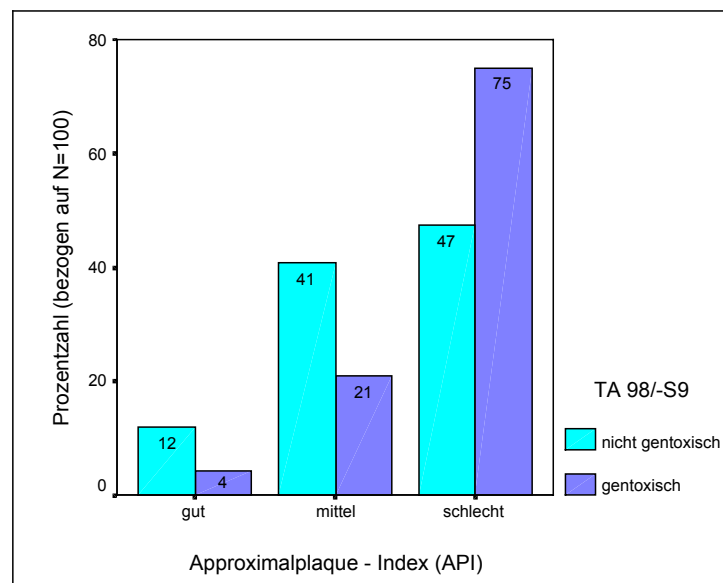


Abb. 6: Mundhygieneindex API und Gentoxizitätsprüfung mit dem Stamm TA 98

Das Balkendiagramm veranschaulicht die relative Häufigkeitsverteilung der gentoxischen ($n=24$) und nicht gentoxischen ($n=75$) Speichelproben in Abhängigkeit von der objektiv eingeschätzten Mundhygienequalität. Ohne Zusatz des metabolisierenden Systems dominierte in der Untergruppe mit schlechtem API-Index ($n=53$) der Prozentsatz gentoxischer Proben signifikant (75 % von $n=24$ vs. 47 % von $n=75$; $p=0,050$; Chi-Quadrat-Test). Bei einem guten ($n=11$) und mittlerem ($n=35$) API-Wert überwogen jeweils nicht gentoxische Proben.

Der Tabelle 11 ist zu entnehmen, dass in der vorliegenden Untersuchung ein Zusammenhang zwischen der kariologischen Gebissituation und den Induktionsfaktoren für beide Teststämme TA 98 und TA 100 beobachtet wurde. Die Aufgliederung des DMF/T-Indizes nach der Anzahl kariöser Zähne (D/T-Index), der Zahl fehlender Zähne (M/T-Index) und der Summe gefüllter Zähne (F/T-Index) ergab lediglich für den D/T-Index eine bedeutsame Assoziation mit der gentoxischen Aktivität ($p\leq 0,045$, U-Test nach Mann und Whitney,

Korrektur nach Bonferroni, vgl. Abb. 7). Dagegen waren die Unterschiede in Bezug auf die Anzahl fehlender und gefüllter Zähne statistisch nicht signifikant ($p \geq 0,445$, H-Test nach Kruskal und Wallis).

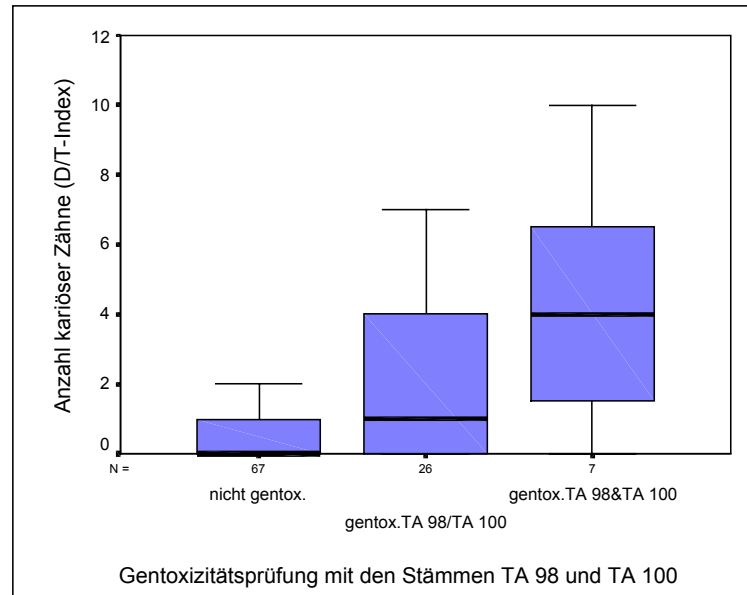


Abb. 7: Anzahl kariöser Zähne im Gesamtkollektiv und Gentoxizitätsprüfung

Die Markierung in den Boxplots entspricht dem Median: null, ein und vier kariöse Zähne in Abhängigkeit von einer gentoxischen Aktivität bei der Untersuchung mit beiden Teststämmen. Die Differenz der mittleren Rangzahlen zwischen den Gruppen „nicht gentoxisch“ und „gentoxisch bei TA 98 oder TA 100“ bzw. „nicht gentoxisch“ und „gentoxisch bei TA 98 und TA 100“ ist statistisch signifikant ($p \leq 0,045$, Mann und Whitney-Test, Korrektur nach Bonferroni).

Während 62,7 % aller nicht gentoxischen Proben (n=67) auf Teilnehmer mit einem überdurchschnittlich guten DMF/T-Index entfielen, waren gentoxische Proben mehrheitlich mit einem unterdurchschnittlich schlechten Index assoziiert (71,4 % von 7 waren gentoxisch bei der Analyse mit TA 98 oder TA 100; 46,2 % von 26 waren gentoxisch bei der Analyse mit beiden Teststämmen, vgl. Abb. 8). Die Differenz der relativen Häufigkeitsverteilung war statistisch signifikant ($p=0,017$, Chi-Quadrat-Test).

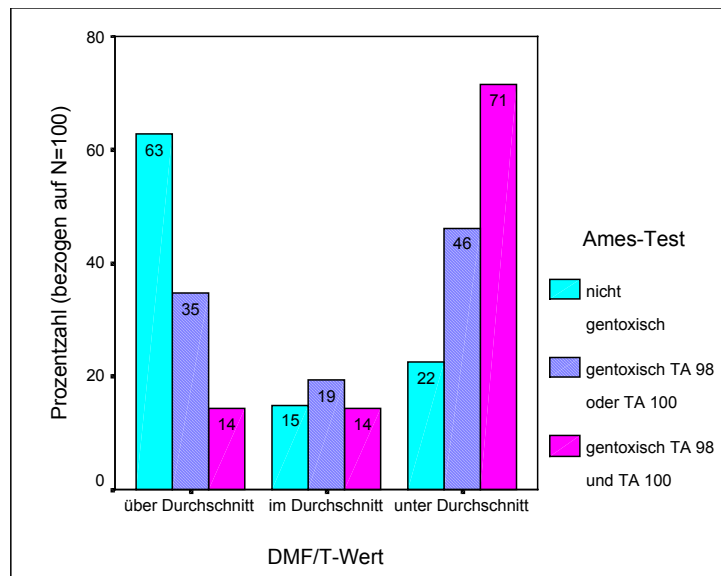


Abb. 8: Kariologische Gebissituation und Gentoxizitätsprüfung

Unter den Probanden mit überdurchschnittlich gutem DMF/T-Index (n=52) waren 63 % aller nicht gentoxischen Speichelproben (n=67) vertreten. Dagegen zeigte die Mehrheit der Teilnehmer mit unterdurchschnittlich schlechtem DMF/T-Index (n=32) eine gentoxische Aktivität: 46 % von n=26 bzw. 71 % von n=7 (p=0,017).

Zwischen der individuellen Kariesaktivität und der gentoxischen Aktivität konnte lediglich bei der Analyse mit dem Stamm TA 98 ein signifikanter Zusammenhang errechnet werden (p=0,051, Abb. 9). Für den Stamm TA 100 war die Beziehung nicht signifikant (p=0,969, Chi-Quadrat-Test).

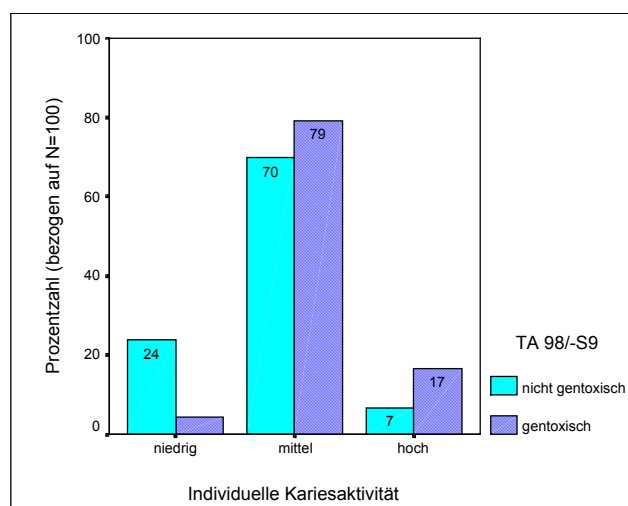


Abb. 9: Gentoxische Aktivität in Abhängigkeit von individueller Kariesaktivität

Unter den Probanden mit mittlerer und hoher Kariesaktivität dominierten gentoxische gegenüber nicht gentoxischen Speichelproben (79 % bzw. 17 % von 24 vs. 70 % bzw. 7 % von 76; p=0,051, Chi-Quadrat-Test).

In Abbildung 10 ist der Parodontalstatus der Speichelqualität gegenübergestellt. Unter dem Aspekt einer gentoxischen Aktivität trat eine statistisch nicht signifikante Assoziation in Erscheinung.

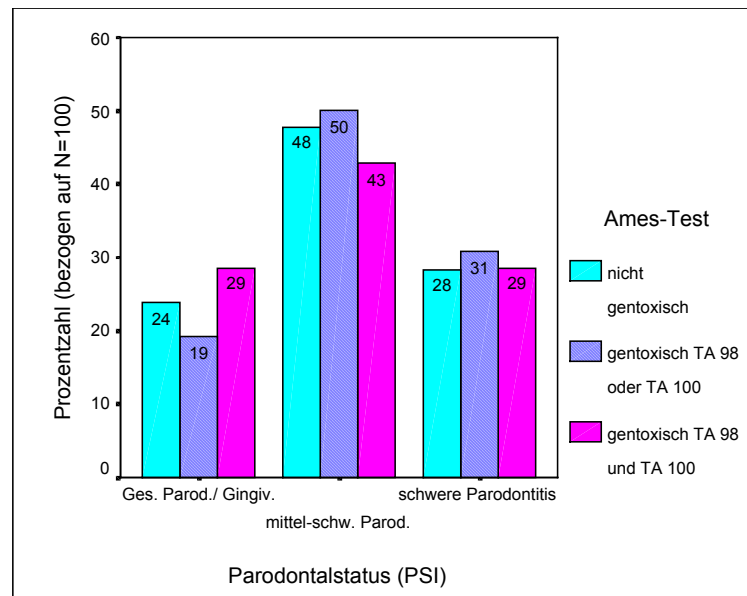


Abb. 10: Parodontale Gebissituation (PSI) und Gentoxizitätsprüfung

Die Unterschiede der relativen Häufigkeit gentoxischer bzw. nicht gentoxischer Speichelproben zwischen Teilnehmern mit nahezu gesundem Parodont und Probanden mit (mittel)schwerer Parodontitis liegen im statistisch nicht signifikanten Bereich ($p=0,491$, Chi-Quadrat-Test).

Der Zusammenhang für den prothetischen Status ist in der Abbildung 11 unter dem Aspekt einer Gentoxizitätsprüfung mit dem Stamm TA 98 veranschaulicht. Das Diagramm verdeutlicht Unterschiede in Bezug auf eine gentoxische gegenüber einer nicht gentoxischen Aktivität der Speichelproben insbesondere zwischen Probanden mit feststehendem Zahnersatz (33 % aller gentoxischen Proben vs. 59 % aller nicht gentoxischen Proben) und solchen, die prothetisch nicht rehabilitiert waren (17 % der gentoxischen Proben vs. 2 % der nicht gentoxischen Proben). Die Differenz der relativen Häufigkeiten war statistisch signifikant ($p=0,009$).

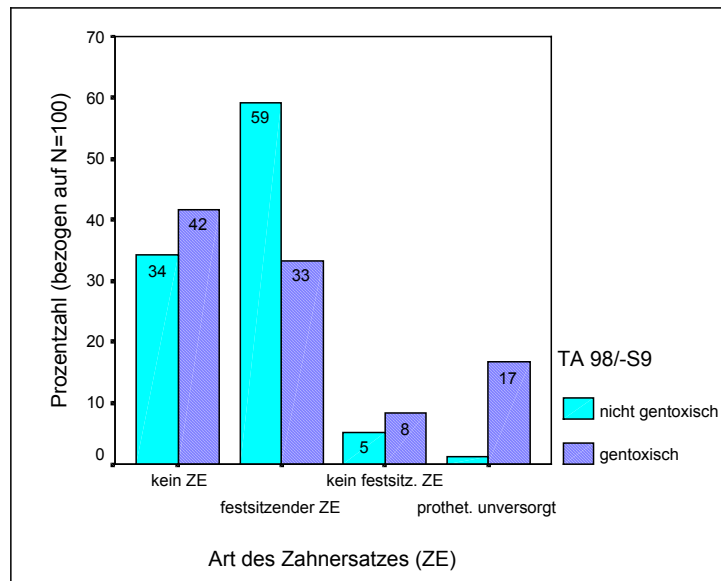


Abb. 11: Prothetischer Status und Gentoxizitätsprüfung mit dem Stamm TA 98

Veranschaulicht werden deutliche Unterschiede in Bezug auf eine gentoxische gegenüber einer nicht gentoxischen Aktivität der Speichelproben insbesondere zwischen Probanden mit festsitzendem Zahnersatz (33 % von $n=24$ vs. 59 % von $n=76$) und solchen, die prothetisch nicht rehabilitiert waren (17 % von $n=24$ vs. 2 % von $n=76$). Die Differenz der relativen Häufigkeiten ist statistisch signifikant ($p=0,009$).

4.3 Ergebnisse des Mikrokerntests

Die mittlere Mikrokernelrate für die Gesamtpopulation betrug 1,9 Mikrokerne pro 1.000 Zellen mit einer Standardabweichung von 0,99. Die Werte waren normalverteilt (Kolmogorov-Smirnov-Test). In sieben Fällen wurde pro 1.000 ausgewerteten Epithelzellen kein Mikrokernel gefunden, in fünf Fällen wurden vier Mikrokerne pro 1.000 Zellen gefunden. In den übrigen zytologischen Präparaten war die Verteilung wie folgt: 1 MK ($n=26$), 2 MK ($n=39$) und 3 MK ($n=23$).

4.3.1 Allgemeinanamnese und Mikrokerntest

Zu prüfen war die Arbeitshypothese, dass zwischen den Variablen Alter, Allgemeinerkrankungen einschließlich Dauermedikation und Familienanamnese sowie Geschlecht einerseits, und der Mikrokernelzahl andererseits kein Zusammenhang besteht.

Lediglich die Faktoren Alter und Geschlecht ergaben eine signifikante Korrelation mit der Mikrokernzahl (vgl. Tab. 13). Höheres Alter korrelierte positiv mit der Mikrokernrate bei relativ breiter Streuung der Punktwolke ($r=0,204$, $p=0,042$, nach Pearson).

Tabelle 13: Mikrokernzahl (MK) pro 1.000 Epithelzellen in Abhängigkeit von der Anamnese
Dargestellt sind Mittelwerte und Standardabweichungen in Abhängigkeit von den jeweiligen Angaben. Die Mittelwertvergleiche wurden mit dem t-Test nach Student durchgeführt (*signifikante Unterschiede hervorgehoben*).

	ja MK	nein MK	p-Wert
Allgemeinerkrankungen	(n=42) 2,00±1,02	(n=58) 1,88±0,97	p=0,549
Dauermedikamente	(n=38) 2,03±0,80	(n=62) 1,87±1,09	p=0,452
Familienanamnese	(n=20) 1,79±0,98	(n=80) 1,96±1,00	p=0,513
Geschlecht	♂ (n=52) <i>2,12±0,98</i>	♀ (n=48) <i>1,73±0,96</i>	<i>p=0,050</i>

4.3.2 Exogene Noxen und Mikrokerntest

Zu prüfen war die Hypothese, dass exogene Einflüsse wie chronischer Alkohol- und Tabakkonsum sowie die Exposition gegenüber Schadstoffen am Arbeitsplatz und Röntgenstrahlen bei zahnärztlichen Untersuchungen die Mikrokernbildung im Epithel der Wangenschleimhaut induzieren.

