

Aus der Poliklinik für Zahnerhaltung und Parodontologie
der Ludwig-Maximilians Universität München
Direktor: Prof. Dr. med. dent. Reinhard Hickel

**Plasmakonzentrationen der Kollektine Mannose-bindendes Lektin
(MBL) und Surfactantprotein D (SP-D) bei Patienten
mit chronischer Parodontitis**

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

vorgelegt von
Josef Johann Martin Steckenbiller

aus
Landshut

2009

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. Dr. Matthias Folwaczny

Mitberichterstatter: Prof. Dr. Daniel Edelhoff
Prof. Dr. Bernd Engelmann

Dekan: Prof. Dr. med. Dr. h.c. M. Reiser, FACR, FRCR

Tag der mündlichen Prüfung: 2. Juli 2009

meiner Familie

1. EINLEITUNG	3
1.1. CHRONISCHE PARODONTITIS	3
1.1.1 Definition und Klassifikation	3
1.1.2. Epidemiologie	4
1.1.3. Ätiologie und Pathogenese	5
1.1.4. Klinisches Bild und Verlauf	11
1.1.5. Therapie	12
1.2. KOLLEKTINE	13
1.2.1. Mannose bindendes Lektin (MBL).....	14
1.2.2. Surfactantprotein- D (SP- D).....	20
1.2.3. Die Rolle von MBL und SP-D in der Immunabwehr bei chronischer Parodontitis.....	23
2. PROBLEMSTELLUNG UND ZIELSETZUNG	24
3. MATERIAL UND METHODEN	26
3.1. STUDIENPOPULATIONEN	26
3.1.1. Patientengruppen.....	26
3.1.2. Kontrollgruppen	28
3.1.3. Studienkollektive.....	28
3.2. MATERIAL	31
3.2.1.Chemikalien.....	31
3.2.2. Reagenzsysteme ("Kits").....	32
3.2.3. Humanes Serum	32
3.2.4. Verbrauchsmaterialien	32
3.2.5. Geräte	33
3.3. METHODEN	33
3.3.1. Blutentnahme	33
3.3.2. Plasmagewinnung und Lagerung.....	33
3.3.3. Bestimmung der Plasmakonzentrationen via ELISA	34
3.3.3.1. MBL Oligomer ELISA	34
3.3.3.2. Human Surfactant Protein D ELISA	37
3.4. STATISTISCHE AUSWERTUNG	39
4. ERGEBNISSE	40
4.1. MBL-PLASMAKONZENTRATIONEN	40
4.1.1. Vergleich von Kontroll- mit Patientengruppe.....	40
4.1.2. Zusammenhang mit Nikotinabusus	43
4.1.3. Zusammenhang mit Mutationen im MBL-2 Gen.....	45
4.1.4. Zusammenhang mit Nikotinabusus unter Berücksichtigung des Genotyps im MBL-2 Gen.....	48
4.2. SP-D-PLASMAKONZENTRATIONEN	53
4.2.1. Vergleich von Kontroll- mit Patientengruppe.....	53
4.2.2. Zusammenhang mit dem Raucherstatus	56
5. DISKUSSION	58
5.1. METHODIK	58
5.1.1. Auswahl der Studienpopulationen.....	58
5.1.2. Quantifizierung der Kollektinexpression mittels ELISA	60
5.2. BEWERTUNG DER ERGEBNISSE IM LITERATURVERGLEICH.....	61
5.2.1. Deutung der Ergebnisse bzgl. der MBL-Plasmakonzentration.....	61
5.2.2. Deutung der Ergebnisse bzgl. der SP-D-Plasmakonzentration.....	66

Inhaltsverzeichnis

5.3. MBL UND SP-D IM RAHMEN ANDERER ERKRANKUNGEN	68
5.3.1. MBL-Mangel bei anderen Erkrankungen	68
5.3.2. SP-D-Plasmalevel bei anderen Erkrankungen.....	70
5.4. AUSBLICK	71
6. ZUSAMMENFASSUNG	74
7. ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS	76
8. LITERATURVERZEICHNIS	78
9. DANKSAGUNG	91
10. LEBENSLAUF	92
11. HINWEIS	93

1. Einleitung

1.1. *Chronische Parodontitis*

1.1.1 Definition und Klassifikation

Die chronische Parodontitis ist eine entzündliche Infektionskrankheit des Zahnhalteapparates mit progressivem Verlust der Haltefunktion des Parodontiums (Attachmentverlust) und Degeneration des Alveolarknochens. Kennzeichnend hierfür ist die Bildung von Zahnfleischtaschen mit oder ohne Rezessionen. Durch die Schädigung des Zahnhalteapparats kommt es langfristig zur Lockerung der betroffenen Zähne und es droht der Zahnverlust. Es handelt sich um die am häufigsten vorkommende Parodontitisform. Die Ausdehnung des Befalls ermöglicht eine Unterteilung in eine „lokalisierte Form“, wenn weniger als 30 % der Zahnflächen betroffen sind und in eine „generalisierte Form“ bei einem Befall von mehr als 30 % der Zahnflächen. Der Schweregrad der Erkrankung gemessen am Ausmaß des Attachmentverlustes gestattet die Einteilung in eine leichte (1–2 mm), moderate (3–4 mm) und schwere Form (≥ 5 mm). Der Begriff chronische Parodontitis existiert erst seit der Einführung der aktuellen Klassifikation für Parodontalerkrankungen im Jahre 1999, basierend auf den Beschlüssen des „International Workshop for a Classification of Periodontal Diseases and Conditions“ (2). Die bisherige Einteilung der Parodontitiden orientierte sich am Alter der Patienten bei Erstmanifestation und der Progressionsrate. Obwohl die meisten Parodontitiden in der Adoleszenz von einem chronischen Verlauf gekennzeichnet sind und Parodontitiserkrankungen im Kindes- und Jugendalter meist einen foudroyanten Verlauf nehmen, kann es auch in jungen Jahren zu chronischen Verläufen, sowie zu aggressiven Erkrankungen im Erwachsenenalter kommen. Aus diesem Grund wurden die Begriffe früh beginnende (engl.: early onset) Parodontitis sowie adulte Parodontitis durch die Begriffe aggressive Parodontitis bzw. chronische Parodontitis ersetzt.

1.1.2. Epidemiologie

Parodontalerkrankungen gehören zu den häufigsten Krankheitsbildern des Menschen und weisen weltweit hohe Prävalenzen auf. Während leichte Entzündungen des Zahnfleisches und des Parodontiums oftmals auftreten und viele Erwachsene an einigen Stellen der Zähne einen leichten bis moderaten Attachmentverlust aufweisen, sind schwerwiegende parodontale Erkrankungen eher selten (112). Eine Studie, die die Häufigkeit des Auftretens vertiefter Alveolartaschen (3,5–5,5 mm) bei 35 bis 44-jährigen Europäern vergleicht (113), zeigt, dass u. a. das Konsumverhalten und der Sozialstatus das Erkrankungsrisiko beeinflussen. Für die Prävalenz findet man eine unterschiedliche Bandbreite von 13-54%. Der Mittelwert für Osteuropa liegt mit 45% deutlich höher als für Westeuropa mit 36%, der in etwa mit den Werten wirtschaftsstarker nicht-europäischer Länder (33%) vergleichbar ist.

Die neuesten epidemiologischen Daten für Deutschland liefert die vierte deutsche Mundgesundheitsstudie (DMS IV) aus dem Jahre 2006 (144). Die Ergebnisse zeigen ein höheres Erkrankungsrisiko im fortgeschrittenen Lebensalter. Bei unter 15-jährigen Jugendlichen leiden etwa 12,6% an einer mittelschweren und 0,8% an einer schweren Parodontitis. Erwachsene im Alter zwischen 35-44 Jahren sind deutlich häufiger erkrankt: 52,7 % sind von der mittelschweren und 20,5 % von der schweren Ausprägung des Krankheitsbildes betroffen. Mit Abstand am häufigsten sind Senioren erkrankt: unter 65 bis 74 jährigen weisen 48 % eine mittelschwere und 39,8 % eine schwere Parodontitis auf. Außerdem ist eine ausgeprägte Zunahme der Erkrankungshäufigkeit gegenüber der dritten deutschen Mundgesundheitsstudie (DMS III) von 1997 (143) erkennbar: ein Punktanstieg in Prozent um 26,9 bei Erwachsenen und 23,1 bei Senioren. Die Zunahme der Inzidenz erklärt sich durch die Tatsache, dass mehr Zähne dem Risiko späterer parodontaler Erkrankungen ausgesetzt sind, da es in den letzten Jahren zu einem Rückgang der Zahnverluste im Erwachsenenalter und bei Senioren kam.

1.1.3. Ätiologie und Pathogenese

Die chronische Parodontitis stellt ein komplexes Krankheitsbild dar, für dessen Entstehung eine multifaktorielle Genese in Betracht gezogen werden muss. Die Grundvoraussetzung ist eine Keimexposition, da ohne dem Vorhandensein parodontalpathogener Mikroorganismen die Entwicklung einer Parodontalerkrankung nicht möglich ist (18).

1.1.3.1. Parodontalpathogene Bakterien

Die menschliche Mundhöhle wird von ca. 500 verschiedenen bakteriellen Spezies besiedelt, von denen man annimmt, dass etwa 415 auch in subgingivalen Plaques zu finden sind (97). Neben nicht pathogenen Erregern können auch opportunistische Keime nachgewiesen werden, welche ebenfalls zur residenten Flora einer gesunden Mundhöhle zählen. Diese befinden sich normalerweise in einem kompetitiven Gleichgewicht, wodurch ein Überwuchern einzelner Arten unterdrückt wird. Kommt es zur Störung dieses Gleichgewichts, meist durch Vernachlässigung der Mundhygiene, können daraus opportunistische Infektionen resultieren. Der Entzündungsprozess kann aber auch durch das Eindringen neuer Mikroorganismen ins Ökosystem der Mundhöhle (exogene Infektion) hervorgerufen werden. Die mikrobielle Kolonisierung erfolgt durch Bildung eines speziellen Biofilms in Form einer bakteriellen Plaque in der Mundhöhle, die folgendermaßen entsteht: auf einer frisch gereinigten Zahnfläche bildet sich schon innerhalb weniger Minuten ein Pellikel, bestehend aus Glykoproteinen, Speichel und Sulkusflüssigkeit (81). An dieses Pellikel können sich spezifische Mikroorganismen mit Hilfe von Fimbrien oder speziellen Rezeptoren besonders gut anheften (109). In dieser Gruppe der primär Kolonisierer sind hauptsächlich fakultativ anaerobe, grampositive Kokken zu finden (72), welche eine Primärflora bilden. Zwei bis vier Tage später kommt es zu einer sekundären Kolonisierung durch gramnegative Bakterien, welche mittels Oberflächenrezeptoren an die bisher vorhandenen Bakterien binden (62). Im weiteren Verlauf nimmt mit steigender Komplexität der Plaque der Anteil an gramnegativen Bakterien stetig zu und es entstehen anaerobe Verhältnisse in der Tiefe des Biofilms. Die Pathogenität der Plaque für das Parodontium hat bereits

eingesetzt. Nach fünf bis neun Tagen lassen sich Spirillen und nach ungefähr 15 Tagen Spirochäten in tieferen Schichten der Plaque nachweisen (72).

Hauptsächlich wird die Parodontitis durch gramnegative, anaerobe oder mikroaerophile Bakterien verursacht. Zu den parodontalpathogenen Erregern im engeren Sinne zählen:

- *Actinobacillus actinomycetem comitans*
- *Tannerella forsythensis*
- *Porphyromonas gingivalis*

Laut dem Konsens der „American Academy of Periodontology“ sind diese drei Erreger sehr häufig mit entzündlich destruktiven Erkrankungen des Parodontiums assoziiert. Auch die Gruppe der „pathogen related oral spirochetes (PROS)“ sind häufig am Entstehungsprozess der Parodontitis beteiligt (104).

Mäßigere Assoziationen finden sich bei:

- *Treponema denticola*
- *Prevotella intermedia*
- *Campylobacter rectus*
- *Peptostreptococcus mircos*
- *Eikenella corrodens*
- *Fusobacterium spp.*
- *Eubacterium spp.*
- β -hämolyisierende Streptokokken

Die Virulenz der parodontalpathogenen Bakterien ist von vielen Faktoren abhängig, unter anderem deren Ausstattung an Enzymen (z.B. Proteasen, Kollagenasen), Endotoxinen oder deren Besitz an Oberflächenstrukturen wie Fimbrien oder kapsulären Polysacchariden (49).

1.1.3.2. Entstehung der chronischen Parodontitis: Modell des „critical pathway“

Zum Verständnis der komplexen Pathogenese der Parodontitis wurde das neue Modell, der sogenannte „critical pathway“, etabliert. Dieses versucht die vielseitigen Zusammenhänge bei der Entstehung zu erfassen und beschränkt sich nicht auf das einfache Kausal-Prinzip aus Ursache und Wirkung (94, 106).

Eine inkonsequente und ineffektive Mundhygiene mit daraus resultierenden Plaqueakkumulationen ist neben exogenen Infektionen die Hauptursache dafür, dass sich aus einer apathogenen Mikroflora eine pathogene Mikroflora entwickelt. Bestimmte Metabolite und lösliche Komponente der Plaquebakterien bieten Leukozyten chemotaktische Reize. Peptide wie das Formyl-Methionin-Leucyl-Phenylalanin (FMLP), Fettsäuren wie Butter- und Propionsäure und Lipopolysaccharide (LPS) stimulieren die Produktion von pro-inflammatorischen Zytokinen (147) und weiteren chemischen Mediatoren der Saumepithelzellen. Diese entzündungsfördernden Substanzen wie Interleukin-1 (IL-1), Interleukin-8 (IL-8), Tumor-Nekrose-Faktor α (TNF α), Prostaglandin E₂ (PGE₂) oder Matrix-Metallo-Proteasen (MMPs) diffundieren ins subepitheliale Bindegewebe, um dort vorkommende Makrophagen, Mastzellen und Fibroblasten zur weiteren Produktion inflammatorischer Substanzen zu induzieren. Im Rahmen des Entzündungsprozesses erhöht sich die Gefäßpermeabilität mit konsekutiver Zunahme der Exsudation von Sulkusflüssigkeit. Pro-inflammatorische Zytokine vermitteln die Aktivierung der Adhäsionsmoleküle „intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1)“ und „endothelial leukocyte adhesion molecule-1 (ELAM-1)“, die den Leukozyten, speziell den neutrophilen Granulozyten die Diapedese aus subendothelialen Gefäßen erleichtern. Somit können diese entlang dem Konzentrationsgefälle oben beschriebener bakterieller Lockstoffe bzw. wirtseigener Oponine wie IL-8, Komplementfaktor C5a oder Leukotrien B₄ in Richtung Sulkus zum Infektionsherd wandern (18). Diese polymorphkernigen Granulozyten (PMN) sind Vertreter der primären Immunantwort. Ihre Aufgabe ist, mittels Phagozytose die pathogenen Keime aufzunehmen und aufzulösen. Die Markierung von mikrobiellen Substanzen (Oponierung) mit Faktoren des Komplementsystems oder mit spezifisch gegen die parodontalpathogenen Bakterien gerichteten Antikörpern erleichtert den

neutrophilen Granulozyten das Erkennen von Fremdstoffen und ermöglicht eine effektivere Phagozytose. Gelingt es dem Organismus im Zuge der Immunantwort ein weiteres Vordringen der Erreger nach apikal und lateral zu verhindern, so bleibt die Entzündungsreaktion auf die Schleimhaut beschränkt und es entwickelt sich eine Gingivitis. Bei Elimination der bakteriellen Erreger klingt die Entzündungsreaktion wieder ab bis hin zur *restitutio ad integrum*.

Konnte jedoch aufgrund eines schlechten Immunstatus des Patienten (z.B. bei Granulozytendysfunktion) oder einer ausgeprägten Virulenz der Mikroorganismen, ein weiteres Penetrieren der Bakterien ins umliegende subepitheliale Bindegewebe nicht verhindert werden, so muss nun versucht werden mittels der spezifischen sekundären Immunantwort die Initiierung der Parodontitis zu stoppen. Nach der misslungenen unspezifischen Immunabwehr können die Bakterien verstärkt kolonisieren und in das Saumepithel invadieren. Bakterielle Substanzen wie LPS, erreichen nun in gesteigertem Maße Endothelzellen im subendothelialen Gefäßplexus. Daraufhin exprimieren diese weitere Adhäsionsmoleküle, darunter auch das „vascular cell adhesion molecule 1“, welches selektiv den Makrophagen bzw. deren monozytären Vorstufen die Migration ins umliegende Entzündungsgebiet erleichtert (65). Auch der Anteil an Lymphozyten nimmt zu; eine steigende Anzahl an T- und B-Lymphozyten wandert aus lymphatischen Organen in bakteriell besiedelte Regionen ein. Die Makrophagen produzieren bei Exposition mit LPS eine Reihe von Zytokinen, darunter Interferon γ , TNF α , „transforming growth factor (TGF)“, IL1 α und β , IL-6,-10,-12,-15 und zahlreiche Chemokine, mitunter MMPs, PGE₂ und RANTES „regulated on activation, normal T-cell expressed and secreted“ (65). Daraus resultieren folgende Effekte: Die freigesetzten Chemokine bezwecken ein zusätzliches Rekrutieren von Monozyten und Lymphozyten. Antigen-spezifische CD4⁺ T-Lymphozyten differenzieren sich zu zytokinproduzierenden T-Zellen, welche wiederum dazu befähigt sind, die Reifung der B-Lymphozyten zu antikörperbildenden Plasmazellen zu induzieren. Einige Syntheseprodukte der Makrophagen sind unmittelbar an der Gewebedestruktion beteiligt. MMPs sind direkt dazu in der Lage, kollagene Strukturen des gingivalen Bindegewebes und der Wurzelhaut abzubauen. Die Zytokine IL-1 β und TNF α induzieren bei gleichzeitiger Hemmung

der Kollagensynthese der Fibroblasten die Prostaglandin E₂-Synthese und verstärken somit die Kollagenaseproduktion in selbigen (17). PGE₂ erhöht die Fähigkeit der Osteoklasten, ossäre Strukturen zu resorbieren und ist somit für einen fortschreitenden Alveolarknochenverlust mitverantwortlich (132). Durch den destruktiven Gewebeabbau kommt es zu einer parodontalen Taschenbildung, sodass den Bakterien aufgrund anaeroberer Verhältnisse günstigere Wachstumsbedingungen geboten werden. Schafft es der menschliche Körper jedoch durch eine suffiziente Immunantwort in Form einer ausreichend hohen Antikörperproduktion, die Mikroorganismen zu eliminieren, so bleibt das Ausmaß der Schädigung begrenzt. Der Wechsel zwischen Exazerbation und Stagnation der chronischen Parodontitis ist im Wesentlichen von der Effektivität der Immunantwort auf wiederholt eindringende Bakterien unterschiedlicher Virulenz abhängig.