Im Hinblick auf Mittelwertvergleiche der MK-Rate ließ sich lediglich der Tabakkonsum (Zigaretten) als signifikante Größe ermitteln. Teilnehmer, die in der Vergangenheit bzw. zum Untersuchungszeitpunkt Tabak konsumierten, zeigten hoch signifikant höhere Mittelwerte im Vergleich zu Nichtrauchern ($p \leq 0,001$, Tab. 14). Die Mikrokernzahl korrelierte in geringem Maß mit der täglich gerauchten Zigarettenmenge ($r=0,447$; $p < 0,001$) und der Rauchdauer in Jahren ($r=0,334$; $p=0,040$, Korrelationskoeffizient nach Pearson). Unter dem Aspekt einer kumulativen Tabakexposition (Packungsjahre) war unter den Rauchern lediglich eine sehr

geringe Korrelation zu finden ($r < 0,2$; $p = 0,352$). In Abhängigkeit vom Konsumverhalten alkoholischer Getränke, Röntgenstrahlen- und Schadstoffexposition ergaben sich nicht signifikante Mittelwertunterschiede bzgl. der Mikrokernzahlen pro 1.000 Epithelzellen ($p \geq 0,127$). Eine positive Korrelation zwischen konsumierter Alkoholmenge in Gramm pro Tag und der MK-Rate bestand ebenfalls nicht ($r = 0,129$; $p = 0,468$, nach Pearson).

Tabelle 14: Mikrokernzahl (MK) pro 1.000 Zellen in Abhängigkeit von exogenen Noxen

Dargestellt sind Mittelwerte und Standardabweichungen in Abhängigkeit vom Alkohol- und Tabakkonsumverhalten (*Mehrfachnennung möglich) sowie einer Röntgenstrahlen- und Schadstoffexposition (**siehe Material und Methode). Mittels t-Test nach Student bzw. ANOVA (korrigiert nach Bonferroni) erfolgten die Mittelwertvergleiche. *Signifikante Unterschiede sind hervorgehoben.*

	regelmäßig MK	gelegentlich MK	abstinent MK	p-Wert
Alkoholkonsum	(n=37) 2,11±0,94	(n=10) 1,90±1,20	(n=53) 1,83±0,99	$p \geq 0,291$
	gegenwärt.	früher	nein	p-Wert
Tabakkonsum*	(n=32) 2,44±0,95	(n=41) 2,32±0,93	(n=59) 1,69±0,92	$p \leq 0,001$
	ja	nein		p-Wert
Schadstoff- exposition **	(n=32) 2,13±1,01	(n=68) 1,79±0,99		$p = 0,127$
Zahnärztliche Röntgendiagn.	(n=28) 2,15±1,17	(n=72) 1,82±0,91		$p = 0,418$

4.3.3 Mundhygienegewohnheiten und Mikrokerntest

Hier wurde die Arbeitshypothese geprüft, dass Faktoren der individuellen Mundhygiene mit der MK-Frequenz der Epithelzellen in der bukkalen Mukosa assoziiert sind. In die Auswertung wurden die Häufigkeit der Mundhygiene, die Verwendung von Hilfsmitteln zur Interdentalhygiene, Fluoridierungsmaßnahmen sowie der Gebrauch von Mundspüllösungen als Faktoren des individuellen Mundhygieneverhaltens einbezogen.

Die Mittelwertunterschiede der MK-Häufigkeit pro 1.000 Zellen in Abhängigkeit von der Qualität der persönlichen Mundhygiene – wie sie anamnestisch angegeben wurde – waren statistisch nicht signifikant ($p \geq 0,417$, t-Test nach Student, ANOVA). Die Ergebnisse sind in Tabelle 15 zusammengefasst.

Tabelle 15: Mundhygieneanamnese und Assoziation mit der Mikrokernzahl (MK)

In der Tabelle ist die MK pro 1.000 Zellen (Mittelwert und Standardabweichung) in Abhängigkeit von Mundhygienegewohnheiten dargestellt. Zwischen den angeführten Faktoren der Mundhygiene und dem Biomarker wurden keine signifikanten Zusammenhänge ermittelt.

	ja MK	nein MK	p-Wert
Gute Mundhygiene	(n=77) 1,97±0,99	(n=23) 1,73±0,98	p=0,417
Fluoridierung	(n=29) 1,93±1,03	(n=71) 1,91±0,98	p=0,995
Hilfsmittel der Interdentalhygiene	(n=43) 1,93±0,96	(n=57) 1,91±1,02	p=0,838
Mundspüllösung	(n=30) 2,03±0,93	(n=70) 1,87±1,02	p=0,449

4.3.4 Dentaler Status und Mikrokerntest

Die zu klärende Vordergrundfrage bei der Auswertung des MK-Testes war, inwiefern der dentale Status mit der Mikrokernzahl korreliert. Bei der analytisch-statistische Betrachtung der Zusammenhänge sind folgende Parameter untersucht worden: Mundhygieneindizes (API, PBI), Besiedlung des Speichels mit kariogenen Keimen (SM, LB), kariologischer Status (DMF/T-Index einschließlich der Aufgliederung nach D/T-, M/T- und F/T-Index), Art der Füllungsmaterialien, Parodontaler (PSI) und prothetischer Befund.

Unter Berücksichtigung der Mundhygieneindizes fand sich mit steigendem Grad der Blutung auf Sondierung im Bereich der Interdentalpapillen (PBI) eine Zunahme der mittleren MK-Rate. Als weitere Einflussgrößen konnten die Art der Füllungsmaterialien, der kariologische (Anzahl fehlender Zähne) und der parodontale Befund ermittelt werden ($p \leq 0,037$, Tab. 16 und

17). Der Plaque-Index, die Konzentration kariogener Keime im Speichel und der prothetische Befund waren ohne signifikanten Einfluss.

Tabelle 16: Mikrokernzahl (MK) pro 1.000 Zellen in Abhängigkeit vom Dentalstatus I

In der Tabelle ist die MK pro 1.000 Zellen (Mittelwert und Standardabweichung) in Abhängigkeit vom Grad der Besiedlung des Speichels mit kariogenen Keimen, den Mundhygieneindizes und der individuellen Kariesaktivität dargestellt.

Signifikante Unterschiede sind hervorgehoben.

	niedrig MK	mittel MK	hoch MK	p-Wert
SM	(n=40) 1,67±1,01	(n=46) 2,11±0,97	(n=14) 2,07±0,92	p≥0,127
LB	(n=43) 1,81±1,03	(n=38) 2,03±1,04	(n=19) 2,00±0,82	p≈1,00
API	(n=10) 1,82±1,08	(n=36) 1,86±0,94	(n=54) 2,00±1,02	p≈1,00
PBI	(n=18) 1,47±0,87	(n=39) 1,85±1,09	(n=43) 2,20±0,87	p≥0,342 p=0,032
Kariesaktivität	(n=19) 1,58±0,90	(n=72) 2,00±1,02	(n=9) 2,11±0,78	p≥0,299

Unter Berücksichtigung der direkten Füllungsmaterialien Amalgam und Komposit zeigte insbesondere Komposit einen wesentlichen Einfluss auf die MK-Rate ($p \leq 0,020$). Die errechnete Mittelwertdifferenz – etwa ein MK – war wie folgt: „Amalgam“ $1,45 \pm 0,85$ und „Komposit“ $2,29 \pm 0,90$ MK pro 1.000 Zellen. Während die Anzahl kariöser (D/T-Index, $r=0,003$; $p=0,973$) und gefüllter Zähne (F/T-Index, $r=0,168$; $p=0,097$) mit der MK-Rate nicht korrelierte, wurde zwischen der Anzahl fehlender Zähne (M/T-Index) und der Mikrokernhäufigkeit ein signifikanter Zusammenhang errechnet ($r=0,223$; $p=0,026$ adjustiert nach Alter). Die Adjustierung nach dem Raucherstatus ergab: $r=0,239$, $p=0,017$ (Korrelationskoeffizient nach Pearson). Unter dem Aspekt der parodontalen Gesundheit trat in Erscheinung, dass Teilnehmer mit schwerer Parodontitis die höchste mittlere MK-Rate zeigten ($2,16 \pm 0,85$) gefolgt von denen mit mittel-schwerer Parodontitis ($1,91 \pm 1,04$) und Probanden mit nahezu gesunden parodontalen Verhältnissen ($1,50 \pm 1,06$).

Im Rahmen dieser Untersuchung konnte zwischen dem zahnprothetischen Status und der Mikrokern-Rate keine signifikante Korrelation ermittelt werden, wenngleich Studienteilnehmer mit einem kombiniert festsitzenden und herausnehmbaren Zahnersatz die relativ höchsten MK-Werte erkennen ließen: $1,78 \pm 1,10$ bei Probanden ohne Zahnersatz, $1,80 \pm 0,45$ bei prothetisch nicht rehabilitierten Teilnehmern, $1,94 \pm 0,93$ bei festsitzendem Zahnersatz und schließlich bei einer kombiniert festsitzenden und herausnehmbaren Versorgung $2,83 \pm 0,75$ MK pro 1000 Zellen ($p \geq 0,093$).

Tabelle 17: Mikrokernzahl (MK) pro 1.000 Zellen in Abhängigkeit vom Dentalstatus II

In der Tabelle ist die MK pro 1.000 Zellen (Mittelwert und Standardabweichung) in Abhängigkeit von der Art der Füllungsmaterialien, vom kariologischen, parodontalen und prothetischen Status dargestellt. Zwischen den angeführten Faktoren der Mundhygiene und dem Biomarker wurden mehrere signifikante Zusammenhänge ermittelt. *Signifikante Unterschiede sind hervorgehoben* (* Bei der Variable „Füllungsmaterialien“ erfolgte der Vergleich jeweils in Relation zur Untergruppe „Amalgam“)

Füllungsmaterialien (direkte Restaurat.)	Komposit * MK	Komposit und Amalgam* MK	Amalgam MK	p-Wert
	(n=21) <i>2,29±0,90</i>	(n=39) 2,08±0,98	(n=32) 1,45±0,85	<i>p≤0,020</i>
DMF/T-Index	schlecht	mittel	gut	
	(n=53) <i>2,33±0,96</i>	(n=17) 1,71±0,77	(n=30) 1,77±1,02	p≥0,177 <i>p=0,037</i>
PSI	schwere Parodontitis	mittel-schw. Parodontitis	Gingivitis / ges. Parodont	
	(n=45) <i>2,16±0,85</i>	(n=33) 1,91±1,04	(n=22) 1,50±1,06	p≥0,379 <i>p=0,031</i>
ZE	prothetisch unversorgt	kein festsitz. ZE	festsitzender ZE	
	(n=5) 1,80±0,45	(n=6) 2,82±0,75	(n=53) 1,94±0,93	p≥0,071

5 Diskussion

5.1 Biomonitoring und seine praktische Relevanz

5.1.1 Biomarker versus Tumormarker

Angesichts des Anstieges der Inzidenz und Mortalität von Karzinomen des OADT bei gleichzeitig marginaler Verbesserung der 5-Jahres-Überlebensrate in den letzten Dekaden sind aktuelle Forschungsbemühungen erstens auf die Erkennung und Validierung von Markern, die mit der Karzinogenese im OADT assoziiert sind (Biomarker)⁸ ausgerichtet, und zweitens auf die Möglichkeit einer Individualisierung des Tumor-Stagings mit Hilfe von Tumormarkern⁹. In der Literatur wird gelegentlich keine scharfe Trennung dieser Begriffe vorgenommen. Das Ziel beider Marker ist, Risikopatienten früh zu erkennen, therapeutische Entscheidungen abzuleiten und eine prognostische Beurteilung zu ermöglichen (Shin et al. 1994, Schliephake 2003). Bei den meisten der gefundenen Tumormarkern (genomische Marker, Proteine der Zelladhäsion, proteolytische Enzyme wie Matrix-Metalloproteinasen, angiogenetische Faktoren, histopathologische Merkmale) ist die prognostische Relevanz noch nicht geklärt (Takes 2004). Deshalb gilt die eingehende klinische und ggf. bildgebende Untersuchung sowie Probeexzision verdächtiger Läsionen nach wie vor als Goldstandard der Diagnostik (Shah & Johnson 2003). Die prognostische Relevanz von Tumormarkern wird in Verbindung mit traditionellen histopathologischen Methoden evaluiert (Schliephake 2003, Eckert et al. 2005). Dagegen ist eine Probeexzision als Mittel zur Früherkennung von Risikopatienten nicht geeignet (Li et al. 2004).

5.1.2 Biomarker und opportunistisches Screening

Im Vergleich zur Effektivität von Aufklärungskampagnen (primär präventive Maßnahme) stellen opportunistische Screening-Programme als sekundär präventive Maßnahme ein geeignetes Mittel zur Reduzierung der Tumormorbidität im OADT dar (Santana et al. 1997, Franceshi et al. 1997, Bedi et al. 2000). Solche Programme dienen neben der Früherkennung

⁸ Marker von zellulären bzw. molekularen Veränderungen, die mit dem Prozess der Kanzerogenese assoziiert sind, aber noch bevor es zu einer malignen Transformation kommt auftreten, werden als **Biomarker** bezeichnet (Girod et al. 1998).

⁹ Ein **Tumormarker** repräsentiert eine qualitative oder quantitative Alteration bzw. Abweichung vom normalen Zustand eines untersuchten Moleküls, einer Zelle oder eines Gewebes bzw. einer Flüssigkeit, deren Vorhandensein eine Aussage über Vorliegen, Verlauf oder Prognose einer malignen Erkrankung ermöglicht (Hayes et al. 1996; Pschyrembel 1994).

von oralen Karzinomen auch der Instruktion und Sensibilisierung der Patienten für dieses Krankheitsbild (Cruz et al. 2002). Je nach Studiendesign und Alter der Teilnehmer sind bei derartigen Screening-Untersuchungen in ca. 4,2 % der untersuchten Fälle Weichteilläsionen auffindbar, die sich als maligne bzw. potenziell maligne Veränderungen offenbaren (Ahlberg et al. 1996, Reichart 2000). Es konnte demonstriert werden, dass Patienten der zahnärztlichen Praxis sowohl hinsichtlich der Risikoverhaltensweisen als auch der Prävalenz von positiven Läsionen der Schleimhaut für die breite Population repräsentativ sind, wiewohl sie eine selektive Gruppe darstellen (Lim et al. 2003). Biomarker könnten künftig ein geeignetes adjuvantes Instrument darstellen, um Hochrisikopatienten im präklinischen Stadium zu erkennen und ein individuelles Risikoprofil zu erstellen. Der Ames- und Mikrokerntest sind etablierte genotoxikologische Prüfverfahren mit reproduzierbarem Aussagewert, die gelegentlich kombiniert unter verschiedenen genetischen Gesichtspunkten [Ames-Test → Genmutationen, Mikrokerntest → Genom- (aneuploidogene Schädigung) oder Chromosomenmutationen (klastogene Schädigung)] angewandt werden (Shin et al. 1994, van Schooten et al. 2002).

Ziel der vorliegenden Untersuchung war es, zu prüfen, inwiefern zwischen dem dentalen Status und den Befunden des Ames- und des Mikrokern-Tests ein Zusammenhang besteht, wie er für den chronischen Alkohol- und Tabakkonsum bekannt ist. In zahlreichen In-vitro- und In-vivo-Studien sind (potentiell) karzinogene Eigenschaften von Umwelteinflüssen, Alkohol, Tabak und anderen Effektoren auf die Schleimhaut des oberen Aerodigestivtraktes analysiert worden. Das Messen von biologischen Parametern, die auf Belastungen durch chemische, physikalische und biologische Faktoren reagieren, wird dabei allgemein als Biomonitoring verstanden (Bundesgesundheitsblatt 1996).

5.2 Diskussion des Ames-Tests

5.2.1 Allgemeine Faktoren

Unter Einbeziehung des Alters, des Geschlechts, der Allgemein- und Familienanamnese sowie Sozialanamnese konnte in der vorliegenden Studie durchgehend keine signifikante Assoziation mit einer genotoxischen Aktivität im Speichel ermittelt werden. Das Ergebnis überrascht nicht, da es sich hier überwiegend um Variablen handelt, die keine beeinflussenden Faktoren eines mutagenen Potenzials im Untersuchungsmaterial Speichel sind. Eine mögliche medikamentöse Beeinflussung des Speichels als Untersuchungsmaterial für den Ames-Test ist auf folgende Weisen möglich: Induktion einer genotoxischen Aktivität im Speichel infolge

einer zytostatischen Medikation bzw. bei Personen, die in der Pharmaindustrie im Herstellungsprozess von Zytostatika involviert sind sowie bei onkologisch tätigem medizinischen Personal (vgl. Sorsa et al. 1988, Aceves Avila et al. 2004). Weitere Mechanismen sind Störung des Testergebnisses durch Antibiotika, chemopräventive Substanzen z.B. Acetylcystein (van Schooten et al. 2002) als Folge einer aktiven Sekretion mit dem Speichel (Bloching et al. 2001). Um mögliche Störungen des Tests auszuschließen, wurden Patienten, die eine antibiotische und zytostatische Therapie erhielten, aber aus der Untersuchung ausgeschlossen. Chemopräventive bzw. diätetische Beeinflussungen der Speichelqualität waren andererseits nicht Gegenstand der vorliegenden Untersuchung, wengleich der Konsum von verunreinigten Nahrungsmitteln mit einem potentiell gentoxischen Einfluss prinzipiell nicht auszuschließen ist (Badawi et al. 1998, Basu et al. 2004). Wie In-vitro-Untersuchungen zeigen, können Nahrungsbestandteile eine wichtige antimutagene Rolle spielen. Mit dem Stamm TA 100 des Prokaryonten *Salmonella typhimurium* ließ sich zeigen, dass Aminosäuren in unterschiedlicher Intensität einen antimutagenen Effekt bei einer Exposition gegenüber der alkylierenden Substanz N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidin haben (Roy et al. 2002).

Die Beobachtung, dass die Rate gentoxischer Proben mit Zusatz der metabolisierenden Fraktion (S9-Mix) niedriger war als ohne deren Zugabe (vgl. Tab. 7), spricht für einen detoxifizierenden Effekt, wie er auch von Bloching et al. (2001) bei 131 männlichen Probanden beschrieben wurde.

5.2.2 Exogene Noxen

Bereits 1975 lieferten McCann und Ames den Nachweis, dass 90 % der untersuchten bekannten Karzinogene mutagene Eigenschaften haben. Der Ames-Test hat sich seit dem zum etablierten Verfahren in der Mutagenitätsforschung entwickelt, z.B. bei der Gentoxizitätsprüfung von Substanzen, Substanzgemischen sowie Biomaterialien. Der Test ist andererseits dazu geeignet, chemopräventiv wirkende Substanzen zu identifizieren (McCann & Ames 1975, Roy et al. 2002). Gentoxische Effekte von Körperflüssigkeiten (Gallensekret, Urin, Speichel) wurden bei der Exposition gegenüber zahlreichen exogenen Noxen untersucht. Exemplarisch zu nennen sind Tabakkonsum, Nitroverbindungen, polyzyklische aromatische Kohlenwasserstoffe (zit. nach Stephan 1999).

In der vorliegenden Untersuchung fand sich in Übereinstimmung mit den Ergebnissen von Bloching et al. (2001) zwischen dem regelmäßigen Tabakkonsum und der gentoxischen

Aktivität (TA 98 und TA 100) von Speichelproben eine hoch signifikante Beziehung. Die Befunde sind als Ausdruck einer aktiven Sekretion von kanzerogenen Tabakbestandteilen durch Speicheldrüsen (Bloching et al. 2001) bzw. der lokalen Einwirkung des Zigarettenrauches bei mangelnder (Selbst)Reinigung der Mundhöhle (Velly et al. 1998) zu interpretieren. Diese Thesen werden durch den Einfluss der Konsumdauer und der Konsummenge gestützt. Auch bei der isolierten Betrachtung des Trinkverhaltens fand sich in dieser Arbeit ein bedeutsamer Einfluss auf die gentoxische Aktivität. Bloching und Mitarbeiter (2001) beobachteten für Alkohol alleine keinen, unter Einbeziehung des Tabaks allerdings einen synergistischen Einfluss. Als gentoxische Substanzen kommen Ethanol selbst und der Metabolit Acetaldehyd in Frage (Homann et al. 2000).

Die erwartete Einflussnahme einer Schadstoffexposition am Arbeitsplatz auf die biologische Wirkung des Speichels wurde hier nicht bestätigt, was am wahrscheinlichsten durch ein recall bias erklärt werden kann (vgl. Speichel als Untersuchungsmatrix bei arbeits- und umweltmedizinischem Monitoring; Mc Cann & Ames 1976, Sorsa et al. 1988). Eine zuverlässige Aussage über eine Beziehung zur Speichelqualität lässt sich aus der Anamnese nicht herleiten, da eine Angabe zur Schadstoffkonzentration am Arbeitsplatz nicht eruiert werden konnte.

5.2.3 Dentale Faktoren

Unter den anamnestischen Faktoren der individuellen Mundhygiene, ergab sich, dass bei Probanden, die nur bei Beschwerden den Zahnarzt konsultierten, häufiger eine gentoxische Aktivität zu beobachten war als bei kontrollorientiertem Verhalten. Diese Beobachtung ist auf mangelndes (Mund)Gesundheitsbewusstsein zurück zu führen, welches durch psychosoziale Faktoren bestimmt wird. Letztere stehen — wie breit angelegte Untersuchungen zeigen — mit Risikoverhaltensweisen wie mangelnde Mundhygiene, Abusus von Alkohol und Tabak in unmittelbarer Beziehung (vgl. Micheelis et Reich 1999, Röckl-Wiedmann et al. 2002, Rödiger et al. 2003, Ylöstalo et al. 2003).

1. Die vorliegende Untersuchung zeigt, dass Teilnehmer mit einem unterdurchschnittlich schlechten Plaqueindex (API) und kariologischen Status (DMF/T-Index) häufiger gentoxische Speichelproben aufwiesen, jeweils bei der Untersuchung ohne metabolisierenden Zusatz. Kennzeichnend ist die Tatsache, dass vordergründig die Anzahl kariöser Zähne, nicht aber die Anzahl gefüllter oder fehlender Zähne eine Rolle spielte. Nahe liegend ist der Einfluss

kariogener Plaque als komplexer Biofilm und Reservoir für bakterielle Toxine, auch wenn zwischen der Konzentration kariogener Keime und einer genotoxischen Aktivität im Speichel keine Korrelation beobachtet wurde. Vergleichbare Studien unter dieser Fragestellung sind nicht bekannt. Aus der Beobachtung einer metabolischen Aktivität von oralen Streptokokken schlussfolgerten Parisis & Pritchard (1983) allerdings, dass die Mundflora neben kariogenen und parodontschädigenden Einflüssen auch an dem Prozess der Kanzerogenese in der Mundhöhle beteiligt sein kann. Szigoleit et al. (1999) konnte unter dem Aspekt einer endogenen Nitrosierung beweisen, dass die Sanierung kariöser Läsionen eine wesentliche Reduktion der Konzentration von Candida herbeiführt. In vivo ist demnach ein polymikrobieller Einfluss möglich. Naheliegender ist, dass mikrobielle Metabolite mit genotoxischer Wirkung die Speichelqualität mitbestimmen und darüber im OADT verteilt werden können.

In der vorliegenden Untersuchung hatten individuelle Mundhygienegewohnheiten einschließlich Fluoridanamnese keinen Einfluss auf die Induktionsfaktoren. Gleichwohl wird aufgrund epidemiologischer Untersuchungen der regelmäßigen Mundhygiene eine wesentliche Clearance-Funktion beigemessen, welche die Belastung mit mikrobiellen Toxinen und Metaboliten und ggf. exogenen Noxen zu reduzieren vermag (insbesondere bei Personen mit chronischem Konsum von Alkohol und Tabak). Ein Vergleich der vorliegenden Studie mit anderen Untersuchungen ähnlicher Thematik ist nicht ohne weiteres möglich, da die anamnestischen Angaben zu ungenau sind. Kleinsasser und Mitarbeiter (2001) fanden in vitro, dass die zur Kariesprävention eingesetzte Substanz Olaflur[®] (als Aminfluorid in Mundspüllösungen, Zahnpasta und Gel enthalten) als 2 bis 213 ppm-Lösungen zyto- bzw. genotoxische Effekte auslöst.

Lang und Filippi (2004) betonten, dass 60% aller oralen Mikroorganismen die Zunge kolonisieren, welche als primäres Bakterienreservoir der Mundhöhle angesehen wird. Vor dem Hintergrund der Acetaldehyd-Synthese durch die Mundhöhlenflora und der Clearance stellt die Mundhygiene deshalb auch eine präventive Maßnahme in Bezug auf die Schleimhaut des OADT dar, und zwar im Sinne einer Reduktion der Dauer und Menge einer potentiell kanzerogenen Exposition (Homann et al. 2000 und 2001).

2. Unter dem Aspekt der parodontalen Gesundheit ließ sich keine Assoziation mit der biologischen Wirkung des Speichels im Sinne eines erbgutschädigenden Potentials erkennen. Bekannt ist, dass der nicht stimulierte Speichel aus dem Sekret kleiner und großer Speicheldrüsen sowie der Sulkusflüssigkeit zusammengesetzt ist (Humphrey et al. 2001).

Inwiefern in der vorgelegten Untersuchung der Effekt der Speicheldrüsen über dem Einfluss der Sulkusflüssigkeit lag bzw. durch ihn kaschiert wurde, kann hier nicht beantwortet werden. Zur Klärung dieser Frage bedarf es einer Fall-Kontrollstudie, bei der die Sulkusflüssigkeit, deren Fließrate mit zunehmender Entzündung steigt, isoliert werden muss.

3. In der vorliegenden Arbeit gilt wie für den kariologischen ebenso auch für den prothetischen Status, dass bei unsaniertem Befund die Induktionsfaktoren am höchsten waren. Signifikante Unterschiede der Werte ergaben sich lediglich zwischen Probanden mit festsitzendem Zahnersatz (IF $1,12 \pm 0,33$; Median 1,02 für den Stamm TA 98) und prothetisch nicht rehabilitierten Probanden (IF $1,54 \pm 0,32$, Median 1,69; $p=0,027$). Wenngleich zwischen der Art des Zahnersatzes (festsitzend vs. herausnehmbar) bzw. der Art der Füllungsmaterials (Amalgam vs. Komposit) und den Induktionsfaktoren keine Assoziation ermittelt wurde, ergeben andere Untersuchungen, dass die zu restaurativen Zwecken eingesetzten Werkstoffe im Ames-Test einen Effekt zeigen. Die in Kompositrestaurationen oder Prothesenkunststoffen verarbeiteten Monomere (HEMA, TEGMA, UDMA, Bis-GMA und MMA) können in nicht polymerisierter Form die orale Biophase (Gingiva, Speichel) erreichen. Für einige dieser Substanzen ist eine mutagene Aktivität nachgewiesen (TEGMA, GMA), wobei der Zusatz des metabolisierenden Systems bei Derivaten der Metacrylate einen nicht mutagenen, nicht östrogenen und weniger zytotoxischen Einfluss gezeigt hat (Kostoryz et al. 2003, Schweikel et al. 2005). Bei zykloliphatischen Epoxymonomeren werden dagegen bei der Analyse mit TA 100 in Anwesenheit des enzymatischen Systems mutagene Metabolite gebildet (Kostoryz et al. 2004). Kaplan und Mitarbeiter (2004) fanden in vitro (TA 98) darüberhinaus, dass die weit verbreiteten dentalen Zemente (Phosphat-, Carboxylat- und Glasionomer-Zemente) eine mutagene Aktivität zeigen. In der vorliegenden Arbeit hatten Träger von Kompositrestaurationen im Vergleich zu Amalgam zwar häufiger gentoxische Proben (TA 98 und TA 100), die Differenzen waren allerdings statistisch nicht signifikant ($p \geq 0,129$), was möglicherweise eine Frage der Dosis-Wirkung-Beziehung ist. Denn Kleinsasser et al. (2004) haben in vitro eine Konzentrationsabhängigkeit der gentoxischen Wirkung von Kompositmonomeren im Comet-assay gefunden.

5.3 Diskussion des Mikrokerntests

5.3.1 Allgemeine Faktoren

Einen signifikanten Zusammenhang zwischen der MK-Rate und dem Alter bzw. dem Geschlecht fanden Pastor und Mitarbeiter (2001), was den Ergebnissen der vorliegenden Arbeit entspricht. Konopacka (2003) fand dagegen weder alters- noch geschlechterspezifische Unterschiede. Die anamnestisch erfassten Angaben zu Allgemeinerkrankungen und Einnahme von Dauermedikamenten ergaben hier allerdings keinen signifikanten Effekt. Die Heterogenität der Allgemeinerkrankungen und Dauermedikamente im Probandenkollektiv der vorgelegten Studie erlauben keine Aussage über medikamentöse Einflüsse in Bezug auf die MK-Rate. Ramos-Remus et al. (2002) belegten beispielsweise, dass bei Patienten mit rheumatoider Arthritis unabhängig von der Methotrexat- oder Folsäure-Medikation eine im Vergleich zur Kontrollgruppe signifikant höhere MK-Rate ($3,31 \pm 2,3$ MK pro 1.000 Zellen vs. $0,8 \pm 0,8$ MK pro 1.000 Zellen; $p < 0,001$) vorhanden war, ohne allerdings Angaben über den Entstehungsmechanismus zu machen. Einige Medikamente und Nahrungs(ergänzungs)mittel beeinflussen die Frequenz mikrokernhaltiger Mukosaepithelzellen positiv im Sinne einer Chemoprävention oder Radioprotektion (N-Acetyl-L-cystein, Antioxidantien α -Tocopherol, β -Carotin, Vitamin A und C, Riboflavin; Barth et al. 1997, van Schooten et al. 2002) oder negativ im Sinne einer Induktion bereits 72 Stunden nach Einnahme (Chemotherapeutika, Paracetamol; Topinka et al. 1989, Ramirez und Saldanha 2002,). Aceves Avila et al. (2004) fanden bei Patienten mit einem systemischen Lupus erythematoses (SLE) unter der Cyclophosphamid-Medikation eine Erhöhung der MK-Zahl um 44% bezogen auf die basalen Werte.

Die Erkenntnis, dass eine ausreichende Zufuhr von Vitaminen (Folsäure, Niacin, Vitamin B12) und Mineralien (Selen, Zink) für die genomische Stabilität von Bedeutung ist, könnte auf der Grundlage von Gentoxizitätsmarkern – wie des MK-Tests – künftig eine Reevaluierung der recommended dietary allowance (RDA) für Vitamine und Mineralien erfordern (Fenech 2002). In einer früheren Untersuchung wurde eine Abhängigkeit zwischen der MK-Rate (Lymphozyten, Mundschleimhautepithel) und der plasmatischen Folsäure- sowie Vitamin B12-Konzentration bereits aufgezeigt (Titenko-Holland et al. 1998). Wie Basu et al. (2004) beobachteten, führen Trinkwasserverunreinigungen mit bekannten Kanzerogenen zur Induktion von Mikrokernen auch im Bereich der Mundschleimhaut. Der Konsum von mit Arsen kontaminiertem Trinkwasser führte z.B. zu einer 4,63-fachen Erhöhung der MK-Rate in der oralen Mucosa.