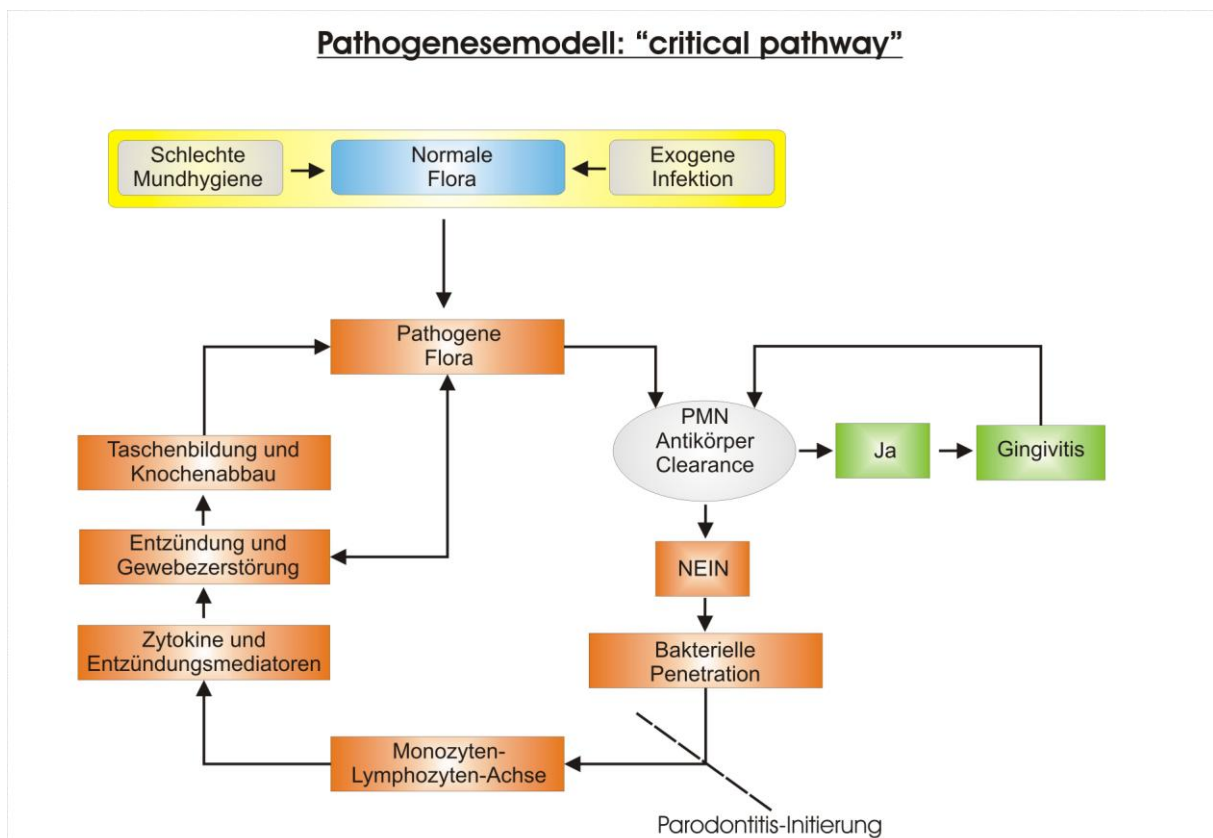


Abb. 1: Pathogenese der Parodontitis ("critical pathway", modifiziert nach Salvi et al.,1997)

1.1.3.3. Risikofaktoren der chronischen Parodontitis

Neben den bereits genannten Voraussetzungen sind an der Pathogenese der chronischen Parodontitis genetische sowie erworbene, endogene und exogene Risikofaktoren modifizierend beteiligt (106).

Als gesicherte Risikofaktoren, deren pathogenetischer Einfluss in großen kontrollierten Longitudinalstudien überprüft wurde, gelten ein chronischer Nikotinabusus, sowie eine Erkrankung an Diabetes mellitus (38). In einer aussagekräftigen amerikanischen epidemiologischen Studie zeigten schlecht eingestellte Typ II Diabetiker gegenüber ihren gesunden Mitbürgern ein 2,9fach erhöhtes Risiko für Parodontitis (131). Erwachsene Raucher sind einem 3-4fach höheren Risiko an Parodontitis zu erkranken ausgesetzt, als Nichtraucher. Das Rauchen scheint nicht nur die mikrobielle Zusammensetzung der Mundflora zu beeinflussen und sich negativ auf die immunologische Abwehr auszuwirken. Auch direkte lokale Effekte des Nikotins, wie eine vermehrte Produktion inflammatorischer Mediatoren und Kollagenasen, sowie die reduzierte Anheftung der Fibroblasten an der Wurzelhaut, scheinen für eine verstärkte Gewebedestruktion bei Rauchern verantwortlich zu sein (57).

Neben den Risikofaktoren existiert noch eine Reihe von Risikoindikatoren bzw. Risikomarkern, deren Zusammenhänge mit der chronischen Parodontitis in vielen Querschnittsstudien und Fallberichten beobachtet, jedoch noch nicht in kontrollierten longitudinalen klinischen Studien verifiziert wurden. Zu den Risikoindikatoren zählen chronischer psychosozialer Stress, Osteoporose und chronische Immundefizienz (z.B. AIDS). Insbesondere die letzte Gruppe entwickelt häufig eine nekrotisierende, ulzerative Parodontitis, eine sehr schwere, schmerzhafte und schnell progrediente Form (89). Auch genetische Risikoindikatoren werden mit der Suszibilität für chronische Parodontitis in Zusammenhang gebracht. In letzter Zeit haben sich immer mehr Untersuchungen damit beschäftigt, inwieweit in der Bevölkerung vorhandene Genvarianten (Polymorphismen) bestimmter Gene mit parodontalen Erkrankungen assoziiert sind. Von Interesse sind hierfür vor allem Gene, die eine wichtige Rolle bei der Inflammation, Immunabwehr oder Gewebedestruktion der Parodontitis spielen. Zum Beispiel gibt es für das IL-1 β kodierende IL-1B-Gen einen

„periodontitis associated genotype (65)“, der zu einer zwei- bis vierfach erhöhten Produktion des Zytokins führt (22). Die mit dieser Überproduktion verbundenen überschießenden Entzündungsreaktionen prädisponieren Betroffene zu parodontalen Attachmentverlusten, bis hin zu Zahnverlusten in Folge der gesteigerten Gewebedestruktion (84). Polymorphismen in den Fc γ -Rezeptoren, die sich auf der Oberfläche phagozytierender Zellen befinden, erhöhen die Anfälligkeit für aggressive und chronische Parodontitiden (60).

1.1.4. Klinisches Bild und Verlauf

Erste sichtbare klinische Symptome der Parodontitis lassen sich an der Gingiva erkennen: Farbe, Struktur und Kontur verändern sich, es kommt zu Schwellung und Rötung, verursacht durch die verstärkte Durchblutung des Entzündungsgebietes. Bei Berührung treten häufig sogenannte Provokationsblutungen auf. Durch die entzündliche Schädigung des Gewebes kommt es zur parodontalen Taschenbildung infolge von Proliferation des Saumepithels nach lateral und apikal mit Vertiefung des gingivalen Sulkus (59). Tiefere Schichten der Wurzeloberfläche können so mikrobiell besiedelt werden und sind unzugänglich für eine normale Mundhygiene. Die Haltefunktion des Parodontiums nimmt unter Bildung parodontaler Rezessionen immer weiter ab. Dadurch freiliegende Zahnhälse sind meist hypersensibel und einer vermehrten Plaqueakkumulation ausgesetzt.

Ein weiteres klinisches Zeichen ist die gesteigerte Menge an Sulkusflüssigkeit. Dabei korreliert diese mit der Intensität der parodontalen Entzündung und der Sondierungstiefe (110). Alveolärer Knochenabbau und eine fortschreitende Schädigung der Desmodontalfasern im späteren Stadium verursachen eine Zahnlockerung, die unbehandelt zum Zahnverlust als letztem Symptom des Krankheitsverlaufs führt (102). Der Verlauf der chronischen Parodontitis ist überwiegend zyklisch-progredient, bestehend aus einem Wechsel zwischen kurzen progressiven Phasen mit messbarem Attachmentverlust und längeren, dazwischen liegenden, inaktiven Phasen klinischer Stagnation.

1.1.5. Therapie

Parodontalerkrankungen heilen nicht spontan aus, sondern bedürfen einer adäquaten zahnmedizinischen Therapie. Grundsätzlich lässt sich der Therapieverlauf bei der chronischen Parodontitis in drei Abschnitte unterteilen:

- Phase I: antiinfektiöse Therapie
- Phase II: korrektive Therapie
- Phase III: Erhaltungstherapie

In der ersten Phase, der antiinfektiösen Therapie steht die Infektionsbekämpfung im Vordergrund. Durch supra- und subgingivales Scaling, Wurzelglättung und subgingivale Kürettage werden Zahnstein und Plaque von den Wurzeloberflächen und aus den Zahnfleischtaschen mechanisch entfernt. Durch die Beseitigung der bakteriellen Ablagerungen wird eine maximale Keimreduktion erzielt und die Konzentrationen von Proteasen, die an destruktiven Abbauprozessen des Parodontium beteiligt sind, wie zum Beispiel Matrixmetalloprotease 8 (MMP-8), werden gesenkt (27). Eine systemische oder subgingivale Applikation von Antibiotika oder Antiseptika, kann sich zusätzlich positiv auf die Infektionsbeseitigung auswirken und vor Reinfektionen schützen (19, 20). Die Motivation zur Mundhygiene soll zu Verbesserung der häuslichen Zahnreinigung mit Verwendung von Zahnseide bzw. Interdentalraumbürsten anregen. Die Plaquekontrolle kann durch antimikrobielle Zusätze, wie Chlorhexidin, Triclosan und Metallionen, die in Zahnpasten oder Mundspüllösungen enthalten sind, chemisch unterstützt werden.

Die zweite Phase wird vor allem von parodontalchirurgischen Maßnahmen beherrscht, deren Ziele das Verhindern erneuter Infektionen und der Wiederaufbau von krankheitsbedingt zerstörtem Gewebe sind. Resektive Verfahren wie die Gingivektomie und die Gingivoplastik sollen eine Rekonturierung der Gingiva gewährleisten. Reperative Eingriffe wie Lappenoperationen, bei welchen sorgfältige Depurationen der Wurzeloberflächen unter Sicht möglich sind, führen in günstigen Fällen zu Attachment- und Knochengewinn. Schließlich gibt es regenerative Therapieansätze wie die gesteuerte Geweberegeneration (GTR). Dabei werden durch den Einsatz von Membranen die unterschiedlich schnell proliferierenden

Gewebe des parodontalen Defekts während des Heilungsprozesses getrennt. Durch dieses Vorgehen eben wird eine gegenseitige Behinderung vermieden und langsam proliferierenden Gewebearten des Paradontiums ausreichend Zeit zur Ausheilung gegeben (12).

Die sich anschließende Erhaltungstherapie zielt auf die Sicherung der Behandlungsergebnisse ab. Durch regelmäßige „Recalls“ mit professionellen Zahnreinigungen wird die Entzündungsfreiheit auch längerfristig sichergestellt. Da die subgingivale Plaqueentstehung nach Scaling und Wurzelglättung nur für einen Zeitraum von neun bis elf Wochen eingeschränkt bleibt (43), sollten Nachsorgetermine mindestens alle sechs Monate, bei schweren Verlaufsformen in Abstand von zwei bis drei Monate, wahrgenommen werden.

1.2. Kolektine

Lektine bilden eine Klasse von kohlenhydratbindenden Proteinen, welche die Fähigkeit besitzen, reversibel an Saccharidomänen zu binden. Die Einteilung der tierischen Lektine in strukturell verwandte Familien basiert hauptsächlich auf den unterschiedlichen Bindungseigenschaften (16). Darunter zu finden sind die C-Typ Lektine, welche zum Interagieren Calcium benötigen, und S-Typ Lektine, deren Bindungsvorraussetzung freie Thiolgruppen darstellen. Hinzu kommen neuere Lektingruppen vom I-Typ (immunglobulinähnliche Struktur) und P-Typ. Die größte Familie, die C-Typ Lektine, umfasst drei Mitglieder: Selektine, endozytotische Lektine und die Kolektine.

Während Selektine transmembranös verankert sind, sind Kolektine lösliche Proteine. Charakteristischerweise enthalten Kolektine sowohl eine kollagenähnliche Struktur, als auch eine für Lektine typische kohlenhydraterkennende Domäne „carbohydrate recognition domain (CRD)“. Mit letzterer sind sie in der Lage, eine Fülle an mikrobiellen Pathogenen an sich zu binden. Die Kolektine gehören somit der Gruppe der „pathogen recognition receptors (PRR)“ an, die spezielle „pathogen associated molecular patterns (PAMPs)“ von Mikroorganismen erkennen und diese markieren. Dadurch kann das Immunsystem Fremdkörper leichter beseitigen. Die Kolektine

nehmen somit eine wichtige Rolle in der angeborenen Immunabwehr ein. Zu den menschlichen Kollektinen gehören drei Proteine:

- **Mannose-bindendes Lektin** (Syn.: Mannan-bindendes Lektin, **MBL**)
- **Surfactantprotein-A (SP-A)**
- **Surfactantprotein-D (SP-D)**

Die zwei weiteren Kollektine Conglutinin und Kollektin-43 wurden bislang lediglich in Rindern nachgewiesen (135).

1.2.1. Mannose bindendes Lektin (MBL)

Den Hauptvertreter der Kollektine im Serum stellt das Mannose-bindende Lektin dar. Es wird von Hepatozyten gebildet und von diesen in den Blutstrom abgegeben. Dieses Kollektin ist ein Akut-Phase-Protein, welches nach einer Infektion oder einem Trauma einen moderaten Serumkonzentrationsanstieg aufweist (127). Aufgrund seiner polyspezifischen, antikörper-ähnlichen Aktivität hat das MBL für das angeborene Immunsystem eine große funktionelle Bedeutung (135).

1.2.1.1. Struktur

Elektronenmikroskopisch zeigt das MBL in der Kristallstruktur eine blumenstrauß-ähnliche Form. Das Protein setzt sich aus multimeren Untereinheiten zusammen, jede einzelne beinhaltet drei identische Peptidketten mit 32 kDa. Jede Kette besteht weiter aus einer C-terminalen „carbohydrate-recognition domain (CRD)“, einem kurzen alpha-helikalen hydrophoben Halsbereich, sowie einer 19 Gly-X-Y Triplet beinhaltenen Kollagen-Region und zuletzt einem cysteinreichen N-terminalen Abschnitt. Die drei Polypeptidketten bilden dabei eine Triple-Helix in ihrer Kollagen-Region, stabilisiert durch hydrophobe Interaktionen und Disulfidbrücken innerhalb der N-terminalen cysteinreichen Region (15). Die im Serum vorkommenden oligomeren MBL-Moleküle reichen von Dimeren bis hin zu Hexameren; eine prädominante zirkulierende Form ist bisher nicht bekannt. Eine komplette funktionelle Aktivität des Proteins wird jedoch erst ab einer Oligomerisierungsstufe zu Tetrameren erreicht (149).

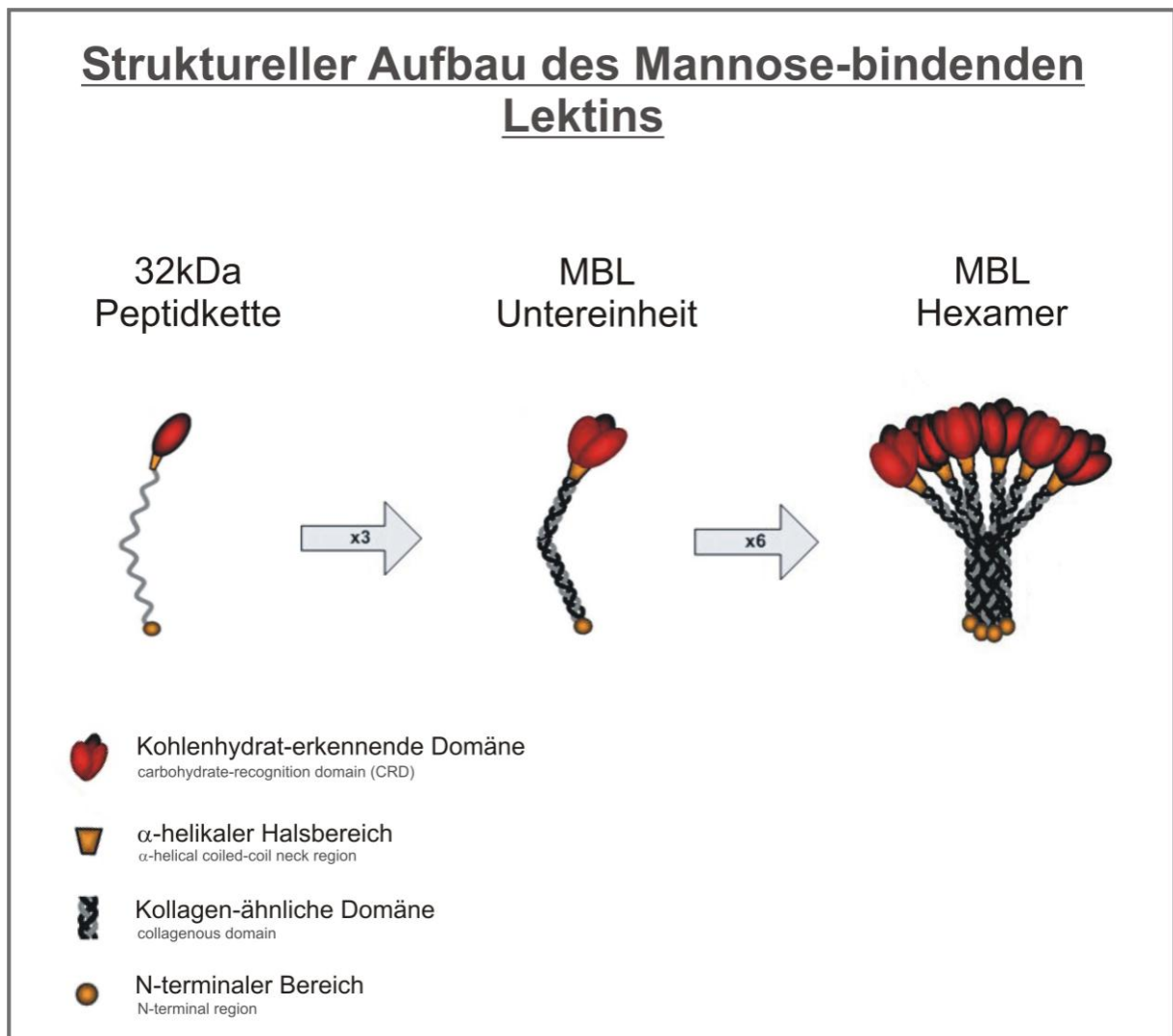


Abb. 2: Struktureller Aufbau des MBL (modifiziert nach Kishore et al.,2005)

Jede CRD kann ein Calcium-Ion binden, woraus eine Bindungsfähigkeit mit den C3 und C4 Hydroxylgruppen spezifischer Zucker resultiert (146). Liganden hierfür sind Mannose, Fukose, N-Acetylglucosamin und Glukose, samt ihrer Derivate. Diese Bindungsvoraussetzungen sind nicht bei Galaktose und Sialinsäure gegeben, welche häufig bei den Glykoproteinen von Säugern die letzten bzw. vorletzten Zuckeranhänge darstellen. Vermutlich ist dadurch die reduzierte Bindungsaffinität von MBL zu wirtseigenen Glykoproteinen beim Menschen erklärt. Dahingegen sind die bindungsfähigen Zucker häufiges Strukturmerkmal mikrobieller Proteine, wodurch das MBL eine weite Bandbreite an Erregern erkennt (92).