Wie oben dargestellt, wird die Mikrokernbildung als Biomarker für zytogenetische Schäden herangezogen. Andere Autoren diskutieren Möglichkeiten, den Mikrokernstest (cytokinesis-block micronucleus assay) bei Tumorpatienten im Speziellen zu Zwecken des Chemotherapie- (Torres-Bugarin et al. 2003) und Radiotherapiemonitorings (Fenech 2000) einzusetzen. Bloching et al. (2000) ermittelten eine hochsignifikante Differenz der MK-Rate zwischen Tumor- bzw. Leukoplakiepatienten einerseits (20,5 bzw. 19,4 MK/1.000 Zellen), und Kontrollpersonen andererseits (9,0 MK/1.000 Zellen; $p < 0,001$). Der Mittelwert der MK-Rate in der vorgelegten Arbeit (1,9 MK pro 1.000 Zellen) liegt deutlich niedriger. Ein Vergleich ist hier nur bedingt möglich, da die Probenauswertung zwar unter gleichen Laborbedingungen durchgeführt wurde, die Probengewinnung aber von verschiedenen Untersuchern erfolgte. In einer aktuellen Untersuchung von Ramirez & Saldanha (2002) wurde bei Karzinompatienten (signifikant) und Kontrollpersonen (nicht signifikant) ein intraindividuell Gradient der MK-Rate in der Mundhöhle gefunden. Im Oberkiefer-Vestibulum als dem am wenigsten exponierten Schleimhautareal wurden die niedrigsten Werte ermittelt (spontane MK-Bildung). Im Vergleich zu Kontrollpersonen fanden sie bei Tumorpatienten je nach Lokalisation eine 2- bis 7-fach höhere MK-Rate. Im Bereich der Wangenschleimhaut beobachteten Bloching et al. (2000) bei Tumorpatienten in Relation zu Kontrollpersonen eine 2-fach höhere MK-Rate. Die Tatsache, dass die MK-Rate intraoral einen Gradienten erkennen lässt (nicht exponiertes Areal → Prädispositionsstellen für ein Karzinom), stimmt mit der Theorie einer Feldkanzerierung überein (vgl. Bloching et al. 2000, Braakhuis et al. 2003).

5.3.2 Exogene Noxen

Im Rahmen der vorliegenden Untersuchung manifestierte sich der regelmäßige Tabakkonsum als hoch signifikanter Effektor der Mikrokernzahl (Raucher $2,44 \pm 0,95$ und Nichtraucher $1,69 \pm 0,92$ MK pro 1.000 Zellen). In früheren Untersuchungen wurden geringfügig niedrigere Werte gemessen: für Raucher $1,50 \pm 0,47$ Mikrokerne pro 1.000 Zellen und für Nichtraucher $0,55 \pm 0,32$ (Konopacka 2003). Zwischen der täglich gerauchten Zigarettenzahl bzw. der Rauchdauer und der MK-Rate wurde in der vorgelegten Arbeit eine geringe Korrelation errechnet. In einer früheren Untersuchung wurde zwischen der kumulativen Tabakexposition (in Packungsjahren) und der MK-Rate eine lineare Korrelation beobachtet (Bloching et al. 2000). Hinsichtlich der Wirkung von Alkohol auf die MK-Rate gibt es widersprüchliche Berichte. Während Reis et al. (2002) bei der isolierten Betrachtung von Alkohol ohne Tabak

eine signifikante Assoziation mit der MK-Rate fanden (im Bereich der Zunge ausgeprägter als in der Wangenregion), bestätigten Bloching et al. (2000) alters- und geschlechtsabhängig einen synergetischen Effekt von Alkohol bei gleichzeitigem Tabakkonsum. In Übereinstimmung mit Sarto et al. 1987 wurde in der vorliegenden Studie kein Zusammenhang zwischen regelmäßigem Alkoholkonsum per se und der MK-Rate gefunden. Es gilt jeweils die unterschiedlichen Studienkonzepte (Probanden, Entnahmestelle und -technik) zu berücksichtigen. Eine weitere Erklärung könnte sein, dass in der vorliegenden Arbeit im Durchschnitt ein mittlerer Alkoholkonsum von 16,6 g vorlag (Hofmann 2000).

Pastor et al. (2001) fanden, dass zwischen der Anzahl röntgenologischer Untersuchungen innerhalb der letzten drei Jahre und der MK-Rate in peripheren Lymphozyten eine positive Korrelation besteht. Sarto et al. (1987) und Moore et al. (1996) ermittelten ihrerseits bei ionisierender Strahlenexposition einen klastogenen Effekt in der bukkalen Mukosa. Kennzeichnend war eine lineare Dosis-Wirkung-Beziehung (wie bei der kumulativen Tabakexposition, s.o.) und ein Rückgang der MK-Rate auf das ursprüngliche Niveau sieben bis zwölf Tage nach Bestrahlungsende (Sarto et al. 1987). Moore et al. (1996) fanden, dass infolge einer ionisierenden Strahlenexposition ein Anstieg der MK-Rate in der bukkalen Schleimhaut auf das 16,6-fache des Basiswertes möglich ist. In der vorliegenden Untersuchung ergab die zahnärztlich-röntgendiagnostische Strahlenexposition im Verlaufe des Monats vor der Studienteilnahme keinen Einfluss auf die MK-Rate. Wenn von einer Normalisierung der MK-Zahl bereits nach einer Woche ausgegangen wird, so liegt der Grund dafür möglicherweise in einem zu grob gewählten Zeitmaßstab in dieser Studie. Die Zellen der Basalschicht gelangen in einem Zeitraum von vier bis sechs Tagen an die Oberfläche (Clausmeier 1991, zit. nach Hofmann 2000). Nach Bloching et al. (2000) ist die MK-Bildung im Bereich der Initiation einzuordnen und weist somit nur eine aktuelle Exposition nach. Zu beachten ist auch die Andersartigkeit der Strahlenart und -dosis je nach röntgendiagnostischer oder radiotherapeutischer Strahlenexposition.

Suzuki et al. (2001) beobachteten im Tierexperiment, dass ein statisches Magnetfeld (SMF) in Zellen des Knochenmarks dosis- und zeitabhängig eine Mikrokernbildung induziert, was einer Stressreaktion oder direkten klastogenen Schädigung zugeschrieben wird. Eine Exposition des Menschen gegenüber einem SMF im täglichen Leben erfolgt durch elektrische Geräte, die einen Magnetkern enthalten, Magnetresonanztomographie (MRT), Nuklearmagnetische Resonanz (NMR) und Elektronenspinresonanz (ESR).

Der fehlende Einfluss einer Schadstoffexposition in der vorliegenden Arbeit ist wahrscheinlich auf einen Interviewfehler (recall bias) zurückzuführen. Eine gezielte Erhebung

der Konzentration einer Schadstoffexposition am Arbeitsplatz ist eine arbeitsmedizinische Fragestellung und war deshalb in der vorliegenden Untersuchung nicht vorgesehen. Bei der Analyse von Schadstoffen fanden Bloching und Mitarbeiter (2000) eine signifikante Assoziation ($p=0,018$) zwischen der Exposition gegenüber organischen Lösungsmitteln und der MK-Frequenz. Andere Autoren berichten über entsprechende Effekte von polyzyklischen Kohlenwasserstoffen (Benzin bei Tankstellenmitarbeitern $1,34\pm 0,80$ vs. $0,47\pm 0,03$ MK pro 1.000 Zellen; $p<0,01$) bzw. von aliphatischen Kohlenwasserstoffen (Formaldehyd bei Mitarbeitern der Pathologie und Anatomie $0,71\pm 0,56$ % MK; n-Hexan, Toluol, Ketone bei Arbeitern aus der Schuhindustrie $0,62\pm 0,45$ % MK vs. $0,33\pm 0,30$ % MK pro 3.000 Zellen; $p<0,05$) auf Keratinozyten der bukkalen Schleimhaut (Celik et al. 2003, Burgaz et al. 2002 b).

5.3.3 Dentale Faktoren

Im Ergebnis der Analyse der Mundhygienefaktoren hinsichtlich einer Korrelation mit der MK-Rate fand sich in dieser Studie mehrheitlich kein signifikanter Einfluss.

Die objektiv eingeschätzte Qualität der Mundhygiene (PBI-Index) erwies sich in der vorgelegten Arbeit als Einflussgröße der MK-Rate ($p=0,032$). Bei Probanden mit Zahnfleischbluten sind nach Sarto et al. (1987) Artefakte durch Chromatinreste von segmentkernigen Granulozyten möglich. Um eine Verwechslung zu reduzieren, erfolgte eine Mundspülung vor der Probengewinnung. Da bei diesem Index die Erfassung von entzündlichen Prozessen im Interdentalraum — d.h. im Bereich des marginalen Parodonts — im Vordergrund steht, ist eine Induktion der Mikrokernbildung seitens parodontpathogener Faktoren zu diskutieren.

1. In der vorliegenden Studie wiesen Teilnehmer mit einer schweren Parodontalerkrankung im Durchschnitt einen Mikrokern pro 1.000 Epithelzellen mehr auf als bei Probanden mit nahezu gesundem Parodont. Literaturberichten zufolge sind Wechselwirkungen zwischen parodontpathogenen Faktoren und der Schleimhaut des OADT evident. Lang und Filippi (2004) akzentuierten, dass flüchtige Schwefelverbindungen, welche überwiegend von anaeroben gramnegativen Parodontpathogenen gebildet werden, die Permeabilität der Mundschleimhaut u.a. für Endotoxine erhöhen. Narikiyo und Mitarbeiter (2004) diskutierten den potentiellen kokarzinogenen Einfluss oraler Mikroorganismen bei der Kanzerogenese im Ösophagus. Aus den Ergebnissen der klinischen Untersuchung schlussfolgerten sie, dass parodontpathogene Keime (*Treponema denticola*, *Streptococcus anginosus*, *Streptococcus*

mitis) möglicherweise an der Karzinomentstehung im oberen Digestivtrakt mitbeteiligt sind. In einer aktuellen Analyse wurde erstmalig beobachtet, dass in bukkalen Epithelzellen invasive parodontpathogene Keime nachzuweisen sind (*Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis* und *Tannerella forsythensis*). Die Autoren postulieren für Epithelzellen der Mundschleimhaut eine intrazelluläre polymikrobielle Flora, wie sie bekannterweise für den Biofilm auf Zahnoberflächen typisch ist (Rudney et al. 2005). Inwiefern Virulenzfaktoren dieser Keime mit der Erbsubstanz interagieren, ist künftig noch zu klären. Denkbar ist ein experimenteller Ansatz mit dem Ziel zu prüfen, inwiefern frisch gewonnene subgingivale Plaque eine Mikrokernbildung induziert.

2. Auch der kariologische Status der Probanden erwies sich als bedeutsame Einflussgröße. Bemerkenswert ist, dass vordergründig die Anzahl fehlender Zähne (M/T-Index) mit der MK-Rate korrelierte, nicht aber die Zahl kariöser und gefüllter Zähne (vgl. Zahnersatz). Gleichzeitig konnte zwischen der Art des Füllungsmaterials (Kompositrestaurationen vs. Amalgam) und der MK-Zahl eine Beziehung beobachtet werden. Die Feststellung, dass Träger von dentalen Kompositrestaurationen in Relation zum weit verbreiteten Füllungsmaterial Amalgam eine höhere MK-Rate aufwiesen, ist eine klinische Bestätigung der In-vitro-Studien von Schweikel et al. (2001 & 2005). Diese Autoren fanden in vitro, dass Extrakte von fünf gängigen dentalen Kompositen mehrheitlich mutagene Effekte zeigten (MK-Induktion in der Zelllinie V79; Lungenfibroblasten) und fordern einen Austausch der mutagenen Kompositbestandteile durch mehr biokompatiblere Substanzen. Dies ist insofern von Relevanz, da kunststoffhaltige dentale Werkstoffe (in)direkt Kontakt mit der Mundschleimhaut haben (Gigola et al. 2001) und unpolymerisierte Monomere (HEMA, TEGMA, UDMA, Bis-GMA und MMA) auf diese einwirken können. In Bezug auf Amalgamfüllungen ist andererseits bekannt, dass dieselben eine prinzipielle kontinuierliche Quelle für das organische Quecksilber (überwiegend Methylquecksilber) sind, welches toxischer ist als das anorganische. Experimentelle Untersuchungen bestätigen, dass Bakterien der Mundhöhle (Streptokokken) an der Bildung des organischen Quecksilbers beteiligt sind (Heintze et al. 1983, Pizzichini et al. 2000, Leistevuo et al. 2001). Auf eine lokal-toxische Wechselwirkung zwischen Amalgam und Mundschleimhaut wurde oben im Kontext mit oralen lichenoiden Läsionen bereits eingegangen (vgl. Abschnitt 1.3.3).

3. Wenngleich im Rahmen der vorliegenden Analyse Studienteilnehmer mit kombiniert festsitzendem und herausnehmbarem Zahnersatz tendenziell eine höhere MK-Rate aufwiesen

als feststehend prothetisch rehabilitierte Probanden, konnte wie im Ames-Test keine statistische Signifikanz abgeleitet werden ($p=0,075$). Ob der Effekt auf den MMA-Gehalt, Metallionen oder die Bedeutung von herausnehmbarem Zahnersatz als Reservoir für Mikroorganismen (katalytisches Potenzial, Krogh 1990) zurückzuführen ist, konnte im Rahmen der vorliegenden Studie nicht geklärt werden. Bei der Untersuchung von zehn gängigen Prothesenbasiskunststoffen auf der Basis von Methylmethacrylat (MMA) auf Gen- und Zytotoxizität fanden Gigola et al. (2001) nur in einem Fall eine signifikante Zunahme der MK-Rate. Der Befund, dass in der vorliegenden Untersuchung zwischen der Anzahl fehlender Zähne und der MK-Rate einerseits und dem kombiniert feststehend und herausnehmbaren Zahnersatz und der MK-Rate andererseits sich eine Assoziation abzeichnet, deutet auf die Kausalität des Prothesenbasiskunststoffes (MMA) hin. Burgaz et al. (2002 a) fanden jedoch, dass Mitarbeiter von zahntechnischen Laboratorien, die Cobalt-Chrom-Molybdän-Legierungen verarbeiten (Modellgussprothesen), eine im Vergleich zur Kontrollgruppe höhere MK-Rate im Bereich der nasalen Schleimhaut erkennen ließen ($3,5\pm 1,80$ vs. $1,2\pm 0,53$ pro 1.000 Zellen; $p<0,005$). Inwiefern diese Probanden auch Prothesenkunststoff verarbeiten – dieser Faktor ist auch in Erwägung zu ziehen – lässt sich nicht nachvollziehen. Nach Schmalz & Garhammer (2002) ist eine biologische Interaktion dentaler Legierungen mit der oralen Schleimhaut grundsätzlich unter dem Aspekt der bakteriellen Adhäsion und (sub)toxischen bzw. allergischen Reaktion zu sehen, die u.a. zu entzündlichen Erscheinungen wie plaque-abhängige bzw. plaque-unabhängig Gingivitis und OLL führen können. Eine Interferenz von Metallionen, die durch Korrosion dentaler Legierungen (in Deutschland 3.000 verschiedene) freigesetzt werden, mit dem Zellmetabolismus ist für die plaque-unabhängige Entzündungsreaktion verantwortlich. Eine Untersuchung zur Wechselbeziehung zwischen entzündlicher Schleimhautveränderung im oberen Digestivtrakt und der MK-Rate haben Chang-Claude et al. (1992) durchgeführt. Sie fanden, dass zwischen einer milden Form der Ösophagitis und der MK-Zahl keine Assoziation ermittelt werden konnte.

In Anbetracht der zu erwartenden demographischen Verschiebung wird dem Zahnersatz trotz Prävention und fortschrittlicher Zahnerhaltung auch künftig eine große epidemiologische Bedeutung beigemessen (Walter et al. 1999, Roediger et al. 2003).

Im Gesamtergebnis der Untersuchung zeichnet sich ab, dass dentogene Faktoren wie folgt eine (zyto)genetisch relevante Bedeutung im intraoralen Milieu haben, die mittels Ames- und Mikrokerntest nachgewiesen werden kann (Adjustierung nach Alter, Rauch- und Trinkgewohnheiten mitberücksichtigend). Die supra- und subgingivale Plaque sowie dentale

Komposite und Prothesenbasiskunststoffe kristallisieren sich als mögliche Effektoren heraus. Während die Aussage des Ames-Tests sich auf ein gentoxisches Potenzial einer bestimmten Prüfsubstanz/Körperflüssigkeit auf der Ebene von Genmutationen des Prokaryonten *Salmonella typhimurium* bezieht (Frameshiftmutationen z.B. mit dem Stamm TA 98, Basenpaarsubstitutionen z.B. mit dem Stamm TA 100), dient der MK-Test dem indirekten Nachweis von Genom- (aneuploidogene Schädigung) und Chromosomenmutationen (klastogene Schädigung) auf der Ebene einer eukaryonten Zelle.

5.4 Kombination mehrerer Marker versus Einfachmarker

Murdoch-Kinch (1999) sieht in der Kombination digitaler Technologien und molekularer Biologie (DNA chip technology, Mikroarray-Technologie) einen potentiellen Nutzen für die Diagnostik der drei wichtigsten oralen Erkrankungen Karies, Parodontopathien und Karzinome der Mundhöhle in der Zahnmedizin des 21. Jahrhunderts.

Wissend, dass die Kanzerogenese und Metastasierung ein Mehrstufenprozess sind, wird im Rahmen des Biomonitorings denjenigen Techniken der Vorzug zu geben sein, die gleichzeitig eine Untersuchung mehrerer Biomarker ermöglichen (Bloching et al. 2001). Die Bestimmung eines genomischen und eines Proteinmarkers erscheint sinnvoll (Kelloff et al. 1996, Takes 2004). Welche der Biomarker sich in der Praxis durchsetzen werden, bleibt Gegenstand weiterer Untersuchungen. In der Literatur werden zahlreiche z.T. im Anfangsstadium der Evaluierung befindliche Screening-Methoden diskutiert. Als geeignete Untersuchungsmedien werden Speichel (Liao et al. 2000, Meyer & Zechel 2001, Streckfus & Bigler 2002, Li et al. 2004, St John et al. 2004), Serum (Baxi et al. 1991) und Schleimhautabstriche (Giese et al. 2001, Christian 2002, Maraki et al. 2004) genutzt. Da mit Hilfe der Mikroarray-Technologie ein bestimmtes Genexpressionsprofil im nicht stimulierten Speichel bestimmt werden kann, stellt dieser neue Ansatz möglicherweise ein geeignetes Mittel zur Früherkennung kanzerogener Prozesse im subklinischen Stadium dar.

5.5 Kritische Bewertung eingesetzter Testverfahren

In der Tabelle 18 sind die in dieser Studie eingesetzten Verfahren des Biomonitorings hinsichtlich ihrer Vor- und Nachteile einander gegenübergestellt (Bloching et al. 2000 et 2001)

Tabelle 18: Vor- und Nachteile des Ames- und Mikrokerntests

Vorteile des Ames-Tests	Nachteile des Ames-Test
<ul style="list-style-type: none"> - eine gentoxische Exposition der Schleimhaut des oberen Aerodigestivtraktes lässt sich nachweisen, die von im Speichel gelösten oder mit dem Speichel sezernierten Substanzen ausgeht - einfache Gewinnung von Proben im Vergleich zum MK-Test, relativ einfache Auswertung - biologische Testung von Speichelproben erfasst Kombinationseffekt (Alkohol, Tabak) - durch das Mikroverfahren wird ein hoher Automatisierungsgrad ermöglicht 	<ul style="list-style-type: none"> - Störfaktoren wie Medikamente im Speichel können den Test stören (z. B. Antibiotika) - In-vitro-Test - Mutagenität bei Prokaryonten ist auf den Menschen nicht 1:1 übertragbar, um den Sauerstoffwechsel zu simulieren werden verschiedene metabolisierende Systeme zugegeben
Vorteile des Mikrokerntests	Nachteile des Mikrokerntests
<ul style="list-style-type: none"> - kostengünstige und einfache Handhabung - nicht invasive und leichte Gewinnung des Materials - unbegrenzte Anzahl auswertbarer Zellen - Gesamteinfluss schädlicher Noxen - Ex-vivo-Test 	<ul style="list-style-type: none"> - subjektive Betrachtungsweise trotz Definition nach internationalen Kriterien, durch Ringversuche auszuschließen - Abhängigkeit von Abstrichtechnik

Bei aller Optimierung der präventiven bzw. prädiktiven Verfahren bleibt der hohe Stellenwert klinischer Untersuchung und psychologischer Führung des Patienten erhalten. Eine Barriere für Screeninguntersuchungen besteht vor allem bei bestimmten Personengruppen, die seltener an regelmäßigen Untersuchungen partizipieren, wie ältere Personen, Patienten mit sozioökonomischer Deprivation und ethnische Minderheiten (Guggenheimer et al. 1994; Lockhart et al. 1994; Pearson et al. 1999). Weitere kritische Aspekte sind die organisatorische und vor allem psychologische Komplexität solcher Maßnahmen trotz relativ einfacher klinischer Handhabung, d.h. Probengewinnung. Eine prädiktive Diagnostik kann eine psychische Belastung für den Patienten darstellen. An die Anwender wird deshalb die Forderung nach psychologischem Geschick und verantwortungsvollem Umgang gestellt.

5.6 Mögliche weiterführende Untersuchungen

Während die analytische Effizienz (Präzision) und die diagnostische Effizienz (Sensitivität, Spezifität) für den Ames- und Mikrokerntest hinreichend dokumentiert sind, bedarf es weiterer Untersuchungen, um

1. die genannten Biomarker im konkreten Einzelfall für den Patienten nutzbar zu machen (medizinische Entscheidungsfindung)¹⁰;
2. die Akzeptanz von derartigen Biomarkern unter Patienten, praktizierenden Ärzten und Krankenversicherungen abzuklären;
3. eine Kosten-Nutzen-Analyse (soziale Effektivität) durchzuführen;
4. verschiedene Biomarker hinsichtlich ihrer Aussagekraft miteinander vergleichen zukönnen (Grading-System nach dem Vorgehen von Hayes et al. (1996)).

Die vorliegende prospektive Beobachtungsstudie kann nur eine Tendenz angeben, die in einer breit angelegten prospektiven Fall-Kontroll-Studie geprüft werden sollte.¹¹

Um den Einfluss der Plaque (supra- und subgingival) im Hinblick auf eine zytogenetische Relevanz hin zu präzisieren, bedarf es zuvor eines anderen Studiendesignes als hier gewählt. Dazu sollten Extrakte/Eluate der frisch gewonnenen supra- bzw. subgingivalen Plaque – z.B. aus dem Seitenzahnbereich – in vitro untersucht werden (Ames-Test, Mikrokerntest mit Zelllinien V79, Lungenfibroblasten).

¹⁰ Der in dieser Studie vorgestellten einfaktoriellen Betrachtung ist eine mehrfaktorielle Analyse anzuschließen.

¹¹ Das Studiendesign sollte folgende drei Gruppen berücksichtigen: Probanden ohne Karzinom im OADT; Probanden mit erhöhtem Risiko, ein Karzinom im OADT zu entwickeln; Patienten mit einem Karzinom im OADT.

6 Schlussfolgerungen

Der chronische Alkohol- und Tabakkonsum als Hauptrisikofaktor für Karzinome des OADT stellt eine Einflussgröße gentoxischer Aktivität im Speichel dar.

Der unsanierte dentale Status (unterdurchschnittlich schlechter Plaque-Index, Vorhandensein kariöser Zähne, prothetisch nicht versorgtes Lückengebiss) ist unabhängig vom Alkohol- und Tabakkonsum mit einem gentoxischen Potenzial im Speichel assoziiert. Daraus lässt sich schlussfolgern, dass der supragingivale Biofilm eine zusätzliche Quelle gentoxischer Aktivität im Speichel darstellt.

Über den genauen Wirkmechanismus dentogener Einflüsse kann in dieser Arbeit keine Aussage gemacht werden.

Im Gesamtergebnis der Speicheluntersuchung wurde eine gentoxische Aktivität bei der Testserie mit dem Stamm TA 98 häufiger beobachtet als bei der Untersuchungsreihe mit dem Stamm TA 100. Der Zusatz der metabolisierenden Fraktion erwies sich in beiden Fällen als detoxifizierend.

Die Mikrokernbildung als Ausdruck gentoxischer Einflüsse zeigt eine Abhängigkeit vom Alter (geringe positive Korrelation), Geschlecht ($\text{♂} > \text{♀}$) und Tabakkonsum, wobei der Alters- und Geschlechterunterschied sich wahrscheinlich aus den Rauchgewohnheiten ergibt.

Angesichts der ermittelten Korrelation zwischen dem Papillenblutungs-Index (PBI), der Anzahl fehlender Zähne (M/T-Index) bzw. vorhandener Kompositfüllungen sowie dem Parodontalen-Screening-Index (PSI) einerseits, und der Mikrokernfrequenz andererseits, kann folgendes geschlussfolgert werden. Der Mikrokerntest zeigt tendentiell einen gentoxischen Einfluss parodontopathogener Faktoren (subgingivale Plaque) auf Epithelzellen der Mundschleimhaut auf. Inwiefern Virulenzfaktoren parodontopathogener Keime an der Entstehung aneuploidogener bzw. klastogener Schäden eine Rolle spielen, bedarf einer gezielten Abklärung.

Die Beobachtung, dass Träger von Kompositfüllungen im Vergleich zu Amalgam eine diskret höhere Mikrokernzahl aufweisen, unterstreicht die bereits aus In-vitro-Studien abgeleitete Forderung, dass die Suche nach biokompatibleren Kompositbestandteilen (Monomere) fortgesetzt werden sollte. Die erfasste Assoziation zwischen der Anzahl fehlender Zähne und der MK-Rate könnte durch den Prothesenbasiskunststoff bedingt sein (Restmonomergehalt der Prothesenbasis).

Die anfangs formulierte Hypothese bezüglich eines Zusammenhanges zwischen einer schlechten Mundhygiene mit unsanierten kariösen und parodontalen Läsionen einerseits und

den Induktionsfaktoren bzw. der Mikrokernzahl als Biomarker für Gentoxizität andererseits wird bestätigt.

Die vorliegende Untersuchung stützt die aus früheren Studien abgeleitete These, dass eine intraoral ausgeprägte mikrobielle Besiedlung neben dem Zustandekommen von kariogenen und parodontpathogenen Prozessen auch bei gentoxischen Einflüssen im OADT mitbeteiligt ist.

Die vorgelegte Untersuchung kann nur eine Tendenz wiedergeben, die in weiterführenden Untersuchungen verifiziert werden sollte.

7 Zusammenfassung

Platteneithelkarzinome des oberen Aerodigestivtraktes stellen eine globale gesundheitspolitische Herausforderung dar. Hauptrisikofaktoren sind der chronische Alkohol- und Tabakkonsum. Bei einer Inzidenzrate weltweit von 500.000 Fällen im Jahr 2000 hat sich die Prognose in den letzten Jahrzehnten nur unwesentlich verbessert. Deshalb sind Forschungsbemühungen darauf ausgerichtet, Risikopersonen frühzeitig zu erkennen (Biomarker) und bei Tumorpatienten das Tumor-staging zu individualisieren (Tumormarker). Zu prüfen war die Hypothese, dass ein destruiertes dentales Status ähnlich wie der Alkohol- und Tabakabusus signifikant mit zytogenetisch relevanten Veränderungen im intraoralen Milieu assoziiert ist.

Im Rahmen einer prospektiven klinischen Beobachtungsstudie wurden der Ames- und Mikrokerntest als etablierte gentoxikologische Prüfverfahren und Biomarker für eine kanzerogene Exposition dem dentalen Status gegenübergestellt. Der Ames-Test ist ein In-vitro-Verfahren zum Nachweis eines gentoxischen Potenzials (einer Prüfsubstanz oder eines Substanzgemisches) mittels histidindefizienten Mutantenstämmen des Keimes *Salmonella typhimurium*. Beim Mikrokerntest wird ein zytologisches Präparat auf das Vorhandensein von Mikrokernen untersucht. Zu bestimmen war die Revertanzahl der Stämme TA 98 und TA 100 des Prokaryonten *Salmonella typhimurium* nach Inkubation mit einer Speichelprobe (IF), mit und ohne Zusatz einer metabolisierenden Fraktion. Ferner wurde lichtmikroskopisch die Mikrokernfrequenz pro 1.000 bukkaler Mukosaepithelzellen ermittelt. Für die Untersuchung wurden 100 Probanden im Alter zwischen 30 und 60 Jahren konsekutiv rekrutiert, die sich in allgemeinärztlicher Behandlung befanden.

In der vorgelegten Untersuchung wurde zwischen allgemeinanamnestisch erfassten Faktoren wie Alter, Geschlecht, Komorbidität, Einnahme von Dauermedikamenten, sozioökonomischen Faktoren und einer gentoxischen Aktivität im Speichel keine Assoziation ermittelt. Bei der isolierten Betrachtung der Schadstoffexposition am Arbeitsplatz, eines chronischen Alkohol- und Tabakkonsums ergaben lediglich die beiden letztgenannten Noxen einen signifikanten Zusammenhang mit einer gentoxischen Speichelqualität (Alkohol $p=0,032$, Tabak $p<0,001$). Der Alkohol- und Tabakkonsum im Probandenkollektiv zeigte (signifikante) geschlechterspezifische Unterschiede mit einer Dominanz des männlichen Geschlechts (Tabak, $p=0,017$; regelmäßiger Alkoholkonsum, $p=0,286$). Nichtraucher waren häufiger gleichzeitig abstinent (62,7 % von $n=67$) und Raucher haben häufiger regelmäßig Alkohol konsumiert (53,1 % von $n=32$; $p=0,035$). Variablen der individuellen Mundhygiene

(Häufigkeit, Gebrauch von Mundspüllösungen, Fluoridierungsmitteln sowie von Hilfsmitteln zur Interdentalhygiene) hatten keinen bedeutsamen Einfluss auf die Revertanzahl. Im Gesamtkollektiv entfielen 75% der gentoxischen Speichelproben (n=24) auf Teilnehmer mit einem schlechten Plaque-Index ($p=0,050$). Mit zunehmender Anzahl kariöser Zähne (DMF/T-Index) nahm auch die Anzahl gentoxischer Speichelproben zu ($p=0,017$), während die Art des Füllungsmaterials ($p\geq 0,104$) und der parodontale Status keine Konsequenz hatten ($p=0,491$). Bei der Untersuchung mit dem Stamm TA 98 hatten prothetisch nicht rehabilitierte Teilnehmer in Relation zu festsitzend Versorgten hoch signifikant häufiger eine gentoxische Speichelprobe ($p=0,009$).

Neben einer Alters- und Geschlechterabhängigkeit der Mikrokernzahl fand sich im Mikrokerntest eine deutliche Assoziation mit dem Raucherstatus ($p<0,001$). Das Berücksichtigen des Trinkverhaltens für sich ergab keinen Zusammenhang mit der Mikrokernhäufigkeit ($p=0,376$). Dies traf auch für den Zeitpunkt (bezogen auf den letzten Monat vor der Studienteilnahme) der letzten zahnärztlich-röntgenologischen Untersuchung ($p=0,435$) und eine Schadstoffexposition am Arbeitsplatz zu ($p=0,127$).

Studienteilnehmer mit einem unterdurchschnittlich schlechten kariologischen Befund (hohe Anzahl fehlender Zähne, $p=0,037$) und Papillenblutungsindex (PBI, $p=0,032$) bzw. parodontalen Status (PSI, $p=0,042$) hatten eine höhere Mikrokernzahl im Vergleich zu sanierten dentalen Verhältnissen (adjustiert nach Alter). Probanden mit Kompositrestaurationen hatten in Relation zu Amalgam eine höhere MK-Rate ($p=0,006$). Dagegen konnte in Bezug auf den prothetischen Status keine Abhängigkeit kenntlich gemacht werden ($p\geq 0,075$). Bei der Untersuchung des Speichels und der Zytologie unter dem Aspekt einer Assoziation mit dentalen Faktoren wurde ein Confounding seitens Alkohol und Tabak ausgeschlossen.

Es kann geschlussfolgert werden, dass der dentale Status als unabhängiger Faktor eine komplexe gentoxikologisch relevante biologische Wechselwirkung mit dem Speichel und den Epithelzellen der Mukosa des OADT hat. Diese Wechselbeziehung tritt an verschiedenen genetischen Endpunkten in Erscheinung. Neben den Möglichkeiten des opportunistischen Tumorscreenings in der Zahnarztpraxis könnten Biomarker künftig einen sinnvollen Beitrag zur Früherkennung einer kanzerogenen Exposition im OADT leisten. Dabei muss berücksichtigt werden, dass Multimarkensysteme dem Einsatz eines einzelnen Markers vorzuziehen sind (Mikroarray-Technologie). Die vorliegende Arbeit kann nur eine Tendenz wiedergeben, die in breit angelegten Studien überprüft werden soll.