Während eine einzelne Bindung zwischen Monosaccharid und Lektin-Domäne nur eine geringe Affinität aufweist (10^{-3}) (52), wird eine hohe Bindungsavidität durch die simultanen Interaktionen multipler CRDs mit den Kohlenhydraten erzielt.

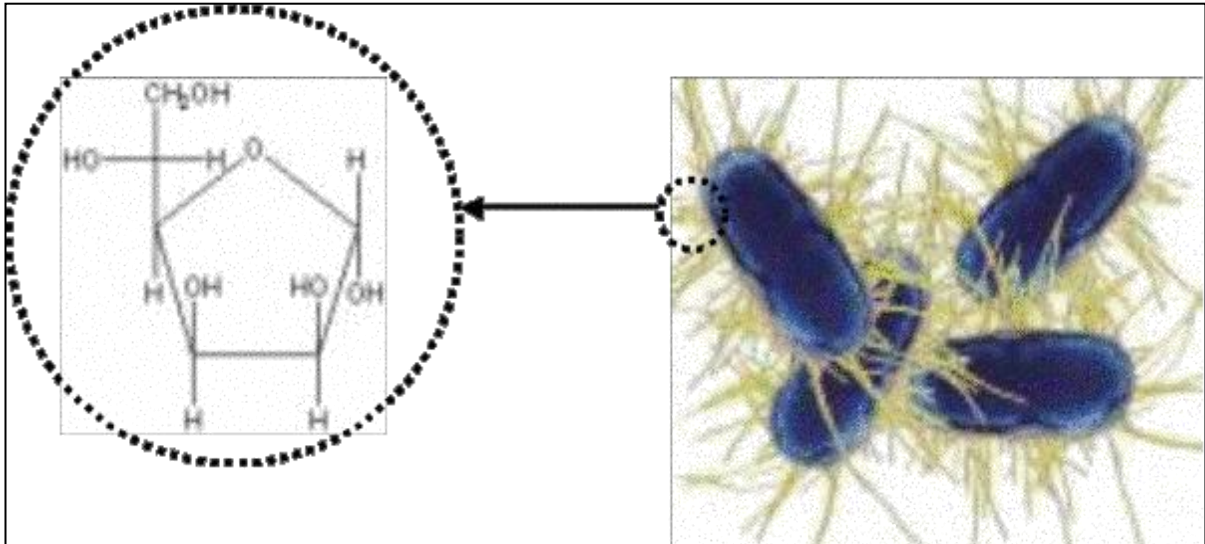


Abb. 3: Mannose-haltige Kohlenhydratverbindungen als Angriffsstelle des MBL, zu finden auf der Oberfläche vieler Bakterien, Viren, Pilze und Protozoen (Bild-Quelle: www.imd-berlin.de/index.php?id=278)

1.2.1.2. Funktion

Das Verständnis über die funktionelle Bedeutung von MBL hat in den letzten drei Jahrzehnten stark zugenommen. Heute werden dem Protein mindestens vier Funktionen zugeschrieben: Aktivierung des Komplementsystems, Unterstützung der Komplement-unabhängigen Opsonophagozytose, Regulierung der Entzündungsreaktion und Mithilfe bei der Clearance apoptotischer Zellen (15, 134).

Eine der Hauptaufgaben des Kollektins ist die Aktivierung des Komplementsystems via eines dem klassischen und alternativen Weg unabhängigen dritten Weg, dem sogenannten Lektin-Weg. Die dafür benötigte funktionelle Aktivität besitzt MBL nur in Assoziation mit einem bestimmten Enzym.

Es wurde festgestellt, dass MBL im Blutkreislauf in Verbindung mit einer Gruppe von MBL-assoziierten Serin Proteasen (MASP-1,2 und 3) (11, 82, 129), sowie einem verkürztem Segment von MASP-2, Map19 genannt (125), steht. MASP-2 hat für die Komplementaktivierung die größte Bedeutung. Nach einer Bindung an eine

mikrobielle Oberfläche wird MASP-2 aktiviert und vermittelt den ersten Schritt in der Komplementkaskade des Lektin-Weges. Dieser besteht in der Spaltung der Faktoren C2 in C2a und C2b, C4 in C4a sowie C4b. Daraus resultiert die Entstehung von C4bC2a-Heterodimeren, welche wie beim klassischen Weg als C3-Konvertasen fungieren. Die Spaltung des Faktors C3 in C3a und C3b ermöglicht einerseits die Opsonierung weiterer Pathogene. Durch die Markierung mit C3b entsteht andererseits ein tri-molekularer Komplex (C4bC2aC3b) zur enzymatischen Spaltung des Faktors C5. Das dabei entstandene C5b-Molekül kann sich mit den anderen terminalen Komplementkomponenten C6, C7, C8 und C9 so zusammenlagern, dass ein membranangreifender Komplex entsteht, der letztendlich zur Zellyse führt (55). Aktivierte MASP-1 vermag C3 direkt zu restringieren, und setzt damit in der Komplementkaskade etwas später ein.

Zudem existiert noch eine weitere Gruppe von Proteinen, welche in Komplexbildung mit MASP befähigt sind den Lektin-Weg zu aktivieren. Diese sogenannten Ficoline unterscheiden sich jedoch in der Bindungsspezifität vom MBL (74).

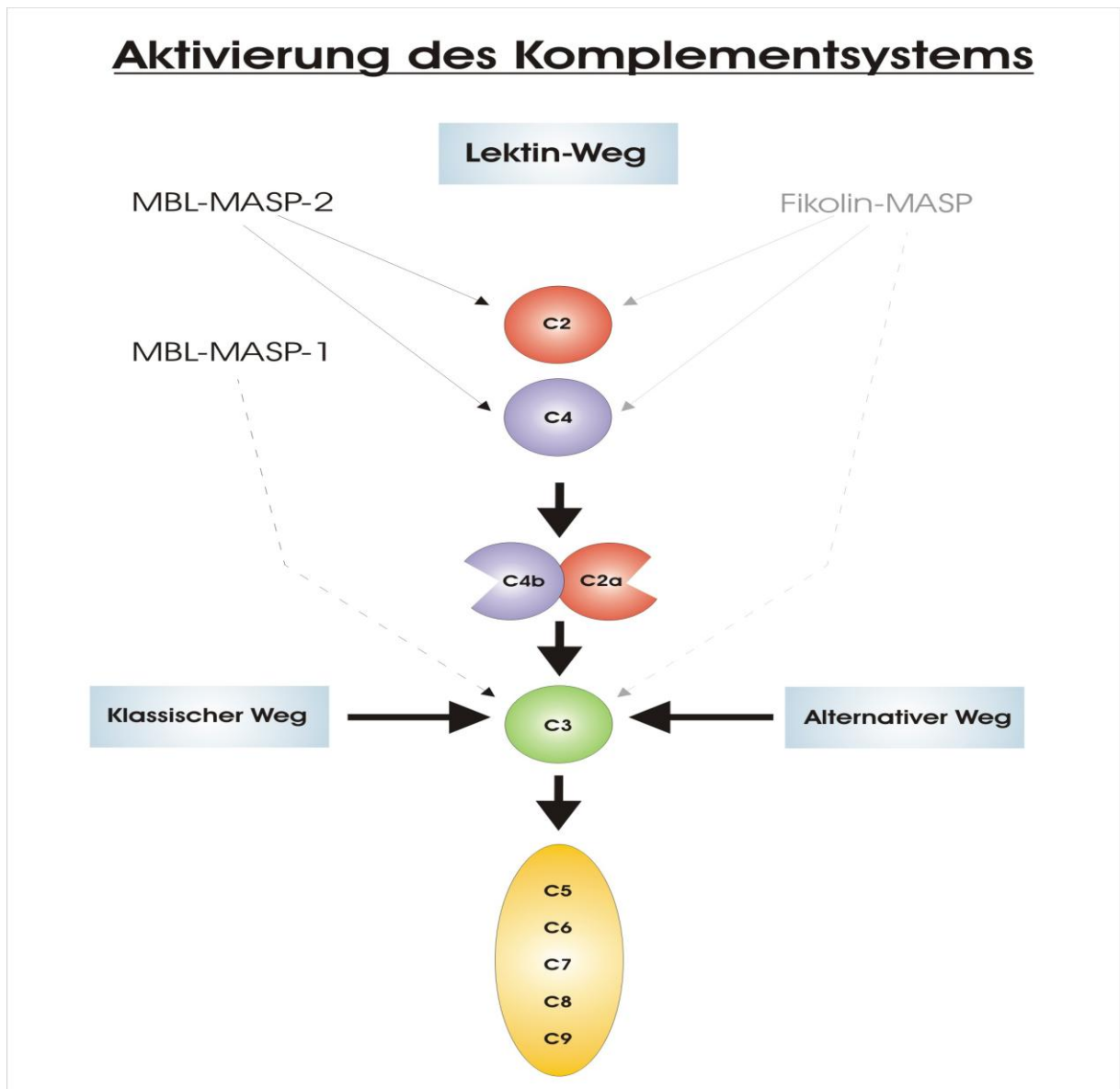


Abb. 4: Aktivierungswege des Komplementsystems (modifiziert nach Dommett et al.,2006)

Eine weitere wichtige Eigenschaft des MBL ist die Fähigkeit zur direkten Opsonierung von Mikroorganismen. Durch Bindung an Oberflächenrezeptoren von Phagozyten wird so die Phagozytose der erkannten Erreger vermittelt (67).

Im Weiteren scheint MBL eine Hauptrolle in der Modulation von Entzündungen zu übernehmen. Ein verminderter MBL-Status wird zunehmend mit der Entwicklung von Sepsis und dem „systemic inflammatory response syndrom“ (SIRS) in Verbindung gebracht (26, 32). Genaue Mechanismen, in welcher Weise MBL modulierend in den Entzündungsprozess eingreift, sind jedoch bisher weitgehend unbekannt.

Auch bei der Beseitigung apoptotischer Zellen wird MBL eine funktionelle Bedeutung beigemessen. Apoptotische Zellen exponieren an der Oberfläche terminale Zuckerreste zytoskelettaler Proteine. An diese Strukturen können MBL-Moleküle binden und den Verdau apoptotischer Zellen durch Phagozyten stimulieren.

MBL spielt mit seinen multiplen Funktionen eine zentrale, äußerst komplexe Rolle in der Immunabwehr. Die Tatsache, dass MBL auch mit glykosilierten Varianten bestimmter Immunglobuline Interaktionen zeigt, unterstreicht dessen komplexe Bedeutung für das Immunsystem. Mittels dieser Kreuzkommunikation zwischen angeborenem (MBL) und adaptivem Immunsystem (Ig), vermag MBL auch an der Clearance von Immunkomplexen beteiligt zu sein (4).

1.2.1.3. Genetik

Der Mensch besitzt zwei MBL-Gene. Nur das MBL-2 Gen kodiert für das Protein, das MBL-1-Gen ist lediglich ein Pseudogen. Das funktionelle Gen liegt zusammen mit den SP-A und SP-D - Genen auf Chromosom 10, in dem Bereich 10q21-24 (108). Das MBL-Gen umfasst vier Exons. Davon kodiert Exon 1 für die N-terminale cysteinreiche Region und einen Teil der kollagenähnlichen Domäne, Exon 2 für den restlichen kollagenähnlichen Bereich, Exon 3 für den α -helikalen Halsbereich und Exon 4 kodiert für die C-terminale CRD (108, 126). Punktmutationen im Exon 1 des MBL-2-Gens sind vor allem die Ursache für MBL-Mangel (135). Der Wildtyp des MBL-Gens wird dabei mit A bezeichnet, durch Punktmutationen entstandene Varianten mit B, C, bzw. D. Die B-Variante basiert auf einer Punktmutation in Codon 54 (GGC zu GAC) mit der Folge eines Aminosäureaustausches von Glycin zu Aspartat (119). Ebenfalls zum Ersatz eines für die Ausbildung der Kollagenhelix essentiellen Glycins durch Glutamat kommt es bei der Variante C, einer Punktmutation in Codon 57 (GGA zu GAA) (71). Bei beiden Mutationen resultiert eine Unterbrechung der Tripel-Helix im kollagenähnlichen Bereich. Es existiert eine weitere Punktmutation in Codon 52 (CGT zu TGT), D-Variante genannt, bei der ein Arginin durch Cystein ersetzt wird (76). Dies bedingt die Ausbildung zusätzlicher Disulfidbrücken und stört damit eine spätere Oligomerisierung (145). Bei allen drei Mutationen ist die Konzentration an funktionellem MBL im Serum erniedrigt, somit repräsentieren die Varianten B, C und D defekte Allele. Für diese mutierten Allele

liegt ein spezifisches ethnisches Verteilungsmuster vor. Das Allel der B-Variante ist in der kaukasischen Bevölkerung sowie bei einigen asiatischen Bevölkerungsteilen prädominant. Etwa 26 % aller Kaukasier sind Träger des mutierten Allels B. Dagegen tritt die Variante C nur bei Bewohnern subsaharischer Länder Afrikas auf, mit einer Häufigkeit bis zu 50-60 %. Die Variante D kommt sowohl in der kaukasischen Bevölkerung als auch in der Bevölkerung Westafrikas vor, allerdings zu einem wesentlich geringen Anteil von circa 5 % (135).

In der Promotorregion des MBL-2-Gens sind drei Nukleotidpolymorphismen beschrieben, welche die Transkriptionsaktivität beeinflussen und damit auch Auswirkung auf die Proteinserumkonzentration zeigen. Sie befinden sich an den Stellen -550 (H/L Polymorphismus), -221 (X/Y Polymorphismus) und +4 (P/Q Polymorphismus) (77, 78). Daraus konnte man die vier häufigsten Haplotypen LXP, LYP, LYQ und HYP ermitteln. Der am meisten MBL-produzierende Haplotyp ist HYP; LXP hingegen ist mit den niedrigsten Serumwerten assoziiert. Die Exon 1 Mutationen und die Polymorphismen in der Promotorregion scheinen ungleich miteinander in Verbindung zu stehen. Es existieren nur sieben häufige Haplotypen: HYPA, LYQA, LYPA, LYPB, LYQC, HYPD und LXPA. Während die Haplotypen HYPA und LYQA mit einer hohen, LYPA mit einer gemäßigten und LXPA mit einer niedrigen MBL-Produktion assoziiert sind, bedingen die Haplotypen LYPB, LYQC und HYPD einen defizienten Zustand mit sehr niedrigen bzw. oft nicht messbaren MBL-Serumlevels (77, 78). Die interindividuellen Unterschiede in den MBL-Plasmakonzentrationen sind oftmals groß. Bei Kaukasiern variieren die Werte teilweise um das 1000fache (< 20-1000 ng/ml) (15).

1.2.2. Surfactantprotein- D (SP- D)

Die Hauptproduktionsstätte des SP-D liegt in der Lunge bei den Typ II Alveolarzellen und den Clara-Zellen. Dennoch findet die Synthese des SP-D auch in vielen Epithelzellen außerhalb der Lunge statt, wohingegen die Synthese des SP-A auf die Lunge beschränkt bleibt (79). Zusammen mit der Tatsache, dass SP-D auch im Serum nachweisbar ist, gibt dies einen Hinweis darauf, dass SP-D in seiner Funktion

als Pathogen erkennendes Molekül auch für das angeborene Immunsystem außerhalb der Lunge eine wichtige Rolle zu spielen scheint.

1.2.2.1. Struktur

Im strukturellen Aufbau zeigt SP-D große Ähnlichkeiten zum MBL. Dessen Untereinheiten bestehen ebenso aus drei identischen, mit 43 kDa etwas größeren Peptidketten, welche sich in gleicher Weise wie die des MBLs zusammensetzen (58). Dabei enthält die kollagenähnliche Domäne des SP-D 59 statt 19 Gly-X-Y Triplets wie beim MBL und ist somit ein Stück länger (48). Das SP-D liegt meist als Tetramer vor, je vier Untereinheiten sind über ihre N-terminale Region miteinander verbunden und bilden ein kreuzförmiges Oligomer.

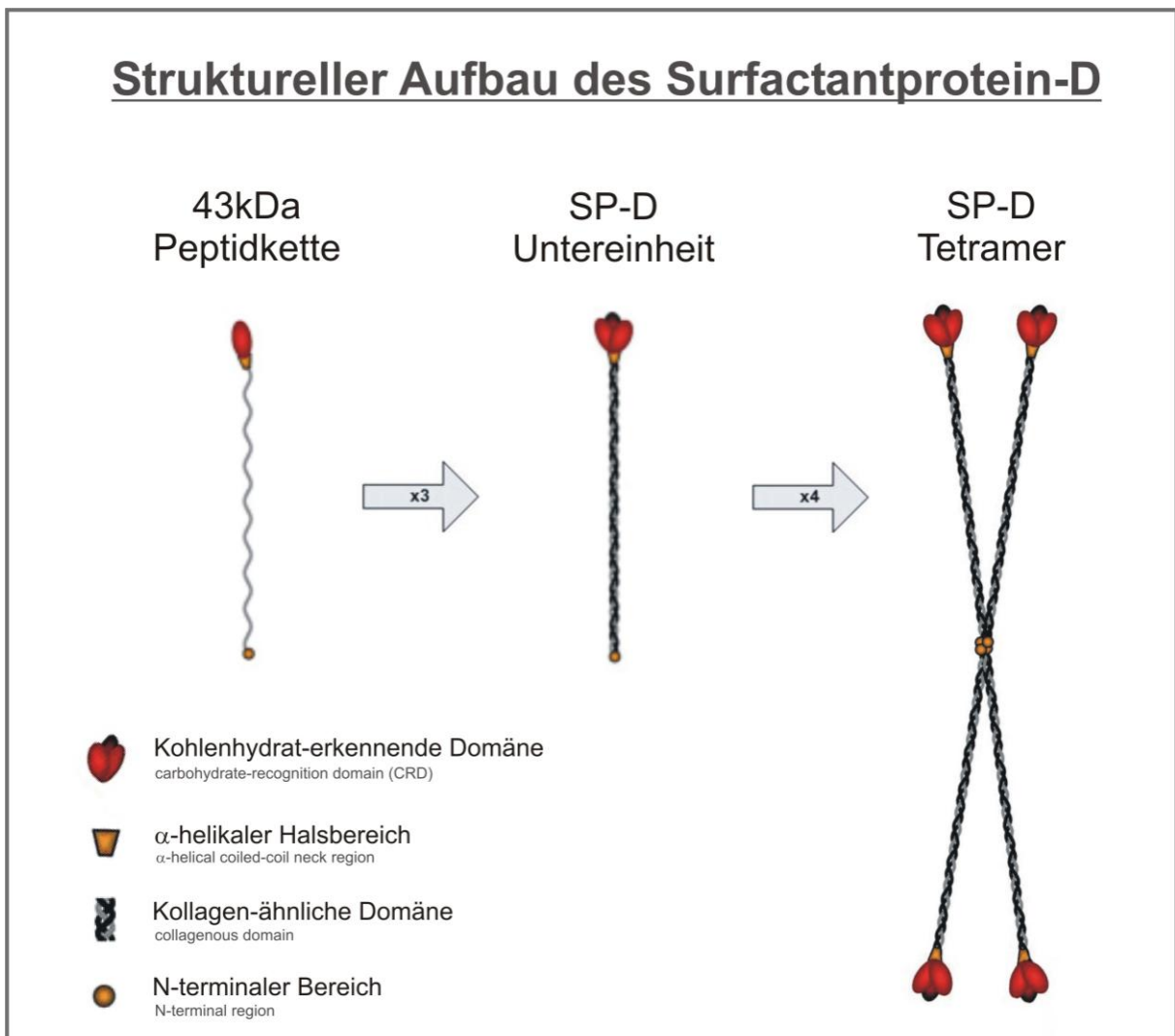


Abb. 5: Struktureller Aufbau des SP-D (modifiziert nach Kishore et al.,2005)

1.2.2.2. Funktion

SP-D zählt zu den „pathogen recognition receptors“ (PRR), welche mit für die Abwehr infektiöser Erreger zuständig sind. Dank seiner CRD ist das Protein dazu befähigt, an Oberflächenstrukturen von Bakterien, Viren und Pilzen zu binden und kann somit die Phagozytose der Krankheitserreger mit anschließender intrazellulärer Lyse verstärken (48). Dies kann durch Agglutination der Pathogene oder durch direkte Opsonierung vermittelt werden. Über Interaktionen von SP-D mit bestimmten Oberflächenrezeptoren auf Phagozyten wird deren Phagozytoseaktivität verstärkt. So wurde zum Beispiel eine gesteigerte Clearance von *Pseudomonas aeruginosa* nachgewiesen (6). Im Fall von *Mycobacterium tuberculosis* vermindert SP-D dessen Phagozytose durch Makrophagen und verhindert so eine weitere intrazelluläre Ausbreitung (25). Durch Bindung an Makrophagen kann SP-D auch deren Chemotaxis verstärken (9). Zudem hat SP-D direkte Effekte auf T-Lymphozyten und kann deren Produktion von Zytokinen und anderen proinflammatorischen Mediatoren beeinflussen (148).

1.2.2.3. Genetik

Zusammen mit den Genen der beiden anderen Kollektine befindet sich das Surfactantprotein-D Gen (SFTPD) auf dem langen Arm von Chromosom 10 im Bereich 10q 21-24 (108). Bisher sind für den codierenden Bereich des SFTPD Gens drei Nukleotidpolymorphismen bekannt (8, 14, 68). Bei allen ergeben sich Änderungen in der Aminosäuresequenz: Methionin zu Threonin an Stelle 11 (Met11Thr), Alanin zu Threonin an Stelle 160 (Ala160Thr) bzw. Serin zu Threonin an Position 270 (Ser270Thr). Die erste Variante zeigt Assoziationen zu niedrigen SP-D Serumspiegeln. Für diesen Aminosäureaustausch konnte eine Behinderung der Oligomerisierung nachgewiesen werden, welches eine reduzierte Bindungsfähigkeit für mikrobielle Erreger nach sich zieht (46, 70). Des Weiteren konnte für die Met11Thr-Variante ein Zusammenhang mit einer erhöhten Inzidenz für Tuberkulose gezeigt werden (29). Im Gegensatz dazu wurde eine positive Assoziation mit Methionin an Stelle 11 und der Entstehung einer „respiratory syncytial virus infection“ aufgedeckt (68).

1.2.3. Die Rolle von MBL und SP-D in der Immunabwehr bei chronischer Parodontitis

Beide Kollektine sind in ihrer Funktion als „pathogen recognition receptors (PRR)“ zuständig für die Erkennung von speziellen mikrobiellen Strukturen, den „pathogen associated molecular patterns (PAMPs)“. Zu den Liganden des MBL und SP-D zählen Lipopolysaccharide, an der äußeren Membran gramnegativer Bakterien, sowie Peptidoglykane und Lipoteichonsäure, zwei wichtige Bestandteile der Zellwände insbesondere grampositiver Bakterien (85, 90, 141). Diese Liganden enthalten Mannan und andere Zuckermoleküle, an welche die Kollektine mit ihrer CRD binden können, um anschließend über ihre spezifischen Funktionen das angeborene Immunsystem bei der Erregerelimination zu unterstützen. Parodontalpathogene Keime wie *Porphyromonas gingivalis* und *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* bestehen u.a. aus Lipopolysacchariden, extrazellulären und kapsulären Polysacchariden, welche allesamt hohe Anteile an Mannan und weiteren kollektinbindungsfähigen Zuckermolekülen aufweisen (5, 7, 24, 98). Damit bieten sie den Kollektinen MBL und SP-D eine gute Angriffsfläche. Die Lipopolysaccharide zählen zu den wichtigsten Virulenzfaktoren parodontalpathogener Bakterien und induzieren ein weites Spektrum an proinflammatorischen Reaktionen im Rahmen der Pathogenese der chronischen Parodontitis (75). Eine Aufgabe der Proteine MBL und SP-D besteht also möglicherweise darin, im Zuge einer frühen Immunantwort durch Opsonierung und Komplementaktivierung seitens des MBLs, ein Fortschreiten des Entzündungsprozesses zu verhindern.

2. Problemstellung und Zielsetzung

Das *Mannose bindende Lektin (MBL)* und das *Surfactant Protein D (SP-D)* sind Kollektine, die eine wichtige Rolle in der angeborenen Immunabwehr einnehmen. Sie gehören zur Gruppe der „pathogen recognition receptors (PRR)“, die spezielle „pathogen associated molecular patterns (PAMPs)“ erkennen (45, 94). Dadurch kann das menschliche Immunsystem pathogene Mikroorganismen leichter beseitigen. Parodontalpathogene Erreger besitzen eine Reihe dieser Oberflächenstrukturen, daher sind MBL und SP-D für die Entstehung und den Verlauf der chronischen Parodontitis von hoher Relevanz. Während einerseits ein MBL- bzw. SP-D- Mangel das Risiko für Infektionskrankheiten erhöhen, hat MBL andererseits auch eine Bedeutung als Akut-Phase-Protein und SP-D wird wegen seiner Erhöhung bei zahlreichen Lungen- und Infektionskrankheiten als Biomarker diskutiert (48).

In der vorliegenden Arbeit wird untersucht, inwieweit sich die Proteinkonzentrationen der beiden Kollektine im Plasma von an chronischer Parodontitis Erkrankten und parodontal gesunden Kontrollpersonen unterscheiden. Hierfür werden mittels ELISA die MBL-Plasmakonzentrationen von 362 Patienten und 777 Kontrollpersonen und die SP-D-Plasmakonzentrationen von 105 Patienten und 122 Kontrollpersonen ermittelt und verglichen. Neben der Unterscheidung der Geschlechter, werden, unter Berücksichtigung der Tatsache, dass dem Risikofaktor Nikotinabusus in der Pathogenese der chronischen Parodontitis ein Beitrag von circa 20% zugeschrieben wird (45, 94), die Untersuchungskollektive für MBL und SP-D zusätzlich bezüglich ihres Nikotinkonsums in Raucher und Nichtraucher stratifiziert. Unter Zuhilfenahme dieser Einteilung wird in der vorliegenden Studie außerdem ein Vergleich der Plasmakonzentrationen der Patienten in Hinblick auf deren Raucherstatus gestellt. Damit wird untersucht, inwieweit das Rauchen Auswirkungen auf die Expression von funktionellem MBL bzw. SP-D im Plasma bei chronischer Parodontitis zeigt.

Zwillingsstudien haben gezeigt, dass genetische Faktoren bei der Pathogenese der chronischen Parodontitis einen Beitrag von bis zu 50% leisten (86).

Für beide Kollektive sind bereits in ihren jeweiligen codierenden Genen, MBL-2 Gen bzw. SFTPD-Gen, Polymorphismen bekannt. Bei allen Studienteilnehmern wurden im Vorfeld der eigenen Untersuchungen im Hinblick auf diese Mutationen Genanalysen durchgeführt. Damit können die gemessenen Plasmakonzentrationen bezüglich der Genotypfrequenzen beurteilt werden. Es wird zudem der Fragestellung nachgegangen, ob Plasmakonzentrationsunterschiede von MBL und SP-D zwischen den Patienten- und Kontrollgruppen genetisch erklärbar sind.

Mit dem gezielten Vergleich der MBL-Plasmakonzentrationen in Patienten- und Kontrollgruppe hinsichtlich des Raucherstatus und dem Vorhandensein genetischer Mutationen im MBL-2 Gen, soll abschließend der Einfluss des Rauchens auf die MBL-Plasmalevel unter Berücksichtigung des genetischen Hintergrunds beurteilt werden.

3. Material und Methoden

3.1. Studienpopulationen

Alle Teilnehmer der Studie, sowohl Individuen der Patientengruppe als auch der Kontrollgruppe, sind erwachsene Kaukasier. Um eine ethnische Homogenität zu gewährleisten, wurden nur Personen mit Eltern und Großeltern deutscher Abstammung ausgewählt. Dadurch können alle Teilnehmer einer ethnischen Gruppe zugeordnet werden. Personen mit gravierenden Erkrankungen wurden aus der Studienpopulation ausgeschlossen. Dies betraf vor allem Menschen mit systemischen Erkrankungen wie Diabetes mellitus, Immundefiziente oder ein Patientenklientel mit erhöhtem Risiko für eine bakterielle Endokarditis. Auch schwangere Frauen konnten an der Studie nicht teilnehmen. Vor der Aufnahme in die Studie, erhielten alle Patienten Informationen über Ziele, Hintergründe und Ablauf des Projekts und gaben ihre schriftliche Einverständniserklärung ab. Die Studie stimmt mit den ethnischen Leitlinien der Deklaration von Helsinki überein und wurde von der Ethikkommission der Medizinischen Fakultät der Ludwigs-Maximilians-Universität bewilligt (Nr. 290 / 01).

3.1.1. Patientengruppen

Alle Personen der Patientengruppen waren in der Klinik und Poliklinik für Zahnerhaltung und Parodontologie der Ludwig-Maximilians-Universität München in Behandlung. Die chronische Parodontitis wurde anhand eines standardisierten zahnärztlichen Untersuchungsprotokolls diagnostiziert. Dieses bestand aus folgenden Kriterien:

- Beurteilung des Furkationsbefalls durch Verwendung einer Naber 2-Sonde (Hu-Friedy Europe, Leimen, Deutschland), vom Eingang der Furkation bis zum Defektende in horizontaler Richtung; Klassifizierung des Grads des Furkationsbefalls (FI-FIII) mit Hilfe der Einteilung von Nyman und Lindhe (93)

- Beurteilung der Taschensondierungstiefen (TST) an sechs Stellen pro Zahn (mesio-bukkal, medio-bukkal, disto-bukkal, mesio-oral, medio-oral, disto-oral); Messung der Taschentiefe vom Gingivarand bis zum Sulcusboden entlang der Zahnachse durch Verwendung einer Parodontalsonde PCP (Hu-Friedy Europe, Leimen, Deutschland)
- Vorhandensein einer Blutung auf Sondieren
- Abschätzung des horizontalen und vertikalen Knochenabbaus anhand eines Orthopantomogramms

Zur Aufnahme in die Patientengruppe mussten folgende Untersuchungsergebnisse vorliegen, welche Kriterien für die Klassifikation einer generalisierten Form der Parodontitis darstellten:

- Die Patienten mussten mindestens 15 Zähne in situ aufweisen.
- Es sollten mindestens 8 Zähne vorliegen, deren Taschensondierungstiefe entweder an wenigstens einer der gemessenen Stellen ≥ 5 mm war oder deren Furkationsbefall \geq der Klasse II zugeordnet werden konnte.
- Alternativ musste an erkrankten Zähnen radiologisch eine Distanz von ≥ 3 mm zwischen Limbus alveolaris und der Schmelz-Zementgrenze angetroffen werden.

Patienten, deren klinisches Erscheinungsbild, deren Röntgenbefund und deren mikrobiologische Diagnostik gemäß der Klassifikation von Tonetti et al. (130) Hinweise auf eine aggressive Form der Parodontitis gaben, wurden von der Studie ausgeschlossen.

Außerdem wurde anhand der oben genannten Kriterien eine weitere Einteilung gemäß des Schweregrads in milde, moderate und schwere Form der chronischen Parodontitis vorgenommen. Die speziellen Einteilungskriterien sind aus Tabelle 1 ersichtlich.

Tab. 1: Kriterien zur Einteilung der Patienten mit chronischer Parodontitis in die jeweiligen Schweregrade

	milde Form	moderate Form	schwere Form
maximale Taschensondierungstiefe	6 mm	8 mm	> 8 mm
Attachmentverlust > 30%	≤ 5 Zähne	≤ 8 Zähne	> 8 Zähne
Attachmentverlust > 50%	-	≤ 5 Zähne	> 5 Zähne

3.1.2. Kontrollgruppen

Die Personen der Kontrollgruppen waren ebenfalls kaukasischer Herkunft und nicht miteinander verwandt. Keiner der ausgewählten Kontrollpersonen hatte in seiner Krankenvorgeschichte eine Parodontitis oder einen Zahnverlust aufgrund einer pathogenen Zahnmobilität vorzuweisen. Folgende Aufnahmekriterien wurden für die Kontrollgruppe aufgestellt:

- ein Gebissstatus mit mindestens 22 Zähnen in situ
- höchstens ein Messpunkt mit einer Taschensondierungstiefe ≥ 3 mm
- keine Anzeichen für Furkationsbefall
- Abwesenheit von klinisch oder radiologisch sichtbarem Attachmentverlust (z.B. Zahnfleischrückgang)

3.1.3. Studienkollektive

3.1.3.1. MBL -Studienkollektiv

Das Durchschnittsalter der 362 Probanden umfassenden *Patientengruppe* betrug 54,2 Jahre mit einer Standardabweichung von 11,1 Jahren. Die Altersspanne reichte dabei von 18 bis 84 Jahren. Die Geschlechtsverteilung zeigte, dass mit 54,4 % etwas mehr Frauen als Männer (45,6 %) vertreten waren. 32,6 % von 328 bezüglich ihres Nikotinabusus befragten Patienten fielen unter den Status Raucher. Dafür mussten

innerhalb des letzten Jahres Minimum 10 Zigaretten pro Tag konsumiert worden sein.

In der *Kontrollgruppe* wurden insgesamt die Proben des Blutplasmas von 777 Personen auf ihre MBL-Konzentration untersucht. Das Durchschnittsalter betrug 47,3 Jahre bei einer Standardabweichung von 9,2 Jahren. Die jüngste untersuchte Kontrollperson war 35 Jahre alt, die Älteste war 68 Jahre. 96 (12,5 %) Personen der Kontrollgruppe waren Raucher (s. Tab. 2).

Tab. 2: Basisdaten des MBL-Studienkollektivs

	Patientengruppe	Kontrollgruppe
Anzahl	n = 362	n = 777
Altersdurchschnitt	54,2 a	47,3 a
Standardabweichung	11,1 a	9,2 a
Altersverteilung	18 – 84 a	35 – 68 a
Ratio: Männlich / Weiblich	165 (45,6 %) / 183 (54,4 %)	514 (66,2 %) / 252 (33,8 %)
Ratio: Raucher / Nichtraucher	107 (32,6 %) / 221 (67,4 %)	96 (12,5 %) / 672 (87,5 %)

Bei insgesamt 1120 Personen des Untersuchungskollektivs wurde im Vorfeld der eigenen Untersuchungen für das MBL-2 Gen eine Genotypisierung hinsichtlich der Exon1 Mutationen in den Codons 52, 54 und 57 mittels einer Polymerasekettenreaktion (engl. polymerase chain reaction, PCR) und anschließender Restriktionslängen-Polymorphismen-Analyse (engl. restriction fragment length polymorphism, RFLP) vorgenommen. Dank dieser Untersuchungen sind die Genotypen für das MBL-2 Gen von 767 Kontrollpersonen und 353 Patienten mit chronischer Parodontitis bereits bekannt und wurden in Tabelle 3 aufgeführt.

Tab. 3: Genotypverteilung bezgl. des MBL-2 Gens im Studienkollektiv (AA steht für den Wildtyp, Nicht AA beschreibt die Gesamtzahl der Mutationen)

Genotyp im MBL-2 Gen	Gesamtkollektiv n = 1120	Patienten mit chronischer Parodontitis n = 353	Kontrollgruppe n = 767
AA	655 (58,5 %)	189 (52,2 %)	466 (60,8 %)
Nicht AA	465 (41,5 %)	164 (47,8 %)	301 (39,2 %)
AB	259 (23,1 %)	102 (28,9 %)	157 (20,5 %)
AC	32 (2,9 %)	10 (2,8 %)	22 (2,9 %)
AD	118 (10,5 %)	33 (9,3 %)	85 (11,1 %)
BB	18 (1,6 %)	4 (1,1 %)	14 (1,8 %)
CC	0 (0,0 %)	0 (0,0 %)	0 (0,0 %)
DD	8 (0,7 %)	2 (0,6 %)	6 (0,8 %)
BC	8 (0,7 %)	3 (0,8 %)	5 (0,7 %)
BD	22 (2,0 %)	10 (2,8 %)	12 (1,6 %)
CD	0 (0,0 %)	0 (0,0 %)	0 (0,0 %)

3.1.3.2. SP-D -Studienkollektiv

Die *Patientengruppe* umfasste insgesamt 105 Patienten, mit einem Durchschnittsalter von 52,9 Jahren bei einer Standardabweichung von 12,3 Jahren. Das Alter der Patienten lag zwischen 25 und 74 Jahren. 54 % waren Männer, 46 % waren Frauen.

In die *Kontrollgruppe* wurden 122 Personen im Alter von 18 bis 73 Jahren aufgenommen. Das Durchschnittsalter betrug 39,0 Jahre bei einer Standardabweichung von 13,3 Jahren. 61 % waren Männer, 39 % waren Frauen (s. Tab. 4).