8 Literatur

1. Abdelsayed RA, Summer T, Allen CM, Treadway A, Ness GM, Penza SL: Oral precancerous and malignant lesions associated with graft-versus-host disease: report of two cases. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 93 (2002) 75-80.
2. Aceves Avila FJ, Esquivel Nava GA, Gallegos Arreola MP, Gomez Meda B, Zuniga Gonzales G, Ramos-Remus C: Cyclophosphamide boluses induce micronuclei expression in buccal mucosa cells of patients with systemic lupus erythematosus independent of cytochrome P450 2D6 status. *J Rheumatol* 31 (2004) 1335-1339.
3. Ahlberg J, Tuominen R, Murtomaa H: Oral mucosal changes and associated factors among male industrial workers with or without access to subsidized dental care. *Acta Odontol Scand* 54 (1996) 217-222.
4. Albandar JM, Buischi YAP, Axelsson P: Caries lesions and dental restorations as predisposing factors in the progression of periodontal diseases in adolescents. A 3-year longitudinal study. *J Periodontol* 66 (1995) 249-254.
5. Ankathil R, Bhattathiri NV, Francis JV, Ratheesan K, Jyothish B, Chandini R, Roy DD, Elizabeth AK, Nair MK: Mutagen sensitivity as a predisposing factor in familial oral cancer. *Int J Cancer (Pred. Oncol.)* 69 (1996) 265-267.
6. Badawi AF, Hosny G, El-Hadary M, Mostafa MH: Salivary nitrate, nitrite and nitrate reductase activity in relation to risk of oral cancer in Egypt. *Dis Mark* 14 (1998) 91-97.
7. Balaram P, Sridhar H, Rajkumar T, Vaccarella S, Herrero R, Nandakumar A: Oral cancer in southern India: The influence of smoking, drinking, paan-chewing and oral hygiene. *Int J Cancer* 98 (2002) 440-445.
8. Barth TJ, Zöller J, Kübler A, Born A, Osswald H: Redifferentiation of oral dysplastic mucosa by the application of the antioxidants Beta-carotene, α -Tocopherol and Vitamin C. *Internat J Vit Nutr Res* 67 (1997) 368-376.
9. Basu A, Ghosh P, Das JK, Banerjee A, Ray K, Giri AK: Micronuclei as biomarkers of carcinogen exposure in populations exposed to arsenic through drinking water in West Bengal, India: a comparative study in three cell types. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 13 (2004) 820-827.
10. Baxi BR, Patel PS, Adhvaryu SG, Dayal PK: Usefulness of serum Glycoconjugates in precancerous and cancerous diseases of the oral cavity. *Cancer* 1 (1991) 135-140.
11. Bedi R, Butterworth M, Craig G, Langdon J, Lowndes P, Nolan A: Opportunistic oral cancer screening. In Occasional Paper. British Dental Association, London, April 6 (2000) S.1-36.
12. Beerenblum I: The mechanism of carcinogenesis: A study of the significance of carcinogenetic actions and related phenomena. *Cancer Res* 1 (1941) 807-814.

13. Beliën JAM, Copper MP, Braakhuis BJM, Snow GB, Baak JPA: Standardization of counting micronuclei: definition of a protocol to measure genotoxic damage in human exfoliated cells. *Carcinogenesis* 16 (1995) 2395-2400.
14. Bengel W: Früherkennung parodontaler Erkrankungen: Der parodontale Screening Index (PSI). *Quintessenz Team J* 32 (2002) 19-23.
15. Bernstein ML, Carlish L: The induction of hyperkeratotic white lesions in hamster cheek pouches with mouthwash. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 48 (1979) 517-522.
16. Bloching M, Hofman A, Berghaus A, Lautenschläger C, Grummt T: Mikrokerne als Biomarker zum Nachweis der Feldkanzerierung im oberen Aerodigestivtrakt. *HNO* 48 (2000) 444 – 450.
17. Bloching M, Stephan D, Agha-Mir-Salim P, Berghaus A, Lautenschläger C, Grummt T: Der Ames-Test als Biomarker. *HNO* 49 (2001) 440- 446.
18. Boring CC, Squires TS, Tong T: Cancer statistics. *CA Cancer J Clin* 43 (1993) 7-26.
19. Boveri T: Zur Frage der Entstehung maligner Tumoren. Gustav Fischer Verlag, Jena, 1914, S. 1-64.
20. Braakhuis JM, Tabor MP, Leemans CR, van der Waal I, Snow GB, Brakenhoff RH: Second primary tumors and field canceration in oral and oropharyngeal cancer: molecular techniques provide new insights and definitions. *Head & Neck* 2 (2002) 198-206.
21. Braakhuis BJ, Tabor MP, Kummer JA, Leemanns CR, Brakenhoff RH: A genetic explanation of Slaughter's concept of field cancerization: evidence and clinical implications. *Cancer Res* 63 (2003) 1727-1730.
22. Brunnemann KD, Prokopczyk B, Djordjevic MV, Hoffmann D: Formation and analysis of tobacco-specific N-Nitrosamines. *Crit Rev Toxicol* 26 (1996) 121-137.
23. Kommission "Human-Biomonitoring" des Bundesumweltamtes: Human-Biomonitoring: Definition, Möglichkeiten und Voraussetzungen. *Bundesgesundheitsbl* 39 (1996) 213-214.
24. Burgaz S, Demircigil GC, Yilmazer M, Ertas N, Kemaloglu Y, Burgaz Y : Assessment of cytogenetic damage in lymphocytes and in exfoliated nasal cells of dental laboratory technicians exposed to chromium, cobalt, and nickel. *Mutat Res* 521 (2002 a) 47-56.
25. Burgaz S, Erdem O, Cakmak G, Erdem N, Karakaya A, Karakaya AE: Cytogenetic analysis of buccal cells from shoe-workers and pathology and anatomy laboratory workers exposed to n-hexane, toluene, methyl ethyl ketone and formaldehyde. *Biomarkers* 7 (2002 b) 151-161.
26. Califano J, van der Riet P, Westra W, Nawroz H, Clayman G, Piantadosi S, Corio R, Lee D, Greenberg B, Koch W, Sidransky D: Genetic progression model for head and neck cancer: implications for field cancerization. *Cancer Res* 56 (1996) 2488-2492.
27. Carrano AV, Natarajan AT : Considerations for population monitoring using cytogenetic techniques. *Mutat Res* 204 (1987) 379-406.

28. Celik A, Cavas T, Ergene-Gozukara S: Cytogenetic biomonitoring in petrol station attendants: micronucleus test in exfoliated buccal cells. *Mutagenesis* 18 (2003) 417-421.
29. Chang-Claude J, Shimada H, Munoz N, Wahrendorf J, Liang QS, Rei YG, Crespi M, Raedsch R, Correa P: Micronuclei in esophageal cells of Chinese youths in a high-incidence area for esophageal cancer in China. *Cancer Epidemiol Biomark Prev* 1 (1992) 463-466.
30. Christian DC: Computer-assisted analysis of oral brush biopsies at an oral cancer screening program. *J Am Dent Assoc* 133 (2002) 357-360.
31. Crosher R, Mc Ilroy R: The incidence of other primary tumours in patients with oral cancer in Scotland. *Br J Oral Maxillofac Surg* 36 (1998) 58-62.
32. Cruz IBF, Snijders PJF, Steenbergen RDM, Meijer CJLM, Snow GB, Walboomers JMM, van der Waal I: Age-dependence of human papillomavirus DNA presence in oral squamous cell carcinomas. *Oral Oncol Eur J Cancer* 32B (1996) 55-62.
33. Cruz GD, Le Geros RZ, Ostroff JS, Hay JL, Kenigsberg H, Franklin DM : Oral cancer knowledge, risk factors and characteristics of subjekts in a large oral screening program. *J Am Dent Assoc* 133 (2002) 1064-1071.
34. Das BR, Nagpal JK : Understanding the biology of oral cancer. *Med Sci Monit* 8 (2002) 258-267.
35. Day GL, Blot WJ: Second primary tumors in patients with oral cancer. *Cancer* 70 (1992) 14-19.
36. De Jongh A: Clinical characteristics of somatisation in dental practice. *Br Dent J* 195 (2003) 151-154.
37. Deklaration des Weltärztebundes von Helsinki: Ethische Grundsätze für die medizinische Forschung am Menschen. Weltärztebund (2000) 104-108, online publiziert: <http://www.bundesaerztekammer.de/30/Auslandsdienst/92Helsinki2002.pdf>.
38. Drangsholt MT: A new causal model of dental diseases associated with endocarditis. *Annals Periodontol* 3 (1998) 184-196.
39. Eckert AW, Lautner MHW, Maurer P, Bilkenroth U, Hauptmann S, Schubert J: The prognostic value of Glut-1 in oral squamous cell carcinomas. *J Dent Res* 84 (2005) SpecI iss. A, abstract 2749.
40. Evans HJ, Neary GJ, Williamson FS: The relative biological efficiency of single doses of fast neutrons and gamma-rays on *Vicia faba* roots and the effect of oxygen. Part II. Chromosome damage: the production of micronuclei. *Int J Radiat Biol* 1 (1959) 216-229.
41. Fatahzadeh M, Rinaggio J, Chiodo T: Squamous cell carcinoma arising in an oral lichenoid lesion. *J Am Dent Assoc* 135 (2004) 754-759.
42. Fenech M: The in vitro micronucleus technique. *Mutat Res* 455 (2000) 81-95.
43. Fenech M: Micronutrients and genomic stability: a new paradigm for recommended dietary allowances (RDAs). *Food Chem Toxicol* 40 (2002) 1113-1117.

44. Fischer HC, Funk GF, Karnell LH, Arcuri MR: Association between selected demographic parameters and dental status: Potential implication for orodental rehabilitation. *J Prosthet Dent* 79 (1998) 526-531.
45. Folwaczny M, Hickel R: Orale Infektionen bei Patienten mit Immunsuppression. *Dtsch Zahnärztl Z* 57 (2002) 455-461.
46. Franceschi S, Munoz N, Bosch XF, Suijders PJ, Walboomers JM: Human papilloma-virus and cancer of the upper aerodigestive tract: a review of epidemiological and experimental evidence. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 5 (1996) 567-575.
47. Franceschi S, Barzan L, Talamini R: Screening for cancer of the head and neck: if not now, when? *Oral Oncol* 33 (1997) 313-316.
48. Garewal HS, Ramsey L, Kaugars G, Boyle J: Clinical experience with the micronucleus assay. *J Cell Biochem Suppl* 17F (1993) 206-212.
49. Giese M, Friedrich RE, Riethdorf S, Löning T: p53-Mutationsnachweis in Abstrichen der Mundschleimhaut von Patienten mit oralem Plattenepithelkarzinom. *Mund Kiefer GesichtsChir* 5 (2001) 37-43.
50. Gigola P, Monarca S, Feretti D, Zerbini I, D'Argenio D: Evaluation of the clastogenic activity of some resins used in the prosthodontic field. *Minerva Stomatol* 50 (2001) 361-371.
51. Girod SC, Pfeifer P, Ries J, Pape HD: Proliferative activity and loss of function of tumour suppressor genes as `biomarkers` in diagnosis and prognosis of benign and preneoplastic oral lesions and oral squamous cell carcinoma. *Br J Oral Maxillofac Surg* 36 (1998) 252-260.
52. Gorsky M, Epstein JB: Head and neck and intra-oral soft tissue sarcomas. *Oral Oncol* 34 (1998) 292-296.
53. Greenwood M, Thomson PJ, Lowry RJ, Steen IN: Oral cancer: material deprivation, unemployment and risk factor behavior — an initial study. *Int J Oral Maxillofac Surg* 32 (2003) 74-77.
54. Guggenheimer J, Hoffman RD: The importance of screening edentulous patients for oral cancer. *J Prosthet Dent* 72 (1994) 141-143.
55. Ha PA, Califano JA: The molecular biology of mucosal field cancerization of the head and neck. *Crit Rev Oral Biol Med* 14 (2003) 363-369.
56. Hara H, Ozeki S, Shiratsuchi Y, Tashiro H, Jingu K: Familial Occurance of Oral Cancer: Report of Cases. *J Oral Maxillofac Surg* 46 (1988) 1098-1102.
57. Harty LC, Caporaso NE, Hayes RB, Winn DM, Bravo-Otero E, Blot WJ, Kluman DV, Brown LM, Armenian HK, Fraumeni JF Jr, Shields PG: Alcohol dehydrogenase 3 genotype and risk of oral cavity and pharyngeal cancers. *J Natl Cancer Inst* 89 (1997) 1698-1705.
58. Hase JC, Birkhed D: Oral sugar clearance in elderly people with prosthodontic reconstructions. *Scand J Dent Res* 99 (1991) 333-339.

59. Hashibe M, Jacob BJ, Thomas G, Ramadas K, Mathew B, Sankaranarayanan R, Zhang ZF : Socioeconomic status, lifestyle factors and oral premalignant lesions. *Oral Oncol* 39 (2003) 664-671.
60. Hayes DF, Bast RC, Desch CE, Fritsche H Jr, Kemeny NE, Jessup JM, Locker GY, Macdonald JS, Mennel RG, Norton L, Ravdin P, Taube S, Winn RJ: Tumor marker utility grading system: a framework to evaluate clinical utility of tumor markers. *J Natl Cancer Inst* 88 (1996) 1419-1420.
61. Heddle JA, Carrano AV: The DNA content of micronuclei induced in mouse bone marrow by gamma-irradiation: evidence that micronuclei arise from acentric chromosomal fragments. *Mutat Res* 44 (1977) 63-69.
62. Heintze U, Edwardsson S, Derand T, Birkhed D: Methylation of mercury from dental amalgam and mercuric chloride by oral streptococci in vitro. *Scand J Dent Res* 91 (1983) 150-152.
63. Hellwig E, Klimek J, Attin T: Einführung in die Zahnerhaltung. Urban & Schwarzenberg Verlag, München, Wien, Baltimore, 1995, S. 318-324.
64. Hirsch C: Kommerzielle Speicheltests zur Kariesrisikobestimmung bei Kindern und Jugendlichen. *ZMK* 12 (1999) 786-790.
65. Hobdell MH, Oliveira ER, Bautista R, Myburgh NG, Lalloo R, Narendran S, Johnson NW: Oral diseases and socio-economic status (SES). *Br Dent J* 194 (2003) 91-96.
66. Hofmann AM: Nachweis der Feldkanzerierung im oberen Aerodigestivtrakt mit Hilfe des Mikrokerntestes. Dissertation, Medizinische Fakultät der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg (2000) 1-80.
67. Homann N, Tillonen J, Meurman JH, Rintamäki H, Lindqvist C, Rautio M, Jousimies-Somer H, Salaspuro M: Increased salivary acetaldehyde levels in heavy drinkers and smokers: a microbiological approach to oral cavity cancer. *Carcinogenesis* 21 (2000) 663-668.
68. Homann N, Tillonen J, Rintamäki H, Salaspuro M, Lindqvist C, Meurman JH: Poor dental status increases acetaldehyde production from ethanol in saliva: a possible link to increased oral cancer risk among heavy drinkers. *Oral Oncol* 37 (2001) 153-158.
69. Humphrey SP, RDH, MSED, Williamson RT, DMD: A review of saliva: Normal composition, flow, and function. *J Prosthet Dent* 85 (2001) 162-169.
70. IARC Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans and their supplements: A complete list, online publiziert (2002), <http://www-cie.iarc.fr/monoeval/allmonos.html>.
71. Imfeld T, Lutz F: Ist orale Prävention allgemeinmedizinisch relevant? *Schweiz Monatszeitschr Zahnmed* 105 (1995) 355-358.
72. Iype EM, Pandey M, Mathew A, Thomas G, Sebastian P, Nair MK: Oral cancer among patients under the age of 35 years. *J Postgrad Med* 47 (2001) 171-176.