Tab. 4: Basisdaten des SP-D-Studienkollektivs

	Patientengruppe	Kontrollgruppe
Anzahl	n = 105	n = 122
Altersdurchschnitt	52,9 a	39,0 a
Standardabweichung	12,3 a	13,3 a
Altersverteilung	25-74 a	18-73 a
Ratio: Männer / Frauen	48 (45,7 %) / 57 (54,3 %)	74 (60,7 %) / 48 (39,3 %)
Ratio: Raucher / Nichtraucher	35 (35 %) / 65 (65 %)	nicht erhoben

3.2. Material

3.2.1. Chemikalien

Bezeichnung

BSA

PBS

Aqua ad.

Hersteller

Sigma

PAA

Braun

Reagenzien des MBL Oligomer ELISA Kits der Firma Antibodyshop:

Verdünnungslösung, MBL Kalibratoren, Waschlösung, biotinierter MBL Antikörper, HRP-Streptavidin Konjugat, TMB Substratlösung, Stopplösung

Reagenzien des SP-D ELISA Kits der Firma BioVendor:

Verdünnungslösung, SP-D Kalibratoren, Waschlösung, Konjugatlösung, TMB Substratlösung, Stopplösung, Qualitätskontrollen

3.2.2. Reagenzsysteme ("Kits")

Zur Quantifizierung der MBL Plasmakonzentrationen wurde das MBL Oligomer ELISA Kit der Firma Antibodyshop (Gentofte, Dänemark) verwendet. Neben den oben aufgeführten Substanzen, ist darin eine mit MBL-Antikörper beschichtete Platte mit 96 Kavitäten enthalten.

Für die Bestimmung der SP-D-Plasmakonzentrationen wurde der RD194059100 Human Surfactant Protein D ELISA der Firma BioVendor (Brno, Tschechische Republik) ausgewählt. Darin ist neben den oben genannten Reagenzien eine mit monoklonalen Antisurfactantprotein D Antikörpern beschichtete 96 kavitäre Mikrotiterplatte enthalten.

3.2.3. Humanes Serum

Zur MBL-Plasmaanalyse standen Proben von insgesamt 362 Personen mit chronischer Parodontitis und 777 Kontrollpersonen zur Verfügung. Für die Plasmakonzentrationsmessung von SP-D wurden Proben von 105 chronischen Parodontitispatienten und 122 parodontal gesunden Kontrollpersonen verwendet.

3.2.4. Verbrauchsmaterialien

Bezeichnung	Hersteller
Pipettenspitzen 10 µl, 200 µl, 1000 µl	Eppendorf
Falkons 15 ml, 50 ml	Cellstar
Pipetten/Zellkultur	Costar
1,5 ml Reaktionsgefäße	Eppendorf
Handschuhe puderfrei	Meditrade
Parafilm	Brand
Alufolie	Aro
Oberflächendesinfektionsmittel	Braun

3.2.5. Geräte

Bezeichnung	Hersteller
Kühlschrank (- 20°)	Liebherr
Kühlschrank (- 80°)	Bosch
Kühlraum (4°)	Viessmann Kältetechnik
Wasserbad	Heto
Vortex: Denley Vibro Mix	Thermo Electron Corporation
Schüttler: Denley Mini Mix	Thermo Electron Corporation
Waschapparat: Wellwash384	Thermo Electron Corporation
Pipetten	Eppendorf
Easypet	Eppendorf
Zentrifuge: Allegra 25R	Beckmann coulter
Reinstwassergerät	Nanopure Diamond
Microtiterplatten-Reader: Varioskan Flash	Thermo Electron Corporation

3.3. Methoden

3.3.1. Blutentnahme

Allen Studienteilnehmern wurde aus einer Kubitalvene 9 ml venöses Blut entnommen. Dafür benutzte man sterile Röhrchen (Monovette®, Sarstedt, Nümbrecht) mit 1,6 mg Kalium-EDTA-Lösung pro ml Blut. Die erhaltenen Blutproben wurden anschließend vorsichtig mehrmals gewendet und mit einer entsprechenden Probandennummer gekennzeichnet, um die Anonymität der Spender bei weiteren Untersuchungen zu sichern.

3.3.2. Plasmagewinnung und Lagerung

Das so gewonnene Vollblut wurde anschließend zehn Minuten lang bei 2000 rpm zentrifugiert. Das Plasma im Überstand wurde abpipettiert und je Proband auf drei 2ml-Tubes aliquotiert. Die Plasmaproben wurden bei -80° C gelagert. Das Erythrozytensediment wurde für Mutationsanalysen zur Verfügung gestellt.

3.3.3. Bestimmung der Plasmakonzentrationen via ELISA

Bei der ausgewählten Nachweismethode, dem MBL Oligomer ELISA bzw. Human Surfactant Protein D ELISA, handelt es sich um einen enzymgekoppelten Immunsorptionsstest (engl.: enzyme linked immunosorbent assay), bei dem zwei Antikörper verwendet werden (Sandwich-Elisa). Dieses Testverfahren ermöglicht einen quantitativen Nachweis von Proteinen. In diesem Fall handelt es sich um die MBL- bzw. SP-D-Plasmakonzentrationen der Patienten- und Kontrollproben.

3.3.3.1. MBL Oligomer ELISA

Testprinzip

Die Kavitäten der Mikrotiterplatte sind mit einem monoklonalen Antikörper beschichtet, der gegen die „carbohydrate-binding domain“ des MBL Proteins gerichtet ist. Nach Zugabe der Patientenplasmen binden die zu detektierenden Antigene der Proteine an die vorhandenen Antikörper. Die ungebundenen Bestandteile der Plasmen werden ausgewaschen, bevor die Reaktionsvertiefungen erneut mit dem monoklonalen MBL-Antikörper inkubiert werden, welche dieses Mal mit Biotin markiert sind. Diese Detektionsantikörper binden ebenfalls an die MBL Proteine und es entsteht ein Antikörper-Antigen-Antikörper Komplex. Durch erneutes Waschen wird auch der Überschuss des zweiten Antikörpers entfernt. Auf die Platte wird nun mit Meerrettichperoxidase (engl.: horseradish peroxidase, HRP) konjugiertes Streptavidin gegeben, das mit hoher Affinität an die Biotin-Moleküle binden kann. Nach einem weiteren Waschvorgang werden die Kavitäten mit einem chromogenen Substrat der Peroxidase, dem Tetramethylbenzidin (TMB-Substrat) inkubiert. Das zunächst farblose Chromogen wird dadurch in sein blaues Endprodukt umgewandelt. Durch Zugabe einer schwefelsäurehaltigen Stopplösung wird ein stabiler gelber Farbkomplex gebildet. Es folgt eine photometrische Messung.

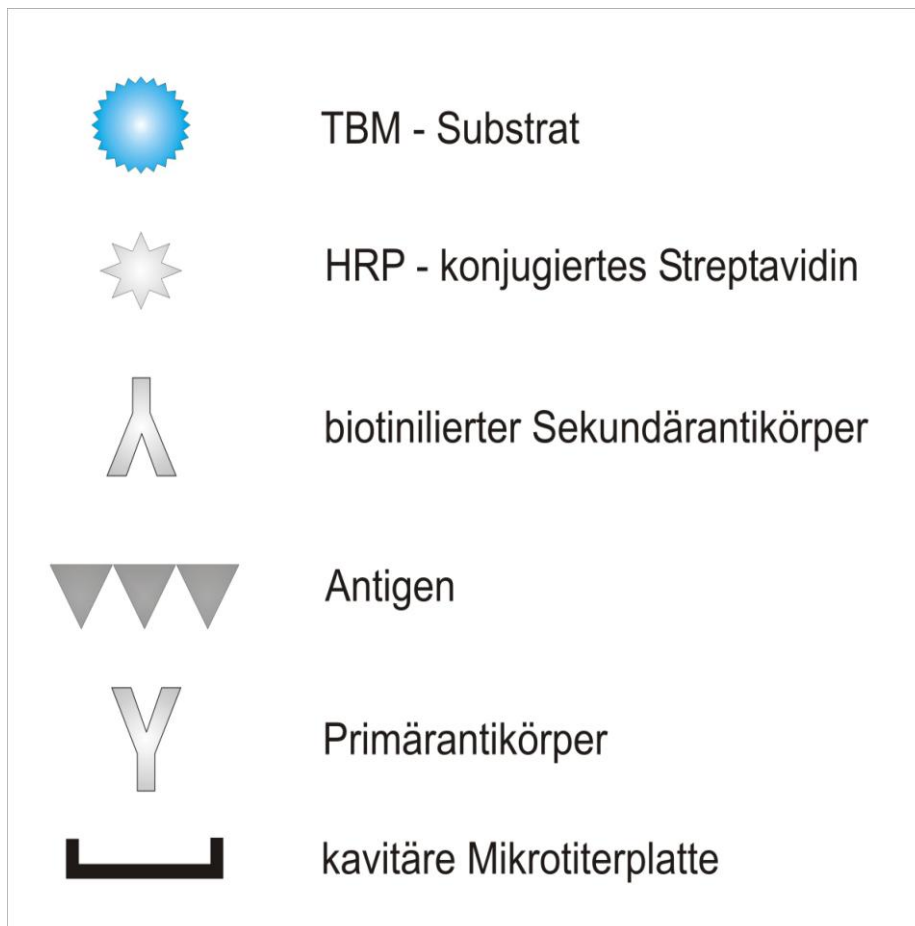


Abb. 6. Schematische Darstellung des S-ELISAs (modifiziert nach Lappin et al.,2000)

Die optische Dichte (messbare Extinktion) der entstandenen Farbreaktion verhält sich direkt proportional zur MBL-Konzentration der verwendeten Proben. Parallel zu den Plasmaproben wurden Standardlösungen eingesetzt, deren MBL-Konzentrationen bekannt waren. Hieraus konnte somit eine Standard-Kalibrationskurve errechnet werden und dadurch eine quantitative Beurteilung ermöglicht.

Probenvorbereitung

Durch Testung verschiedener Verdünnungskonzentrationen zeigte sich, dass eine bestmögliche photometrische Erfassbarkeit der MBL-Konzentrationen im Serum bei 100-facher Verdünnung erzielt werden konnte. Somit wurden alle Proben vor der weiteren Verwendung im Verhältnis 1:100 verdünnt. Für wenige Proben war diese

Verdünnung jedoch zu hoch bzw. zu niedrig und deren Plasmakonzentrationswerte für MBL lagen außerhalb des Messbereichs. Mit diesen Proben wurde der Versuch jeweils mit einer niedrigeren Verdünnung (50-fach) bzw. einer höheren Verdünnung (150-fach) wiederholt.

Die Verdünnungslösung, in welche die Plasmaproben aufgenommen wurden, bestand aus dem im Kit enthaltenen „Sample Diluent“. Dieses wurde vor Probenzugabe mit einem in PBS gelösten 10%igen BSA versetzt, sodass in der endgültigen Verdünnungslösung 1 % v/v adultes Serumalbumin enthalten war. Dadurch banden die im Plasma enthaltenen Immunglobuline an das bovine Serumalbumin und die Gefahr einer potentiellen Interaktion der Immunglobuline mit den zu detektierenden Antigenen war reduziert.

Testdurchführung

Die Durchführung des Versuches erfolgte gemäß des dem Kit beigefügten Originalprotokolls. Die Plasmakonzentrationen der Proben und Standardlösungen wurden jeweils im Duplikat überprüft. Nachdem alle zu verwendenden Reagenzien auf Raumtemperatur erwärmt worden waren, wurde nach der Verdünnung der Proben je Kavität 100 µl Probe bzw. Standardlösung einpipettiert. Nach einer Stunde Inkubationszeit auf dem Schüttler (20rpm) und dreimaligem Waschen wurde erneut in jede Kavität 100 µl biotinierter Antikörper zugegeben. Die Platte wurde eine Stunde auf den Schüttler gestellt (20rpm) und anschließend dreimal gewaschen. Als dritte Lösung wurde nun in jede Reaktionsvertiefung 100 µl HRP-Streptavidin pipettiert. Man inkubierte eine Stunde (20rpm) und führte drei Waschvorgänge durch. Dem folgte die Zugabe von 100 µl TMB-Substrat je Kavität. Hier betrug die Inkubationszeit 15 Minuten im Dunklen bei Raumtemperatur. Zuletzt wurde zu jeder Vertiefung 100 µl Stopplösung zugegeben. Innerhalb der nächsten 30 Minuten wurde die optische Dichte in den Kavitäten bei einer Wellenlänge von 450 nm bestimmt. Hierfür wurde das Mikrotiterplattenlesegerät „Varioskan Flash“ mit dem Programm „Skan It Software“ verwendet. Die Referenzwellenlänge lag bei 620 nm.

Standard

Standardlösungen mit bekanntem MBL-Gehalt zur Berechnung der Standard-Kalibrationskurve wurden in folgenden Konzentrationen eingesetzt:

40	ng/ml
20	ng/ml
10	ng/ml
5	ng/ml
2,5	ng/ml
1	ng/ml
0,5	ng/ml
0	ng/ml

3.3.3.2. Human Surfactant Protein D ELISA

Testprinzip

Der prinzipielle Ablauf verlief analog dem oben beschriebenen MBL-ELISA. Nur die Zugabe des HRP konjugierten Streptavidins war an die Inkubation mit dem zweiten SP-D Antikörper gekoppelt und erfolgte somit in einem Schritt. Zusätzlich wurden zwei Proben mit menschlichem, rekombinantem SP-D zur Qualitätskontrolle eingesetzt.

Probenvorbereitung

Um die Plasmaproben für den SP-D-ELISA vorzubereiten, wurden sie nach Protokollempfehlung vor Gebrauch im Verhältnis von 1:100 in der Verdünnungslösung aufgenommen.

Testdurchführung

Die Durchführung des Versuchs erfolgte gemäß den Herstellerangaben. Zuerst wurden alle verwendeten Materialien auf Raumtemperatur erwärmt. Anschließend wurde von Kalibratoren, Qualitätskontrollen und verdünnten Proben je 100 µl in zwei

Kavitäten der ELISA-Platte einpipettiert, da die Konzentrationsmessung in Duplikaten erfolgen sollte. Nach 18-stündiger Inkubation über Nacht bei 4°C und dreimaligem Waschen, wurde in jede Reaktionsvertiefung 100 µl Konjugatlösung zugegeben und für weitere zwei Stunden bei Raumtemperatur auf dem Schüttler bei 300rpm inkubiert. Nach drei weiteren Waschvorgängen schloss sich die Zugabe von 100 µl TBM Substratlösung je Kavität an. Nach einer Inkubation von 10 Minuten bei Raumtemperatur im Dunkeln wurde dann in jede Kavität 100 µl Stopplösung hinzu pipettiert. Bei einer Wellenlänge von 450 nm und einer Referenzwellenlänge von 405 nm wurde zum Schluss mit dem Mikrotiterplattenlesegerät „Varioskan Flash“ die Extinktion der einzelnen Proben bestimmt und die SP-D Konzentration errechnet.

Standard

SP-D Kalibratoren für die Erstellung einer Standardkurve wurden in folgenden Konzentrationen eingesetzt:

100	ng/ml
50	ng/ml
25	ng/ml
12,5	ng/ml
6,25	ng/ml
3,13	ng/ml
1,56	ng/ml

3.4. Statistische Auswertung

Zur Analyse der Plasmakonzentrationen von MBL und SP-D wurde der Mann-Whitney U-Test unter Verwendung von SPSS Version 15.0 (SPSS Inc. Chicago, Illinois, USA) herangezogen. Mittels des Mann-Whitney-U-Tests (44) können Unterschiede zweier Gruppen auf Signifikanz getestet werden. Im Unterschied zum Fisher-Test werden hier nicht Prozentwerte, sondern Unterschiede in stetigen Werten überprüft. Da der U-Test (44) die Rohwerte in Ränge transformiert, wird der Test häufig bei Daten angewandt, in denen sich Ausreißer oder Extremwerte finden. Diese Werte erhalten lediglich den höchsten bzw. den niedrigsten Rang und fallen bei der Überprüfung der Gruppenunterschiede nicht mehr so stark ins Gewicht. Der α -Fehler wurde auf 5 % festgelegt, sodass p -Werte $< 0,05$ als statistisch signifikant betrachtet wurden.

4. Ergebnisse

4.1. MBL-Plasmakonzentrationen

4.1.1. Vergleich von Kontroll- mit Patientengruppe

In beiden Untersuchungsgruppen, sowohl in der Patientengruppe mit chronischer Parodontitis als auch in der Kontrollgruppe parodontal Gesunder, wurden mittels eines MBL-Oligomer-ELISA die Plasmakonzentrationen für MBL bestimmt. Daraus ergab sich für die 777 Kontrollpersonen eine mittlere MBL-Plasmakonzentration von 1584,8 ng/ml bei einer Standardabweichung von 1362,6 ng/ml. Die Spannweite zwischen dem niedrigsten und höchsten gemessenen MBL-Wert reichte von 0,3 ng/ml bis 11203,0 ng/ml. Der Median betrug 1324,2 ng/ml. Die mittlere MBL-Konzentration im Plasma der 362 untersuchten Patienten war im Vergleich zur Kontrollgruppe erniedrigt und lag bei 1461,2 ng/ml. Die Standardabweichung betrug hier 1434,5 ng/mg und die Spannweite der gemessenen MBL-Werte reichte von 1,3 ng/ml bis 9775,6 ng/ml. In dieser Gruppe war der Median 1218,9 ng/ml. Die MBL-Plasmakonzentration der Patientengruppe war gegenüber der der Kontrollgruppe signifikant erniedrigt, der ermittelte p-Wert lag bei 0,027 (s. Tab.4 und Abb.7).

Tab. 4: Vergleich der MBL-Plasmakonzentration bei Patienten mit chronischer Parodontitis und Kontrollpersonen

	Patienten mit chronischer Parodontitis n = 362	Kontrollgruppe n = 777	p - Wert
Median	1218,9 ng/ml	1324,2 ng/ml	0,027
Spannweite	1,3 – 9775,6 ng/ml	0,3 – 11203 ng/ml	
Mittlere Plasmakonzentration ± Standardabweichung	1461,2 ng/ml ± 1434,5 ng/ml	1584,8 ng/ml ± 1362,6 ng/ml	

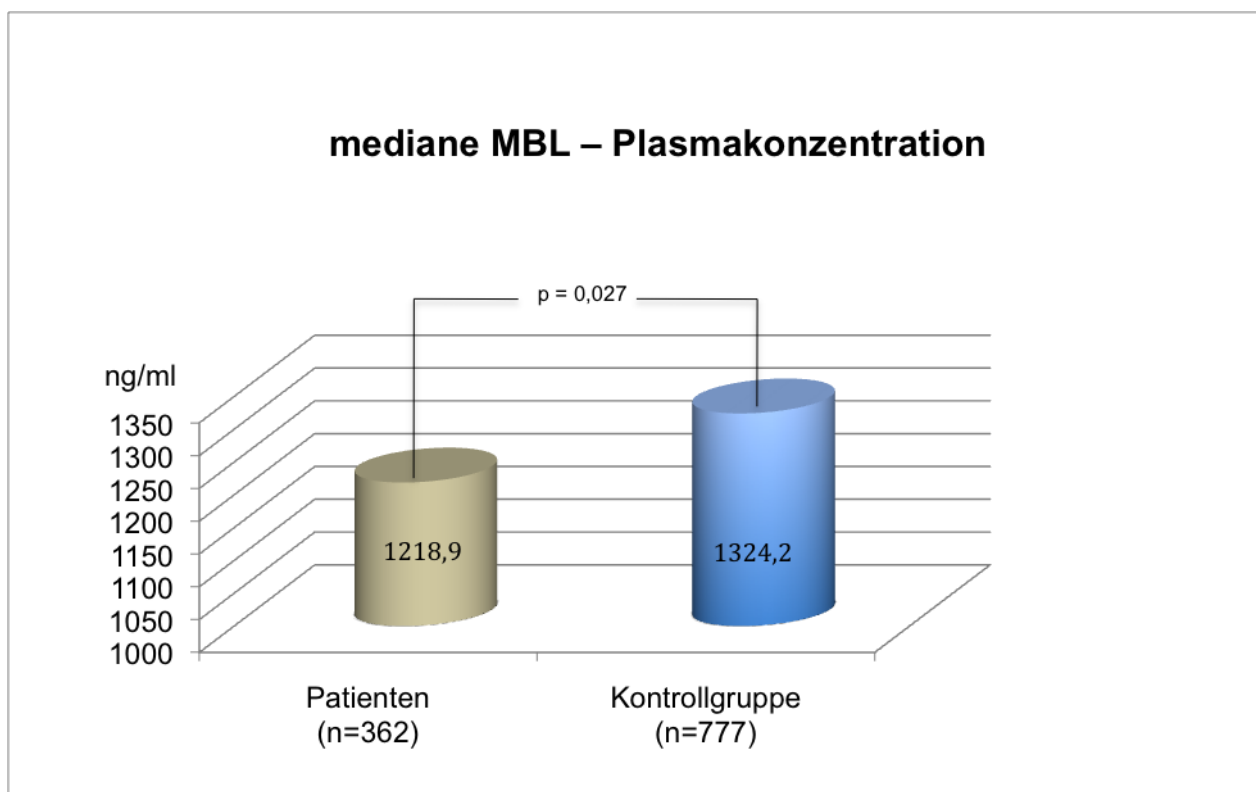


Abb. 7: Mediane MBL-Plasmakonzentration bei Patienten mit chronischer Parodontitis und Kontrollgruppe in ng/ml

Ein signifikanter geschlechtsspezifischer Unterschied hinsichtlich der MBL-Plasmakonzentration ist nur in der Kontrollgruppe zu erkennen. Hier haben Männer signifikant höhere Plasmalevel als Frauen. Der ermittelte p-Wert liegt bei 0,041. In der Patientengruppe hingegen, ist dieser Effekt nicht erkennbar, der p-Wert ist 0,154 (s. Tab. 5,6 und Abb. 8).

Tab. 5: Vergleich der MBL-Plasmakonzentration bei Frauen und Männern der Kontrollgruppe

	Männer der Kontrollgruppe n = 514	Frauen der Kontrollgruppe n = 252	p - Wert
Median	1448,1 ng/ml	1195,3 ng/ml	0,041
Spannweite	0,3 – 11203,0 ng/ml	1,3 – 7602,7 ng/ml	
Mittlere Plasmakonzentration ± Standardabweichung	1656,8 ng/ml ± 1411,3 ng/ml	1438,6 ng/ml ± 1266,8 ng/ml	

Tab. 6: Vergleich der MBL-Plasmakonzentration bei Frauen und Männern mit chronischer Parodontitis

	Männer mit chronischer Parodontitis n = 165	Frauen mit chronischer Parodontitis n = 183	p - Wert
Median	1219,5 ng/ml	1218,2 ng/ml	0,154
Spannweite	3,3 – 8847,3 ng/ml	1,3 – 9775,6 ng/ml	
Mittlere Plasmakonzentration ± Standardabweichung	1620,8 ng/ml ± 1592,9 ng/ml	1291,9 ng/ml ± 1207,3 ng/ml	

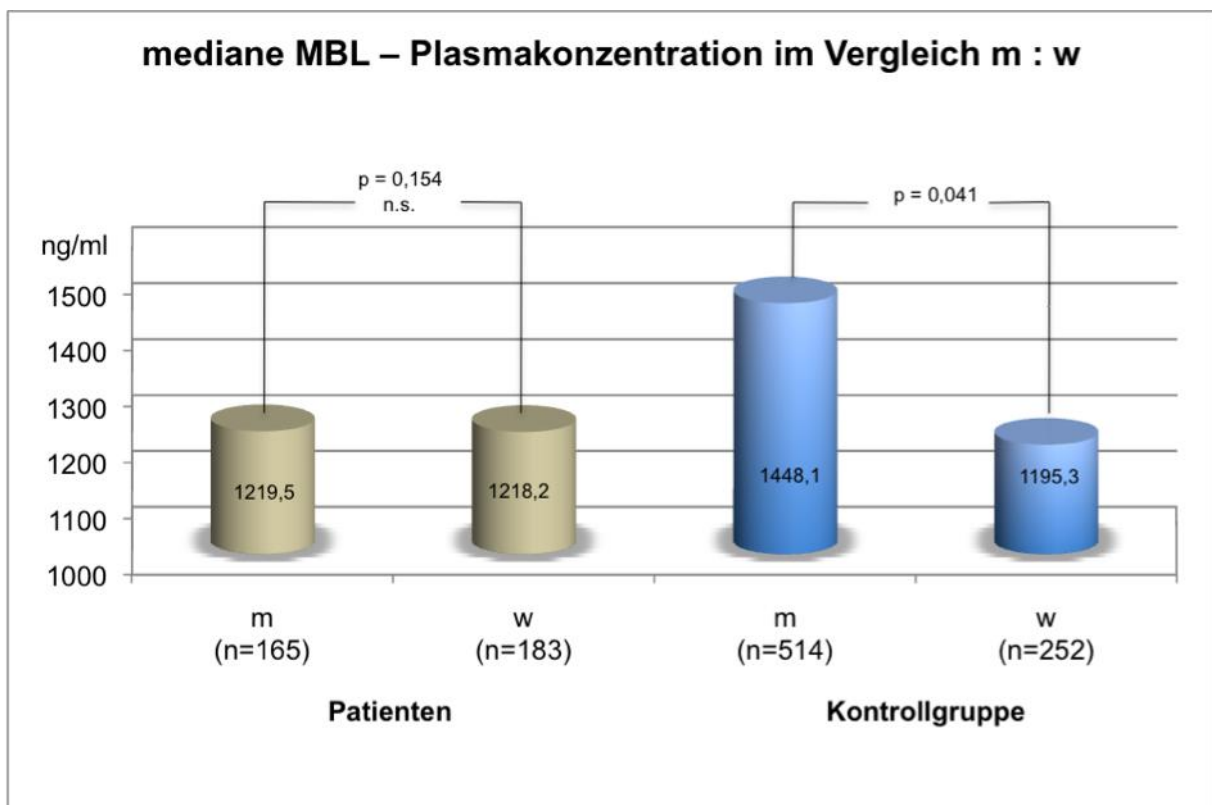


Abb. 8: Geschlechterspezifischer Vergleich der medianen MBL-Plasmakonzentration in ng/ml bei Patienten mit chronischer Parodontitis und der Kontrollgruppe

4.1.2. Zusammenhang mit Nikotinabusus

Zur Beurteilung, inwieweit sich Nikotinkonsum auf die Expressionslevel von MBL bei chronischer Parodontitis auswirkt, wurde das Untersuchungskollektiv gemäß dem Raucherstatus in zwei Untergruppen Raucher und Nichtraucher aufgeteilt und deren jeweiligen MBL-Plasmakonzentrationen miteinander verglichen. Der Vergleich der MBL-Plasmalevel innerhalb der Patientengruppe zwischen Raucher und Nichtraucher zeigt keine Signifikanz ($p = 0,794$), dennoch liegen die MBL-Werte der Raucher tendenziell höher als die der Nichtraucher. In der Kontrollgruppe sind ebenfalls keine signifikanten Konzentrationsunterschiede zu sehen ($p = 0,165$). Auch hier sind die MBL-Plasmalevel der Raucher tendenziell höher als die der Nichtraucher (s. Tab. 7,8 und Abb. 9).

Tab. 7: Vergleich der MBL-Plasmakonzentration bei Nichtrauchern und Rauchern mit chronischer Parodontitis

	Nichtraucher mit chronischer Parodontitis n = 221	Raucher mit chronischer Parodontitis n = 107	p - Wert
Median	1115,3 ng/ml	1139,8 ng/ml	0,794
Spannweite	1,3 – 9775,6 ng/ml	2,0 – 8847,3 ng/ml	
Mittlere Plasmakonzentration ± Standardabweichung	1395,5 ng/ml ± 1373,7 ng/ml	1474,0 ng/ml ± 1492,3 ng/ml	

Tab. 8: Vergleich der MBL-Plasmakonzentration bei Nichtrauchern und Rauchern der Kontrollgruppe

	Nichtraucher der Kontrollgruppe n = 672	Raucher der Kontrollgruppe n = 96	p - Wert
Median	1308,5 ng/ml	1464,9 ng/ml	0,165
Spannweite	1,3 – 8394,7ng/ml	0,3 – 11203,0 ng/ml	
Mittlere Plasmakonzentration ± Standardabweichung	1552,9 ng/ml ± 1319,3 ng/ml	1807,6 ng/ml ± 1653,5 ng/ml	

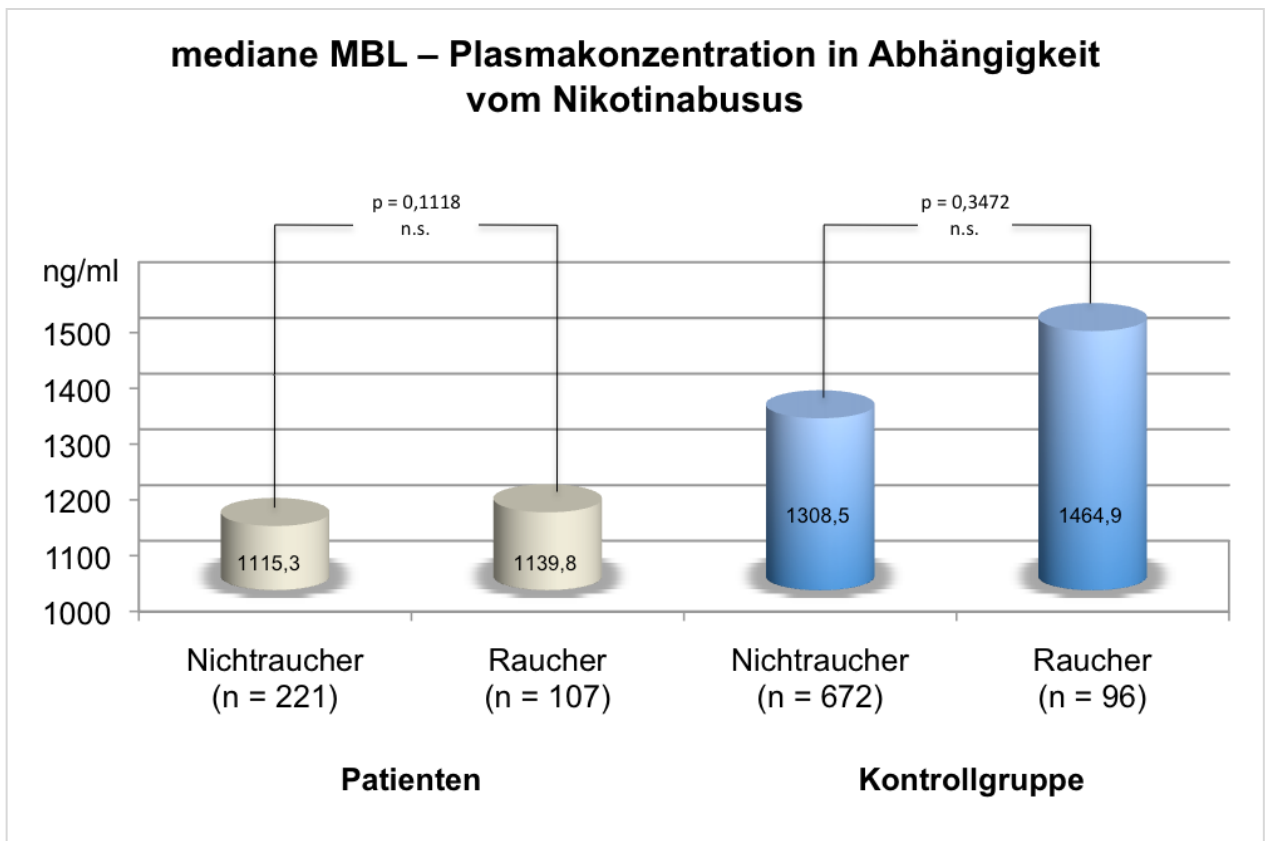


Abb. 9: Mediane MBL-Plasmakonzentration in ng/ml im Vergleich Raucher versus Nichtraucher der Patienten- und Kontrollgruppe

4.1.3. Zusammenhang mit Mutationen im MBL-2 Gen

Anhand der im Vorfeld dieser Arbeit durchgeführten Genotypisierung hinsichtlich der Exon1 Mutationen in den Codons 52, 54 und 57 des MBL-2 Gens ist die Genotypverteilung bei 1120 Personen des Studienkollektivs bekannt (s. 3.1.3.1., Tab.4). 655 Personen sind in ihrem jeweiligen für MBL codierenden Gen Wildtypallelträger (AA) und 465 sind Mutationsträger im MBL-2 Gen (Nicht AA). Der Vergleich der MBL-Plasmakonzentration dieser zwei Gruppen ist hoch signifikant ($p < 0,001$). Studienteilnehmer mit dem Genotyp AA haben eine mittlere MBL-Plasmakonzentration von 2241,6 ng/ml bei einer Standardabweichung von 1352,5 ng/ml. Der Median beträgt 2015,7 ng/ml. Mutationsträger im MBL-2 Gen hingegen weisen mit 566,7 ng/ml eine deutlich niedrigere mittlere MBL-Plasmakonzentration auf, bei einer Standardabweichung von 663,1 ng/ml. Der Median liegt bei 426,0 ng/ml (s. Tab. 9 und Abb. 10).

Tab. 9: Vergleich der MBL-Plasmakonzentration von Wildtypallelträgern (AA) und Personen mit Mutationen im MBL-2 Gen (Nicht AA) des Gesamtkollektivs

	Wildtypallelträger AA	Mutationen im MBL-2 Gen Nicht AA	p - Wert
Median	2015,7 ng/ml	426,0 ng/ml	< 0,001
Spannweite	5,1 – 11203,0 ng/ml	0,3 – 5568,9 ng/ml	
Mittlere Plasmakonzentration	2241,6 ng/ml	566,7 ng/ml	
± Standardabweichung	± 1352,5 ng/ml	± 663,1 ng/ml	

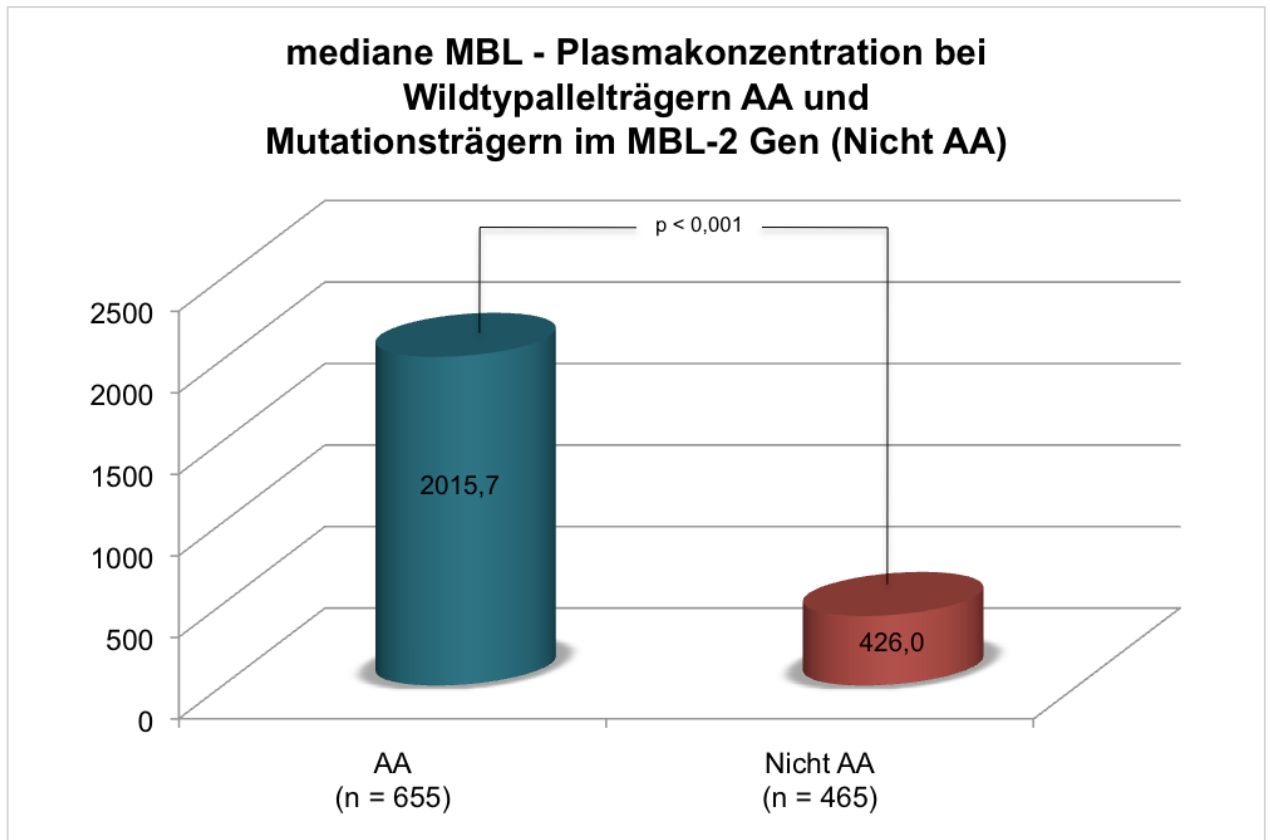


Abb. 10: Vergleich der medianen MBL-Plasmakonzentration in ng/ml bei Wildtypallelträgern (AA) und Mutationsträgern im MBL-2 Gen (Nicht AA)

Inwieweit sich die MBL-Plasmalevel zwischen Patienten mit chronischer Parodontitis und Kontrollgruppe unterscheiden, wenn keine genetischen Einflüsse vorhanden sind, zeigt der Vergleich zwischen Patienten mit dem Genotyp AA und Kontrollpersonen mit dem Genotyp AA, denn diese weisen keine Mutationen im MBL-2 Gen auf. Zwischen den Wildtypallelträgern (AA) der Patienten- und Kontrollgruppe besteht hinsichtlich der MBL-Plasmakonzentration kein signifikanter Unterschied ($p = 0,864$) (s. Tab. 10 und Abb. 11).