73. Jainkittivong A, Aneksuk V, Langlais RP: Oral mucosal conditions in elderly dental patients. *Oral Dis* 8 (2002) 218-223.
74. Jeng JH, Wang YJ, Chiang BL, Lee PH, Chan CP, Ho YS, Wang TM, Lee JJ, Hahn LJ, Chang MC: Roles of keratinocyte inflammation in oral cancer: regulating the prostaglandin E2, interleukin-6 and TNF-alpha production of oral epithelial cells by areca nut extract and arecoline. *Carcinogenesis* 24 (2003) 1301-1315.
75. Johnson NW: Orofacial neoplasms: global epidemiology, risk factors and recommendations for research. *Int Dent J* 41 (1991) 365-375.
76. Kaplan C, Diril N, Sahin S, Cehreli MC: Mutagenic potential of dental cements as detected by the Salmonella/microsome test. *Biomaterials* 25 (2004) 4019-4027.
77. Kelloff GJ, Boone CW, Crowell JA, Nayfield SG, Hawk E, Malone WF, Steele VE, Lubet RA: Risk biomarkers and current strategies for cancer chemoprevention. *J Cell Biochem Suppl* 25 (1996) 1-14.
78. Kleinsasser NH, Weissacher H, Wallner BC, Kastenbauer ER, Harreu UA: Cytotoxicity and genotoxicity of fluorides in human mucosa and lymphocytes. *Laryngorhinootologie* 80 (2001) 187-190.
79. Kleinsasser NH, Wallner BC, Harreus UA, Kleinjung T, Folwaczny M, Hickel R, Kehe K, Reichl FX: Genotoxicity and cytotoxicity of dental materials in human lymphocytes as assessed by the single cell microgel electrophoresis (comet) assay. *J Dent* 32 (2004) 229-234.
80. Klinger G, Seifert M, Klinger G, Möller U: Inwieweit stellt eine Parodontitis während der Schwangerschaft ein Risiko für das Neugeborene dar? *Dtsch Zahnärztl Z* 57 (2002) 227-229.
81. Konopačka M: Effekt of smocking and aging on micronucleus frequencies in human exfoliated buccal cells. *Neoplasma* 50 (2003) 380-382.
82. Kostoryz EL, Eick JD, Glaros AG, Judy BM, Welshons WV, Burmaster S, Yourtee DM: Biocompatibility of hydroxylated metabolites of Bis GMA and BFDGE. *J Dent Res* 82 (2003) 367-371.
83. Kostoryz EL, Smith RE, Glaros AG, Chappelow CC, Eick JD: In vitro mutagenicity and metabolism of the cycloaliphatic epoxy cyracure UVR 6105. *Mutat Res* 563 (2004) 25-34.
84. Kramer FJ, Jansen M, Eckardt A: Second primary tumours in oropharyngeal squamous cell carcinoma. *Clin Oral Invest* 8 (2004) 56-62.
85. Krogh P, Hald B, Holmstrup P: Possible mycological etiology of oral mucosal carcinoma: catalytic potential of infecting *Candida albicans* and other yeasts in production of N-nitrosobenzyl-ethylamine. *Carcinogenesis* 8 (1987) 1543-1548.
86. Krogh P: The role of yeasts in oral cancer by means of endogenous nitrosation. *Acta Odontol Scand* 48 (1990) 85-88.

87. Kruk-Zagajewska A, Smeja Z, Piatkowski K, Pazdrowski J, Karlik M: Oral cavity and oropharyngeal carcinomas in the material of ENT Department University of Medical Sciences in Posnan. *Otolaryngol Polsk* LV 4 (2001) 377-382.
88. Lamey PJ, Douglas PS, Napier SS: Secretor status and oral cancer. *Br J Oral Maxillofac Surg* 32 (1994) 214-217.
89. Lang B, Filippi A: Halitosis — Teil1: Epidemiologie und Entstehung. *Schweiz Monatsschr Zahnmed* 144 (2004) 1037-1043.
90. Lautenbach E: Wörterbuch Zahnmedizin. Verlag für Zahnmedizin, Hanau, 1992, S. 1294.
91. La Vecchia C, Tavani A, Franceschi S, Levi E, Corrao G, Negri E: Epidemiology and prevention of oral cancer. *Oral Oncol* 33 (1997) 302-312.
92. Leistevuo J, Leistevuo T, Helenius H, Pyy L, Österblad M, Huovinen P, Tenovuo J: Dental amalgam fillings and the amount of organic mercury in human saliva. *Caries Res* 35 (2001) 163-166.
93. Li Y, St. John M, Zhou X, Kim Y, Sinha U, Jordan R, Eisele D, Abemayor E, Elashoff D, Park NH, Wong DT: Salivary transcriptome diagnostics for oral cancer detection. *Clin Cancer Res* 10 (2004) 8442-8450.
94. Liao PH, Chang YC, Huang MF, Tai KW, Chou MY: Mutation of p53 gene codon 63 in saliva as a molecular marker for oral squamous cell carcinomas. *Oral Oncol* 36 (2000) 272-276.
95. Lim K, Moles DR, Downer MC, Speight PM: Opportunistic screening for oral cancer and precancer in general dental practice: results of a demonstration study. *Br Dent J* 194 (2003) 497-502.
96. Llewellyn CD, Johnson NW, Warnakulasuriya KAAS: Risk factors for squamous cell carcinoma of the oral cavity in young people — a comprehensive review. *Oral Oncol* 37 (2001) 401-418.
97. Lockhart PB, Clark J, Charlotte NC: Pretherapy dental status of patients with malignant conditions of the head and neck. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 77 (1994) 236-41.
98. Lockhart PB, Norris Jr CM, Pulliam C: Dental factors in the genesis of squamous cell carcinoma of the oral cavity. *Oral Oncol* 34 (1998) 133-139.
99. Löffler G, Petrides PE: Biochemie und Pathobiochemie. 7. Aufl. Springer Verlag Berlin, Heidelberg, New York, 2003, S. 1160-1176.
100. Mack F, Mundt T, Mojon P, Budtz-Jørgensen E, Schwahn C, Bernhardt O, Gesch D, John U, Kocher T, Biffar R: Study of health in Pomerania (SHIP): Relationship among socioeconomic and general health factors and dental status among elderly adults in Pomerania. *Quintessence Int* 34 (2003) 772-778.
101. Magnin P, Stuck M, Meier E, Kägi M, Lussi A, Braathen L, Buser D: Amalgamassoziierte lichenoidale Mundschleimhautläsionen: Füllungersatztherapie. *Schweiz Monatschr Zahnmed* 113 (2003) 143-150.

102. Maier H, Dietz A, Gewelke U, Seitz HK, Heller WD: Tobacco- and alcohol-associated cancer risk of the upper respiratory and digestive tract. *Laryngorhinootolog* 69 (1990) 505-511.
103. Maier H, Zoeller J, Kreiss M, Sennewald E, Heller WD: Mundhygiene und Zahnstatus bei Patienten mit Plattenepithelkarzinomen des oberen Aerodigestivtraktes. *HNO* 39 (1991) 227-232.
104. Mao L, Lee JS, Fan YH et al. : Frequent microsatellite alterations at chromosomes 9p21 and 3p14 in oral premalignant lesions and their value in cancer risk assessment. *Nature Med* 6 (1996) 682-685.
105. Maraki D, Becker J, Boecking A: Cytologic and DNA-cytometric very early diagnosis of oral cancer. *J Oral Pathol Med* 33 (2004) 398-404.
106. Martin GC, Brown JP, Eifler CW, Houston GD: Oral leukoplakia status six weeks after cessation of smokeless tobacco use. *J Am Dent Assoc* 130 (1999) 945-954.
107. Matthias C, Jahnke V, Fryer AA, Strange RC: First results on the influence of polymorphisms at glutathion S-transferase, cytochrom P450, and tumor necrosis factor gene loci on the development of multiple head and neck cancer. *Laryngorhinootologie* 82 (2003) 25-30.
108. McCann J, Ames BN: Detection of carcinogens as mutagens in the Salmonella/microsome test: assay of 300 chemicals: discussion. *Proc Natl Acad Sci USA* 73 (1976) 950-954.
109. Meyer P, Zechel T: Quantitative Untersuchung an den Enzymen Lysozym und Phosphohexoseisomerase im Speichel beim oralen Plattenepithelkarzinom. *HNO* 49 (2001) 626-629.
110. Micheelis W, Reich E: Dritte Deutsche Mundgesundheitsstudie (DMS III). Deutscher Ärzte-Verlag, Köln, 1999, S. 21-34, 132-136, 247-336.
111. Milillo L, Lo Muzio L, Carlino P, Serpico R, Coccia E, Scully C: Candida-related denture stomatitis: A pilot study of the efficacy of an amorolfine antifungal varnish. *Int J Prosthodont* 18 (2005) 55-59.
112. Mohan S, Epstein JB: Carcinogenesis and cyclooxygenase: the potential role of COX-2 inhibition in upper aerodigestive tract cancer. *Oral Oncol* 39 (2003) 537-546.
113. Moore LE, Warner ML, Smith AH, Kalman D, Smith MT: Use of fluorescent micronucleus assay to detect the genotoxic effects of radiation and arsenic exposure in exfoliated human epithelial cells. *Environ Mol Mutagen* 27 (1996) 176-184.
114. Moreno-Lopez LA, Esparza-Gomez GC, Gonzalez-Navarro, Cerero-Lapiedra R, Gonzalez-Hernandez MJ, Domingues-Rojas V: Risk of oral cancer associated with tobacco smoking, alcohol consumption and oral hygiene: a case-control study in Madrid, Spain. *Oral Oncol* 36 (2000) 170-174.
115. Moynihan P: The British Nutrition Foundation Oral Task Force Report – issues relevant to dental health professionals. *Br Dent J* 188 (2000) 308-312.

116. Munoz N, Cardis E, Teuchmann S: Comparative epidemiological aspects of oro-genital cancers. In: Papillomavirus in human pathology. Recent progress in epidermoid precancers. Raven Press, New York, Volume 78 (1990) S. 1-12.
117. Murdoch-Kinch CA: Oral medicine: advances in diagnostic procedures. *J Calif Dent Assoc* 27 (1999) 782-784.
118. Muto M, Hitomi Y, Ohtsu A, Shimad H, Kashiwase Y, Sasaki H, Yoshida S, Esumi H: Acetaldehyd production by non-pathogenic Neisseria in human oral microflora: implications for carcinogenesis in upper aerodigestive tract. *Int J Cancer* 88 (2000) 342-350.
119. Nair J, Ohshima H, Nair UJ, Bartsch H: Endogenous formation of nitrosamines and oxidative DNA-damaging agents in tobacco users. *Crit Rev Toxicol* 26 (1996) 149-161.
120. Narikiyo M, Tanabe C, Yamada Y, Igaki H, Tachimori Y, Kato H, Mu M, Montesano R, Sakamoto H, Nakajima Y, Sasaki H: Frequent and preferential infection of *Treponema denticola*, *Streptococcus mitis*, *Streptococcus anginosus* in esophageal cancers. *Cancer Sci* 95 (2004) 569-574.
121. Nunn ME: Understanding the etiology of periodontitis: an overview of periodontal risk factors. *Periodontology* 2000 23 (2003) 11-23.
122. Ohshima H, Bartsch H: Chronic infections and inflammatory processes as cancer risk factors: possible role of nitric oxide in carcinogenesis. *Mutat Res* 305 (1994) 253-264.
123. Parisi DM, Pritchard ET: Activation of rutin by human oral bacterial isolates to the carcinogen-mutagen quercetin. *Arch Oral Biol* 28 (1983) 583-590.
124. Pastor S, Gutierrez S, Creus A, Xamena N, Piperakis S, Marcos R: Cytogenetic analysis of Greek farmers using the micronucleus assay in peripheral lymphocytes and buccal cells. *Mutagenesis* 16 (2001) 539-545.
125. Pearson N, Croucher R, Marcenes W, O'Farrell M: Dental service use and the implications for oral cancer screening in a sample of Bangladeshi adult medical care users living in Tower Hamlets, UK. *Br Dent J* 186 (1999) 517-521.
126. Péres MA, Raimondi AR, Itoiz ME: An experimental model to demonstrate the carcinogenic action of oral chronic traumatic ulcer. *J Oral Pathol Med* 34 (2005) 17-22.
127. Petridou E, Zavras AI, Lefatzis D, Dessypris N, Laskaris G, Dokianakis G, Segas J, Douglas CW, Diehl SR, Trichopoulos D: The role of diet and specific micronutrients in the etiology of oral carcinoma. *Cancer* 6 (2002) 2981-2988.
128. Pitiphat W, Merchant AT, Rimm EB, Joshipura KJ: Alcohol consumption increases periodontitis risk. *J Dent Res* 82 (2003) 509-513.
129. Pizzichini M, Fonzi M, Gasparoni A, Fonzi L: Salivary mercury levels in healthy donors with and without amalgam fillings. *Bull Group Int Rech Sci Stomatol Odontol* 42 (2000) 88-93.
130. Pschyrembel W: *Klinisches Wörterbuch*. 257. Aufl. De Gruyter Verlag, Berlin, New York, 1994, S. 1580-1582.

131. Ramirez A, Saldanha PH: Micronucleus investigation of alcoholic patients with oral carcinomas. *Genet Mol Res* 1 (2002) 246-260.
132. Ramos-Remus C, Dorazco-Barragan G, Aceves-Avila FJ, Alcaraz-Lope F, Fuentes-Ramirez F, Michel-Diaz J, Torres-Bugarin O, Ventura-Aguilar A, Zuniga-Gonzales G: Genotoxicity assessment using micronuclei assay in rheumatoid arthritis patients. *Clin Exp Rheumatol* 20 (2002) 208-212.
133. Reichart PA: Primärprävention des Mundhöhlenkarzinoms und oraler Präkanzerosen. *Mund Kiefer GesichtsChir* 4 (2000) 357-364.
134. Reichart PA : Identification of risk groups for oral precancer and cancer and preventive measures. *Clin Oral Invest* 5 (2001) 207-213.
135. Reichart PA: Orale präkanzeröse Konditionen – eine Übersicht. *Mund Kiefer GesichtsChir* 7 (2003) 201-207.
136. Reis SR, Sadigursky M, Andrade MG, Soares LP, Espirito Santo AR, Vilas Boas DS: Genotoxic effect of ethanol on oral mucosa cells. *Perqui Odontol Bras* 16 (2002) 221-225.
137. Riethdorf S, Friedrich RE, Suhworld J, Ostwald C, Barten M, Gogasz P, Gundlach KK, Schlechte H, Becker J, Bregenzer T, Riethdorf L, Löning T: p53-Mutationen und HPV-Infektionen in Plattenepithelkarzinomen der Kopf-Hals-Region. *Mund Kiefer GesichtsChir* 2 (1998) 30-34.
138. Robert-Koch-Institut, online publiziert (2004)
<http://www.rki.de/>.
139. Rocha EP, Francisco SB, Del Bel Cury AA, Cury JA: Longitudinal study of the influence of removable partial denture and chemical control on the levels of *Streptococcus mutans* in saliva. *J Oral Rehab* 30 (2003) 131-138.
140. Röckl-Wiedmann I, Meyer N, Fischer R, Laubereau B, Weitkunat R, Überla K: Schichtspezifische Inanspruchnahme medizinischer Leistungen und Vorsorgeverhalten in Bayern: Ergebnisse einer repräsentativen Bevölkerungsbefragung. *Soz Präventivmed* 47 (2002) 307-317.
141. Roediger J, Koch R, Walter MH: Risikoprädiktoren für Zahnverlust – Analyse bevölkerungsrepräsentativer Mundgesundheitsdaten für Sachsen. *Dtsch Zahnärztl Z* 58 (2003) 2 116-122.
142. Roy MK, Kuwabara Y, Hara K, Watanabe Y, Tamai Y: Antimutagenic effect of amino acids on the mutagenicity of N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine (MNNG). *Biosci Biotechnol Biochem* 66 (2002) 1400-1402.
143. Rudney JD, Chen R, Sedgewick GJ: *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, and *Tanerella forsythensis* are components of a polymicrobial intracellular flora within human buccal cells. *J Dent Res* 84 (2005) 59-63.