Tab. 10: Vergleich der MBL-Plasmakonzentration von Wildtypallelträgern (AA) unterteilt in Patienten mit chronischer Parodontitis und der Kontrollgruppe

	Wildtypallelträger AA mit chronischer Parodontitis n = 189	Wildtypallelträger AA der Kontrollgruppe n = 466	p - Wert
Median	1993,9 ng/ml	2038,3 ng/ml	0,864
Spannweite	7,0 – 9775,6 ng/ml	5,1 – 11203,0 ng/ml	
Mittlere Plasmakonzentration ± Standardabweichung	2259,2 ng/ml ± 1429,8 ng/ml	2234,5 ng/ml ± 1321,4 ng/ml	

Bei Mutationsträgern im MBL-2 Gen unterscheiden sich die MBL-Plasmalevel zwischen Patienten mit chronischer Parodontitis und Kontrollpersonen signifikant ($p = 0,028$), hier ist die MBL-Konzentration im Plasma bei den Kontrollpersonen höher als bei den Patienten (s. Tab. 11 und Abb. 11).

Tab. 11: Vergleich der MBL-Plasmakonzentration von Mutationsträgern im MBL-2-Gen (Nicht AA) unterteilt in Patienten mit chronischer Parodontitis und der Kontrollgruppe

	Mutationsträger Nicht AA mit chronischer Parodontitis n = 164	Mutationsträger Nicht AA der Kontrollgruppe n = 301	p - Wert
Median	337,3 ng/ml	459,2 ng/ml	0,028
Spannweite	1,3 – 4296,5 ng/ml	0,3 – 5568,9 ng/ml	
Mittlere Plasmakonzentration ± Standardabweichung	528,0 ng/ml ± 708,5 ng/ml	580,1 ng/ml ± 636,6 ng/ml	

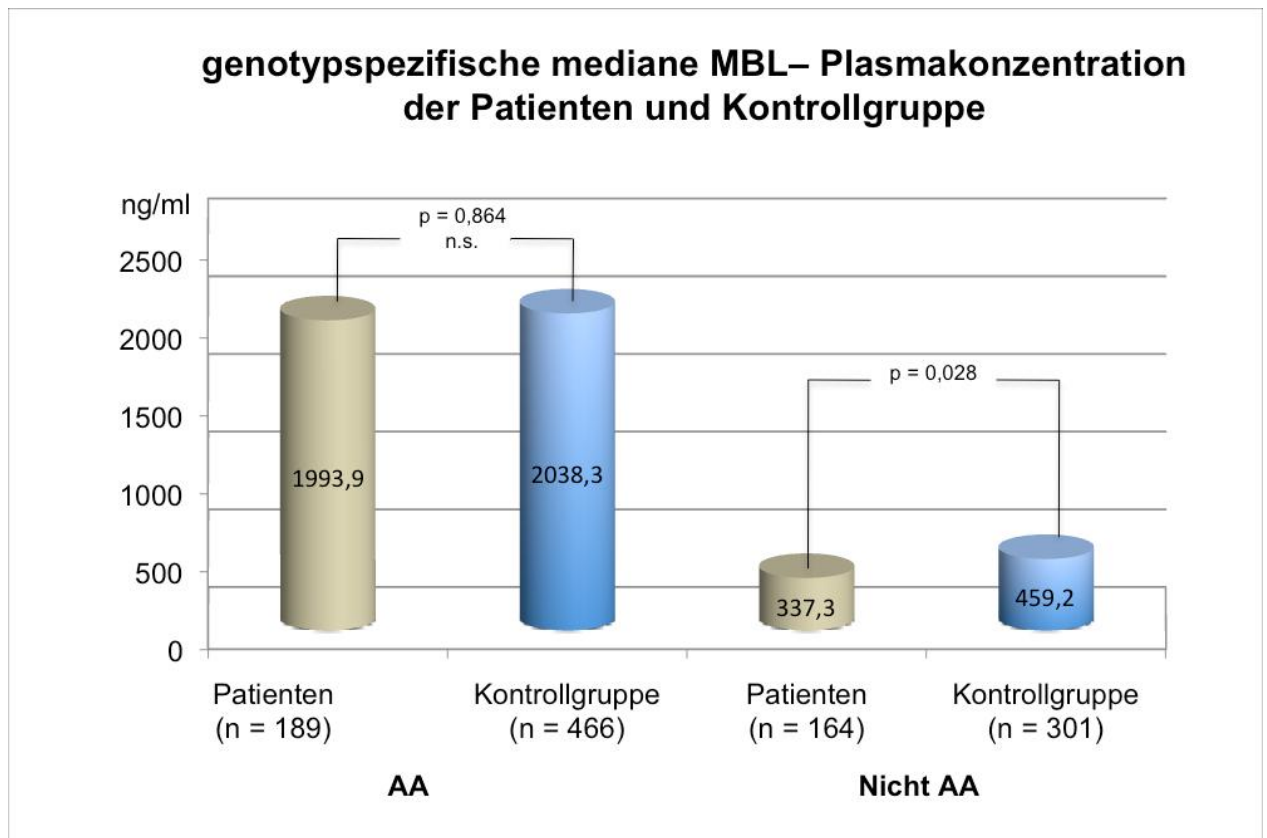


Abb. 11: Vergleich der medianen MBL-Plasmakonzentration in ng/ml bei Patienten mit chronischer Parodontitis und Kontrollgruppe unter Berücksichtigung des Genotyps

4.1.4. Zusammenhang mit Nikotinabusus unter Berücksichtigung des Genotyps im MBL-2 Gen

In 4.1.2. wurde untersucht, ob der Raucherstatus die MBL-Plasmalevel beeinflusst. Jedoch waren diesbezüglich, sowohl bei den Patienten mit chronischer Parodontitis als auch bei der Kontrollgruppe, keine signifikanten Unterschiede in den Expressionslevel von MBL zu beobachten. Raucher tendierten lediglich zu leicht höheren MBL-Plasmawerten als Nichtraucher. Es wird nun geprüft, inwieweit sich dieser Effekt verändert bzw. erhalten bleibt, wenn nun der Einfluss des Raucherstatus auf die MBL-Expression unter Berücksichtigung des Genotyps untersucht wird. Dafür wurden die Patienten- und Kontrollgruppe weiter eingeteilt bezüglich dem Vorhanden sein von Mutationen im MBL-2 Gen in Wildtypallelträger

(AA) und Mutationsträger (Nicht AA). Betrachtet man das Untersuchungskollektiv unter der Prämisse des Genotyps AA, so ist festzustellen, dass in der Kontrollgruppe bei den Rauchern die Plasmakonzentrationen signifikant höher sind als bei den Nichtrauchern ($p = 0,001$). Im Gegensatz dazu ist in dem Teil der Patientengruppe, der den Wildtyp exprimiert, zwischen Rauchern und Nichtrauchern kein signifikanter Unterschied ($p = 0,686$) zwischen den MBL-Plasmaleveln aufgetreten (s. Tab. 12, 13 und Abb. 12).

Tab. 12: Vergleich der MBL-Plasmakonzentration bei Rauchern und Nichtrauchern mit chronischer Parodontitis mit dem Genotyp AA

AA	Raucher mit chronischer Parodontitis n = 57	Nichtraucher mit chronischer Parodontitis n = 113	p - Wert
Median	2000,0 ng/ml	1934,8 ng/ml	0,686
Spannweite	7,0 – 8847,3 ng/ml	180,2 – 9775,6 ng/ml	
Mittlere Plasmakonzentration ± Standardabweichung	2275,6 ng/ml ± 1523,6 ng/ml	2169,9 ng/ml ± 1371,4 ng/ml	

Tab. 13: Vergleich der MBL-Plasmakonzentration bei Rauchern und Nichtrauchern der Kontrollgruppe mit dem Genotyp AA

AA	Raucher der Kontrollgruppe n = 50	Nichtraucher der Kontrollgruppe n = 415	p - Wert
Median	2540,1 ng/ml	1972,0 ng/ml	0,001
Spannweite	13,3 – 11203,0 ng/ml	5,1 – 8394,7 ng/ml	
Mittlere Plasmakonzentration ± Standardabweichung	2805,6 ng/ml ± 1675,6 ng/ml	2166,5 ng/ml ± 1258,8 ng/ml	

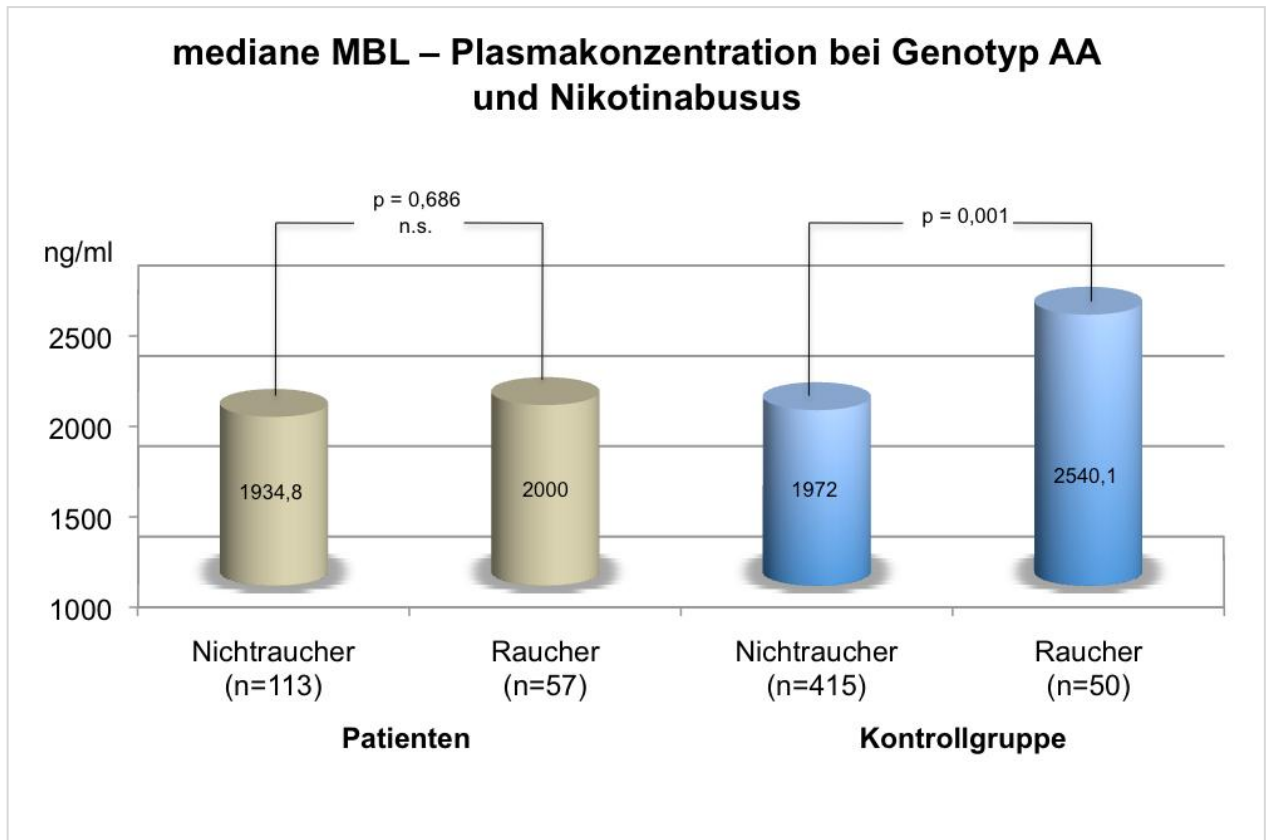


Abb. 12: Mediane MBL-Plasmakonzentration in ng/ml bei Wildtypallelträgern im MBL-2 Gen im Vergleich Raucher versus Nichtraucher bei Patienten mit chronischer Parodontitis und Kontrollgruppe

Ähnliche Ergebnisse zeigen sich, wenn die Plasmawerte aller Mutationsträger im MBL-2 Gen (Nicht AA) unter Berücksichtigung ihres Raucherstatus beurteilt werden. Hier finden sich wieder in der Kontrollgruppe signifikante Unterschiede: Raucher haben höhere MBL-Konzentrationen im Blutplasma als Nichtraucher ($p = 0,024$). Dieser Effekt ist jedoch etwas schwächer ausgeprägt als bei den Kontrollen mit Genotyp AA. Bei den Patienten mit Mutationen im MBL-2 Gen lassen sich hingegen keine signifikanten Unterschiede ($p = 0,655$) der MBL-Plasmawerte zwischen Rauchern und Nichtrauchern nachweisen (s. Tab. 14, 15 und Abb. 13).

Tab. 14: Vergleich der MBL-Plasmakonzentration bei Rauchern und Nichtrauchern mit chronischer Parodontitis mit Mutationen im MBL-2 Gen (Nicht AA)

Nicht AA	Raucher mit chronischer Parodontitis n = 50	Nichtraucher mit chronischer Parodontitis n = 102	p - Wert
Median	371,7 ng/ml	279,3 ng/ml	0,655
Spannweite	2,0 – 3544,4 ng/ml	1,3 – 4296,5 ng/ml	
Mittlere Plasmakonzentration ± Standardabweichung	560,1 ng/ml ± 751,4 ng/ml	506,8 ng/ml ± 662,5 ng/ml	

Tab. 15: Vergleich der MBL-Plasmakonzentration bei Rauchern und Nichtrauchern der Kontrollgruppe mit Mutationen im MBL-2 Gen (Nicht AA)

Nicht AA	Raucher der Kontrollgruppe n = 46	Nichtraucher der Kontrollgruppe n = 254	p - Wert
Median	686,9 ng/ml	448,7 ng/ml	0,024
Spannweite	0,3 – 2928,6 ng/ml	1,3 – 5568,9 ng/ml	
Mittlere Plasmakonzentration ± Standardabweichung	722,9 ng/ml ± 636,5 ng/ml	556,4 ng/ml ± 634,8 ng/ml	

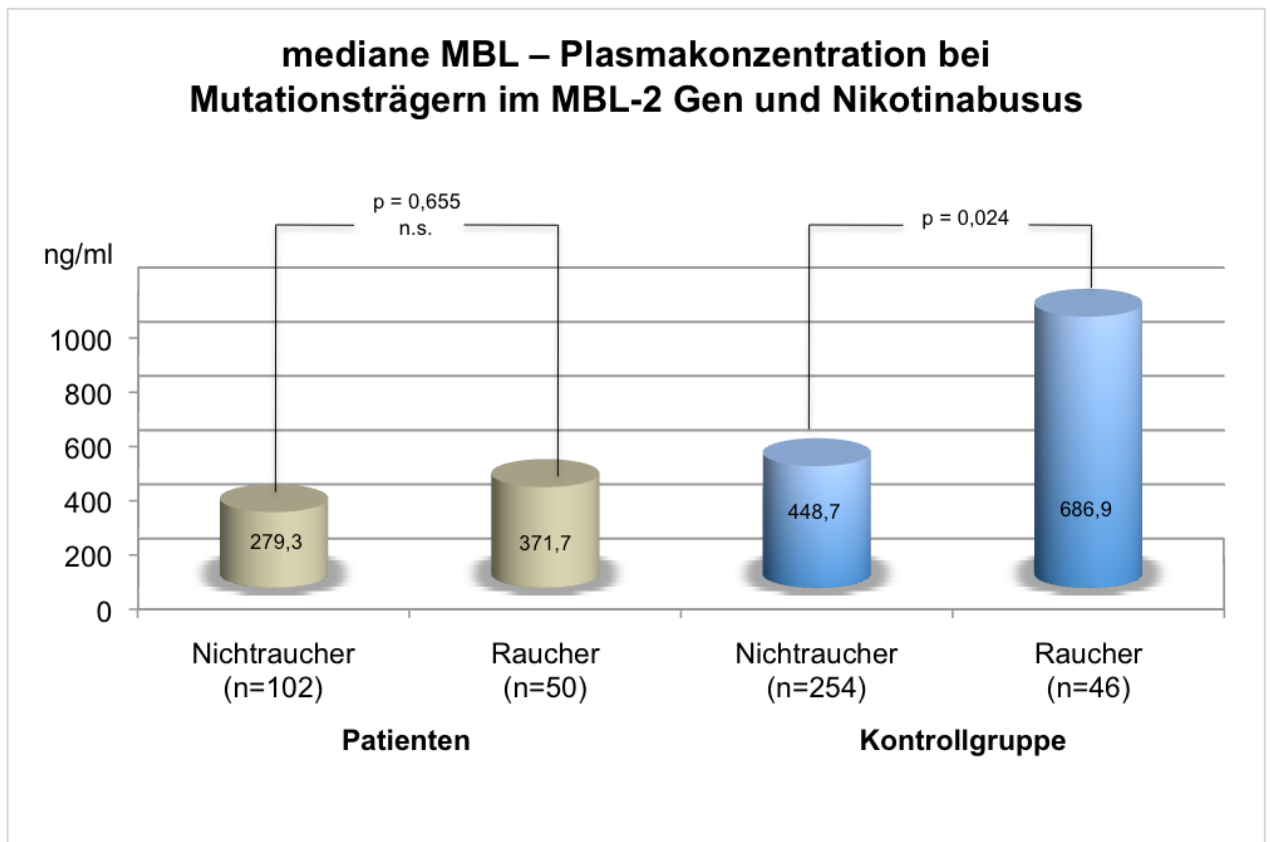


Abb. 13: Mediane MBL-Plasmakonzentration in ng/ml bei Mutationsträgern im MBL-2 Gen im Vergleich Raucher versus Nichtraucher bei Patienten mit chronischer Parodontitis und Kontrollgruppe

4.2. SP-D-Plasmakonzentrationen

4.2.1. Vergleich von Kontroll- mit Patientengruppe

Die SP-D-Plasmakonzentration der 105 Personen umfassenden Patientengruppe beträgt im Median 81,6 ng/ml. Die mittlere SP-D-Plasmakonzentration liegt bei 88,4 ng/ml bei einer Standardabweichung von 47,1 ng/ml. Die Spannweite der gemessenen Werte reicht dabei von 13,5 bis 248,1 ng/ml. Die SP-D-Plasmakonzentration der 122 Kontrollpersonen beträgt hingegen im Median nur 52,6 ng/ml und im Mittel nur 61,3 ng/ml bei einer Standardabweichung von 33,4 ng/ml. Die Messwerte befinden sich im Bereich zwischen 12,9 ng/ml und 212,2 ng/ml. Damit sind die SP-D-Plasmawerte der Patienten mit chronischer Parodontitis gegenüber den Werten der parodontal gesunden Kontrollpersonen signifikant erhöht. Der ermittelte p-Wert beträgt 0,00051 (s. Tab. 16, s. Abb. 14).