144. Santana JC, Delgado L, Miranda J, Sanchez M: Oral Cancer Case Finding Program (OCCFP). *Oral Oncol* 33 (1997) 10-12.
145. Sarto F, Finotto S, Giacomelli L, Mazzotti D, Tomanin R, Levis AG: The micronucleus assay in exfoliated cells of the human buccal mucosa. *Mutagenesis* 2 (1987) 11-17.
146. Schliephake H: Prognostic relevance of molecular markers of oral cancer – a review. *Int J Oral Maxillofac Surg* 32 (2003) 233-245.
147. Schmalz G, Garhammer P: Biological interactions of dental cast alloys with oral tissues. *Dent Mat* 18 (2002) 396-406.
148. Schwartz J, Shklar G, Trickler D: p53 in the anticancer mechanism of Vitamin E. *Eur J Cancer B Oral Oncol* 29B (1993) 313-318.
149. Schweikl H, Schmalz G, Spruss T: The induction of micronuclei in vitro by unpolymerized resin monomers. *J Dent Res* 80 (2001) 1615-1620.
150. Schweikl H, Hiller KA, Bolay C, Kreissl M, Kreismann W, Nusser A, Steinhauer S, Wieczorek J, Vasold R, Schmalz G: Cytotoxic and mutagenic effects dental composite materials. *Biomaterials* 26 (2005) 1713-1719.
151. Schwenzer N, Ehrenfeld M: Zahn-Mund-Kieferheilkunde, Band 2, Spezielle Chirurgie, 3. Aufl. Georg Thieme Verlag, Stuttgart, New York, 2002, S. 99-118.
152. Seymour RA, Preshaw PM, Thomason JM, Ellis JS, Steele JG: Cardiovascular diseases and periodontology. *J Clin Periodontol* 30 (2003) 279-292.
153. Shah JP, Johnson NW: Oral cancer. Martin Dunitz Verlag, London, 2003, S. 1-200, 459-478.
154. Shin DM, Hittelman WN, Hong WK: Biomarkers in upper aerodigestive tract tumorigenesis: a review. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 3 (1994) 697-709.
155. Slaughter DP, Sothwick HW, Smejkal W: Field cancerization in oral stratified squamous epithelium: clinical implications of multicentric origin. *Cancer* 6 (1953) 963-968.
156. Smith CJ: Oral cancer and precancer: background, epidemiology and aetiology. *Br Dent J* 167 (1989) 377-383.
157. Sorsa M, Pyy L, Salomaa S, Nylund L, Yager JW: Biological and environmental monitoring of occupational exposure to cyclophosphamide in industry and hospitals. *Mutat Res* 204 (1988) 465-479.
158. Stephan DU: In-vitro-Untersuchungen von Speichelproben auf zyto- und genotoxische Wirkung. Dissertation, Medizinische Fakultät der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg (1999) 1-60.
159. St. John MA, Li Y, Zhou X, Denny P, Ho CM, Montemagno C, Shi W, Xi F, Wu B, Sinha U, Jordan R, Wolinsky L, Park NH, Liu H, Abemayor E, Wong DT: Interleukin 6 and Interleukin 8 as potential biomarkers for oral cavity and oropharyngeal squamous cell carcinoma. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 130 (2004) 929-935.
160. Streckfus CF, Bigler LR: Saliva as a diagnostic fluid. *Oral Dis* 8 (2002) 69-76.

161. Suzuki Y, Ikehata M, Nakumura K, Nishioka M, Asunuma K, Koana T, Shimizu H: Induction of micronuclei in mice exposed to static magnetic fields. *Mutagenesis* 16 (2001) 499-501.
162. Szigoleit F, Szigoleit A, Wetzel WE: Effect of dental treatment and/or local application of amphotericin B to carious teeth on oral colonisation by candida. *Medical Mycol* 37 (1999) 345-350.
163. Szigoleit F, Weidner N, Szigoleit A, Wetzel WE: Candidabesiedlung der Mundhöhle und des Magen-Darm-Traktes. *Dtsch Zahnärztl Z* 57 (2002) 349-352.
164. Takes RP: Staging of the neck in patients with head and neck squamous cell cancer: Imaging techniques and biomarkers? *Oral Oncol* 40 (2004) 656-667.
165. Talamini R, Vaccarella S, Barbone F, Tavani A, Vecchia Cla, Herrero R, Munoz N, Franceschi S: Oral hygiene, dentition, sexual habits and risk of oral cancer. *Br J Cancer* 83 (2000) 1238-1242.
166. Tillonen J, Homann N, Rantio M, Yousimies-Sommer H, Salaspuro M: Role of yeasts in the salivary acetaldehyde production from ethanol among risk groups for ethanol-associated oral cavity cancer. *Alcohol Clin Exp Res* 23 (1999) 1409-1415.
167. Titenko-Holland N, Jacob RA, Shang N, Balaraman A, Smith MT: Micronuclei in lymphocytes and exfoliated buccal cells of postmenopausal women with dietary changes in folate. *Mutat Res* 417 (1998) 101-114.
168. Topinka J, Sram RJ, Sirinjan G, Cocisova J, Binkova B, Fojtikova I: Mutagenicity studies on paracetamol in human volunteers. II. Unscheduled DNA synthesis and micronucleus test. *Mutat Res* 227 (1989) 147-152.
169. Torres-Bugarin O, Ventura-Aguilar A, Zamora-Perez A, Gomez-Meda BC, Ramos-Ibarra ML, Morgan-Villela G, Gutierrez-Franco A, Zuniga-Gonzales G: Evaluation of cisplatin + 5-FU, carboplatin + 5-FU, and ifosfamid + epirubicine regimens using the micronuclei test and nuclear abnormalities in the buccal mucosa. *Mutat Res* 539 (2003) 177-186.
170. Van Aken H, Rolf N: Die präoperative Evaluierung und Vorbereitung. Die Sicht des Anästhesisten. *Anaesthesist Suppl* 2 (1997): 80-84.
171. Van der Meij EH, Schepman KP, Van der Waal I: The possible premalignant character of oral lichen planus and oral lichenoid lesions: A prospective study. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 96 (2003) 164-171.
172. Van Schooten FJ, Nia AB, De Flora S, D'Agostini F, Izzotti A, Camoirano A, Balm AJ, Dallinga JW, Bast A, Haeven GR, Van't Veer L, Baas P, Sakai H, van Zandwijk N: Effect of oral administration of N-acetyl-L-cysteine: a multi-biomarker study in smokers. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 11 (2002) 167-175.
173. Velly AM, Franco EL, Schlecht N, Pintos J, Kowalski LP, Oliveira BV, Curado MP: Relationship between dental factors and risk of upper aerodigestive tract cancer. *Oral Oncol* 34 (1998) 284-291.

174. Walter M, Roediger J, Rieger Ch: Bevölkerungsrepräsentative zahnärztlich-prothetische Studie: Versorgungsgrad im Bundesland Sachsen. Dtsch Zahnärztl Z 54 (1999) 25-30.
175. Weinberg RA: How cancer arises? Sci Am 275 (1996) 32-40.
176. Yeung ALP, Lo ECM, Chow TW, Clark RKF: Oral health status of patients 5-6 years after placement of cobalt-chromium removable partial dentures. J Oral Rehab 27 (2000) 183-189.
177. Ylöstalo PV, Ek E, Laitinen J, Knuuttila ML: Optimism and life satisfaction as determinants for dental and general health behaviour — oral health habits linked to cardiovascular risk factors. J Dent Res 82 (2003) 194-199.

9 Thesen zur vorliegenden Promotion

1. In der BRD ist die Inzidenz von Plattenepithelkarzinomen des oberen Aerodigestivtraktes (OADT) bei Männern 10-15 Fälle und bei Frauen ca. 4 Fälle pro 100.000 Einwohner. Angesichts der seit Jahrzehnten unverändert gebliebenen 5-Jahresüberlebensrate (52,4 %, DÖSAK) und der z. T. erheblichen therapiebedingten Einschnitte in der Lebensqualität kommt dem Tumorscreening und der Früherkennung von Risikopatienten eine große Bedeutung bei.
2. Neben den Möglichkeiten des opportunistischen Tumorscreenings könnten Biomarker künftig einen sinnvollen Beitrag zur Früherkennung einer kanzerogenen Exposition im OADT leisten. In der vorliegenden Untersuchung wurden zwei Biomarker (Ames- und Mikrokerntest) klinisch angewandt.
3. Zahnärzte können in Biomonitoring-Programme integriert werden, da sie regelmäßig einen Großteil der Bevölkerung untersuchen. Außerdem sind Patienten der Zahnarztpraxis hinsichtlich der Risikoverhaltensweisen (chronischer Alkohol- und Tabakkonsum) für die Gesamtbevölkerung repräsentativ.
4. Durch Gewinnung von Speichel und Untersuchung mittels Ames-Test kann auf einfachem Wege ein gentoxisches Potential der Untersuchungsprobe nachgewiesen werden. Frühere Studien (Bloching et al. 2001) zeigten, dass bei chronischem Tabak und Alkoholkonsum eine gentoxische Aktivität ermittelt werden kann. In der vorliegenden Untersuchung konnte dies bestätigt werden. Durch ständige Benetzung der Schleimhaut des oberen Aerodigestivtraktes mit Speichel kann diese gegenüber mutagenen Einflüssen exponiert sein.
5. Der kariös und parodontal geschädigte Dentalstatus bei Karzinompatienten wird als Ausdruck der Selbstvernachlässigung gesehen. Die Mehrheit der gentoxischen Proben (Untersuchung mit dem Stamm TA 98) entfiel auf Teilnehmer mit einem schlechten Approximal-Plaque-Index (75% von 24, $p=0,050$).
6. Probanden mit kariös geschädigtem dentalen Status (DMF/T-Index) hatten signifikant häufiger gentoxische Speichelproben im Vergleich zu Personen mit

saniertem Befund ($p=0,017$); demgegenüber fand sich kein Zusammenhang zwischen der Art des Füllungsmaterials ($p\geq 0,104$) bzw. dem parodontalen Status ($p=0,491$) und der Speichelqualität. Das Verhältnis von nicht gentoxischen zu gentoxischen Speichelproben (TA 98) war bei prothetisch nicht rehabilitierten Teilnehmern 1:17, bei Personen mit festsitzender Versorgung dagegen 1,79:1 ($p=0,009$).

7. Für die Assoziation einer gentoxischen Aktivität im Speichel – wie sie mittels Ames-Test nachgewiesen wird – mit mangelnder Compliance, mit supragingivaler Plaque und unversorgten kariösen Läsionen sowie fehlender prothetischer Rehabilitation ist der Einfluss kariogener Plaque als komplexer Biofilm und Reservoir für bakterielle Toxine nahe liegend. Dies unterstützt die These, dass die Mundflora aufgrund ihrer metabolischen Aktivität an der Entstehung zytogenetisch relevanter Veränderungen im Bereich der Mundschleimhaut beteiligt sei könnte.
8. Der Mikrokerntest ist ein weit verbreitetes Verfahren zum Nachweis von zytogenetischen Schäden. Eine erhöhte Mikrokernfrequenz in den Epithelzellen der Wangenschleimhaut lässt einen aneuploiden und/oder klastogenen Schaden im Bereich der Mukosa des OADT erkennen (Feldkanzerisierung).
9. Der chronische Alkohol- und Tabakkonsum als Hauptrisikofaktoren für die Kanzerogenese im OADT stellen – laut früherer Untersuchungen – wesentliche Einflussgrößen der Mikrokernrate dar. Die vorliegende Untersuchung konnte dies lediglich für Tabak bestätigen ($p<0,001$). Der Grund dafür ist der relativ niedrige Alkoholkonsum ($16,60\pm 8,60$ g Ethanol pro Tag $\approx 0,5$ l Bier) im Gesamtkollektiv in Relation zum Tabakkonsum ($17,8\pm 9,7$ Zigaretten pro Tag).
10. Im Mikrokerntest erwiesen sich sowohl der Papillenblutungs-Index ($p=0,032$), der DMF/T-Index (Anzahl fehlender Zähne, $p=0,037$) als auch der PSI-Index ($p=0,042$) als signifikante Einflussgrößen. Wir schlussfolgern daraus, dass Virulenzfaktoren parodontopathogener Keime (subgingivale Plaque) einen zytogenetisch relevanten Einfluss auf Epithelzellen haben. Die von Narikiyo et al. (2004; *Treponema denticola*, *Streptococcus anginosus*, *Streptococcus mitis*) sowie Rudney et al. (2005; *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas*

gingivalis und Tannerella forsythensis) postulierte Wechselbeziehung zwischen invasiven parodontpathogenen Keimen und der Mukosa des OADT wird bestätigt.

11. Die von Schweikel et al. (2001) in vitro beobachtete Induktion von Mikrokernen durch unpolymerisierte Kompositmonomere konnte in der vorliegenden Untersuchung bestätigt werden. Probanden mit Kompositfüllungen hatten im Vergleich zu Trägern von Amalgamfüllungen eine signifikant höhere Mikrokernrate ($p \leq 0,039$). Zwischen dem prothetischen Status und der Mikrokernrate bestand in dieser Studie hingegen keine signifikante Assoziation.
12. Die vorliegende Untersuchung kann nur eine Tendenz aufzeigen, die in breit angelegten Studien verifiziert werden sollte. Während die diagnostische Effizienz (Sensitivität, Spezifität) dieser Untersuchungsmethoden geklärt ist, sind Analysen im Hinblick auf den Nutzen für den einzelnen Patienten (medizinische Entscheidungsfindung, Prognose, Kostenreduktion) und die Akzeptanz durch Patienten anzuschließen.
13. Die Kanzerogenese und Metastasierung sind Mehrstufenprozesse. Daher wird im Rahmen des Biomonitorings denjenigen Techniken der Vorzug zu geben sein, die eine Untersuchung mehrerer Biomarker ermöglichen. Dem Vergleich verschiedener Biomarker hinsichtlich ihrer Aussagekraft könnte ein Grading-System nach Hayes et al. (1996) dienen.
14. Das biologische Monitoring erlaubt keine Aussage darüber, ob und wann es zu einer Entartung kommen wird, und ersetzt daher nicht die klinische Vorsorgeuntersuchung sowie die pathohistologische Diagnostik von verdächtigen Läsionen.

Lebenslauf

Waldemar Reich

Wielandstr. 27

06114 Halle / Saale

Tel.: 0345 / 9196179 oder 0176 / 23160778

E-Mail: Waldemar.Reich@gmx.de

Geburtsdatum: 14.10.1975
Geburtsort: Abai, Gebiet Tschimkent (heutige GUS)
Staatsangehörigkeit: deutsch
Familienstand: ledig
Eltern: Eduard Reich
Maria Reich, geb. Hagen
Geschwister: ein Bruder (31) und zwei Schwestern (25 und 19)
Schulbildung: 1982 – 1990 Grund- und Mittelschule Abai
(Mai 1990 Immigration in die BRD als Spätaussiedler)
1990 – 1992 Hauptschule Lintorf
1992 – 1993 Hauptschule Bad Essen
1993 – 1996 Ernst-Moritz-Arndt-Gymnasium Osnabrück
Schulabschluss: Abitur
Zivildienst: 03.06.1996 – 30.06.1997
Studium: Zahnmedizin an der
Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg
WS 97/98 bis SS 2002
Beginn des Studiums der Humanmedizin seit WS 02/03
Hochschulabschluss: Staatsexamen Zahnmedizin
Berufspraxis: seit 01.02.03 Assistenz Zahnarzt an der
Universitätsklinik und Poliklinik für Mund-, Kiefer- und
Plastische Gesichtschirurgie der
Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg
Halle, 01.05.2005

Waldemar Reich

Selbständigkeitserklärung

Hiermit erkläre ich an Eides statt, dass die vorliegende Dissertation von mir selbständig und nur unter Verwendung der angegebenen Hilfsmittel angefertigt wurde. Die Arbeit wurde unter wissenschaftlicher Betreuung von PD Dr. M. Bloching (Halle/Saale) und Frau Dr. T. Grummt (Umweltbundesamt, Bad Elster) angefertigt.

Halle, 01.05.2005

Waldemar Reich

Erklärung über frühere Promotionsversuche

Hiermit erkläre ich, dass ich bisher keine Promotionsversuche unternommen habe. Weder diese noch eine andere Dissertationsschrift wurde von mir an anderen Institutionen bzw. an einer anderen medizinischen Fakultät zu Promotionszwecken eingereicht.

Halle, 01.05.2005

Waldemar Reich

Danksagung

Mein Dank gilt:

Herrn PD Dr. M. Bloching für die Überlassung des Promotionsthemas, für die wissenschaftliche Begleitung sowie die kritischen Hinweise bei der Erstellung der Arbeit.

Den Mitarbeitern des Umweltbundesamtes, Bad Elster, für die großzügige Gewährung der Arbeitsbedingungen. Insbesondere bedanke ich mich bei Frau Dr. T. Grummt für die methodische Unterstützung und kritischen Hinweise.

Den Mitarbeiterinnen des Labors der Universitätsklinik und Poliklinik für Hals-, Nasen-, Ohrenheilkunde, Kopf- und Halschirurgie Herrn PD Dr. Haberland, Frau Pietz und Frau Wolfsteller für die Unterstützung bei der Behandlung der Proben.

Mein besonderer Dank gilt den Kollegen des Zentrums für Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde, die auf unterschiedliche Weise zum Fortgang dieser Arbeit beigetragen haben.