Tab. 16: Vergleich der SP-D-Plasmakonzentration bei Patienten mit chronischer Parodontitis und Kontrollgruppe

	Patienten mit chronischer Parodontitis n = 105	Kontrollgruppe n = 122	p - Wert
Median	81,6 ng/ml	52,6 ng/ml	0,00051
Spannweite	13,5 – 248,1 ng/ml	12,9 – 212,2 ng/ml	
Mittlere Plasmakonzentration ± Standardabweichung	88,4 ng/ml ± 47,1 ng/ml	61,3 ng/ml ± 33,4 ng/ml	

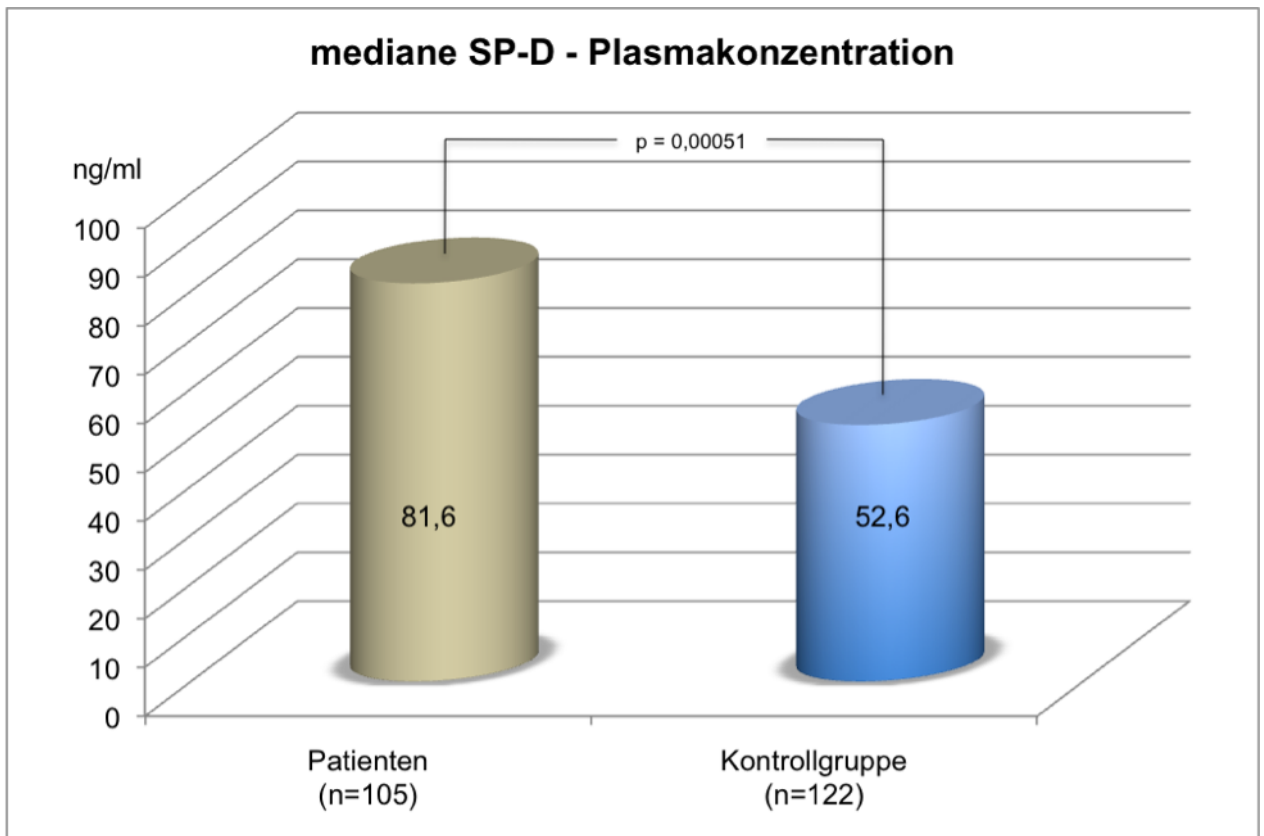


Abb. 14: Mediane SP-D-Plasmakonzentration in ng/ml bei Patienten mit chronischer Parodontitis und Kontrollgruppe

Geschlechtsspezifisch kann innerhalb der Patienten- ($p = 0,1118$) und Kontrollgruppe ($p = 0,3472$) bzgl. der SP-D-Plasmakonzentration kein signifikanter Unterschied beobachtet werden (s. Tab. 17, 18 und Abb. 15).

Tab. 17: Vergleich der SP-D-Plasmakonzentration bei Frauen und Männern mit chronischer Parodontitis

	Männer mit chronischer Parodontitis n = 48	Frauen mit chronischer Parodontitis n = 57	p - Wert
Median	82,5 ng/ml	81,6 ng/ml	0,1118
Spannweite	13,5 – 248,1 ng/ml	19,3 – 155,5 ng/ml	
Mittlere Plasmakonzentration ± Standardabweichung	99,1 ng/ml ± 56,0 ng/ml	79,4 ng/ml ± 36,1 ng/ml	

Tab. 18: Vergleich der SP-D-Plasmakonzentration bei Frauen und Männern der Kontrollgruppe

	Männer der Kontrollgruppe n = 74	Frauen der Kontrollgruppe n = 48	p - Wert
Median	48,3 ng/ml	62,7 ng/ml	0,3472
Spannweite	12,9 – 212,2 ng/ml	14,1 – 165,1 ng/ml	
Mittlere Plasmakonzentration ± Standardabweichung	59,0 ng/ml ± 32,8 ng/ml	64,8 ng/ml ± 34,3 ng/ml	

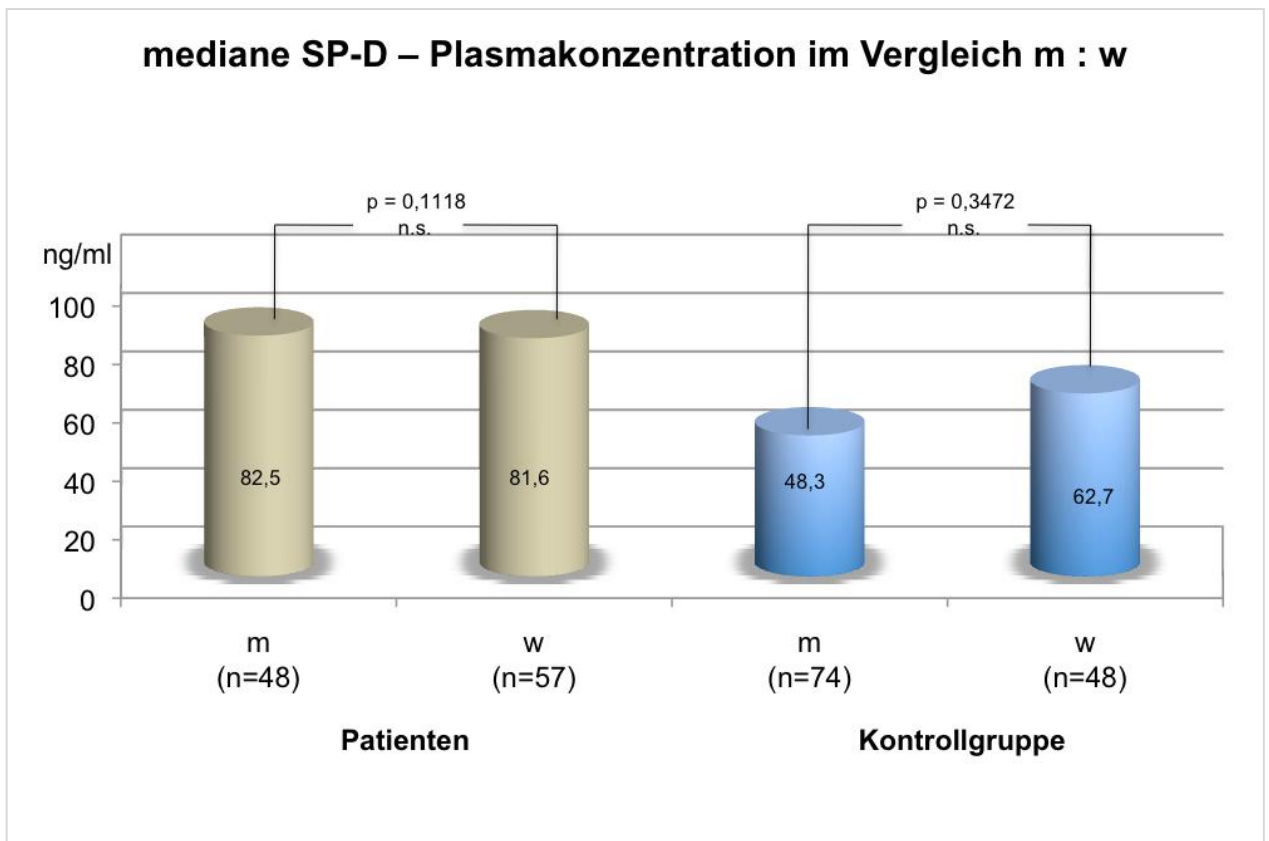


Abb. 15: Geschlechterspezifischer Vergleich der medianen SP-D-Plasmakonzentration in ng/ml bei Patienten mit chronischer Parodontitis und Kontrollgruppe

4.2.2. Zusammenhang mit dem Raucherstatus

Die Stratifizierung der Patientengruppe gemäß ihres Raucherstatus ermöglicht die Beurteilung inwieweit ein chronischer Nikotinabusus Einfluss auf die SP-D-Plasmakonzentration nimmt. Diese ist in der Patientengruppe unabhängig vom Rauchverhalten erhöht, es können keine signifikanten Unterschiede festgestellt werden ($p = 0,2019$). Tendenziell liegt die mediane SP-D-Plasmakonzentration der Nichtraucher mit 86,5 ng/ml lediglich diskret über der der Raucher, welche 68,8 ng/ml beträgt (s. Tab. 20 und Abb. 16).

Tab. 20: Vergleich der SP-D-Plasmakonzentration bei Rauchern und Nichtrauchern mit chronischer Parodontitis

	Nichtraucher mit chronischer Parodontitis n = 65	Raucher mit chronischer Parodontitis n = 35	p - Wert
Median	86,5 ng/ml	68,8 ng/ml	0,2019
Spannweite	13,5 – 248,1 ng/ml	13,5 – 214,9 ng/ml	
Mittlere Plasmakonzentration ± Standardabweichung	94,2 ng/ml ± 49,61 ng/ml	77,9 ng/ml ± 42,6 ng/ml	

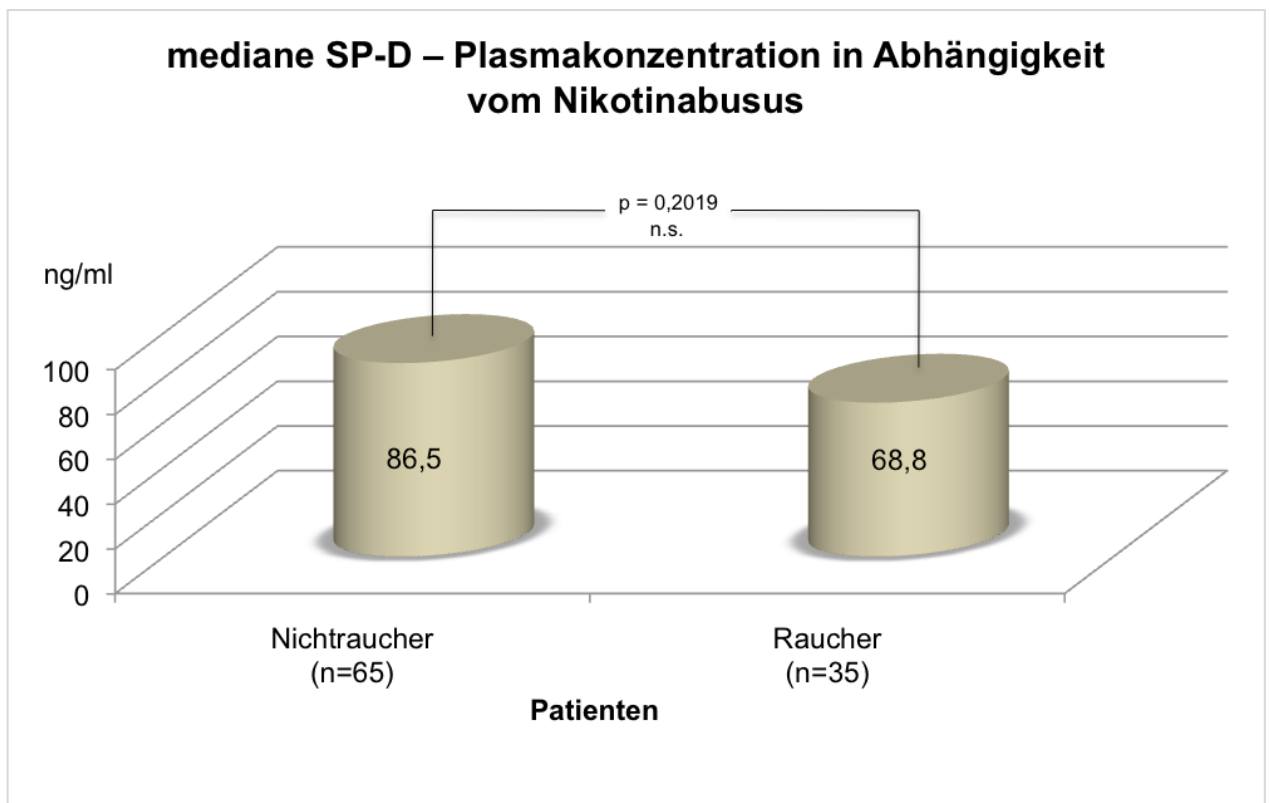


Abb. 16: Mediane SP-D-Plasmakonzentration in ng/ml bei Patienten mit chronischer Parodontitis in Abhängigkeit vom Nikotinabusus

5. Diskussion

In den vorliegenden zwei Studien handelt es sich um Fall-Kontroll-Studien, die MBL- bzw. SP-D-Plasmakonzentrationen in gebildeten Patienten- und Kontrollgruppen vergleichend untersuchen. Das unterschiedliche Konzentrationsverhalten an MBL bzw. SP-D bei Patienten mit chronischer Parodontitis und der Einfluss des Nikotinabusus auf die Plasmalevel der beiden Kollektive, sind Gegenstand der Diskussion. Anhand der gleichen Studienkollektive wurden in vorangegangenen Studien Genanalysen bezüglich Nukleotidpolymorphismen des codierenden MBL-2- bzw. SFTPD-Gen durchgeführt (39). Damit kann zusätzlich ein potentieller Zusammenhang zwischen Genmutationen und den Plasmakonzentrationen der beiden Kollektive beurteilt werden. Die nachfolgende Diskussion behandelt die im Studiendesign angewandte Methode und orientiert sich an den eigenen Ergebnissen, den Ergebnissen der Genanalysen der gleichen Kollektive, zieht Vergleiche zur aktuellen Literatur und beantwortet die Fragestellung.

5.1. Methodik

5.1.1. Auswahl der Studienpopulationen

Die Patientengruppe der MBL-Studie umfasste 362 Personen, die Kontrollgruppe bestand aus 777 Personen. An der SP-D-Studie nahmen 105 Patienten und 122 Kontrollpersonen teil. Alle Probanden stammten aus dem süddeutschen Raum und waren kaukasischer Herkunft, so dass eine ethnisch vergleichbare Zusammensetzung der Patienten- und Kontrollgruppen gewährleistet war. Voraussetzung für die Diagnose der chronischen Parodontitis war die Erfüllung der in 3.1.1. beschriebenen standardisierten Untersuchungskriterien. Dadurch war die Aufnahme in eine der Patientengruppen durch eindeutig definierte Parameter limitiert. Allerdings können bestimmte Untersuchungsergebnisse, zum Beispiel die Taschensondierungstiefe, durch unterschiedlichen Untersucher differieren und somit systematische Fehler nicht gänzlich vermieden werden (3). Aufgrund der Tatsache,

dass bis heute noch keine sicheren Hilfsmittel zur Diagnosesicherung der chronischen Parodontitis zur Verfügung stehen, kann die Aufnahme von Patienten mit anderen Parodontitisformen nicht ganz ausgeschlossen werden. Eine exakte Zuordnung zu einer spezifischen Entität der Parodontitis gestaltet sich schwierig (87). Die Kontrollgruppe wurde nur aus Probanden gebildet, welche nach der parodontalen Befunderhebung eindeutig als gesund bewertet wurden. Es ist jedoch nicht auszuschließen, dass Personen der Kontrollgruppe im späteren Verlauf eine Parodontalerkrankung entwickelt haben und damit die Ergebnisse in jener Gruppe verfälschen. Um diesen Verdacht zu entkräften, hätte eine Nachuntersuchung zu einem späteren Zeitpunkt durchgeführt werden können.

Ein gewisses Patientenklientel wurde bewusst nicht in die Studien mit aufgenommen. Dies betraf vor allem Probanden mit ernsthaften systemischen Grunderkrankungen, für welche ein erhöhtes Risikoprofil besteht an chronischer Parodontitis zu erkranken. Hierunter fielen Personen mit Diabetes mellitus Typ I und II, mit einem erhöhten Risiko für eine bakterielle Endokarditis und Patienten mit verminderter Immunabwehr (21, 106, 114). Auch die im Rahmen der Eigenanamnese erhaltenen Auskünfte über den aktuellen Gesundheitsstatus und die aktuelle Dauermedikation beeinflusste die Auswahl der Patienten. Den anamnestisch erhobenen Angaben wurde vertraut, keine weitere klinische oder laborchemische Untersuchung wurde zur Verifikation herangezogen. Ein Hauptbestandteil in der Anamneseerhebung zur Beantwortung der Fragestellung war die Dokumentation des Raucherstatus. Probanden mit einem Nikotinabusus von mehr als zehn Zigaretten pro Tag im vergangenen Jahr, galten als Raucher. Es bestand die Gefahr, dass Probanden ihren Nikotinabusus im Sinne der sozialen Erwünschtheit verschweigen und so fälschlicherweise den Nichtrauchern zugeordnet wurden. Da für Raucher ein drei- bis vierfach höheres Risiko besteht, eine Parodontalerkrankung zu entwickeln (57), könnte dieser Aspekt zu einer Verfälschung der Untersuchungsergebnisse geführt haben. Kornman et al. (64) konnten genetische Polymorphismen im Interleukin-1 Gen aufweisen, die mit einer häufigeren Manifestation von Parodontitiden assoziiert sind. Dieser Zusammenhang konnte bisher allerdings in klinischen Studien nur für Raucher belegt werden.

5.1.2. Quantifizierung der Kollektinexpression mittels ELISA

Zur Ermittlung der Expressionslevel der Kollektine wurde die ELISA-Technik (enzyme-linked immuno-sorbent assay) ausgewählt (s. 3.3.3). Diese Methode besitzt gegenüber anderen photometrischen Proteinbestimmungsmethoden nach Lowry oder nach Bradford eine 1000 bis 10.000-fach höhere Sensitivität (118) und ist daher für die Detektion der niedrigen Konzentrationen der Kollektine im Nanogramm-Bereich des humanen Plasmas besser geeignet. Ein Vergleich von zwei verschiedenen MBL-ELISAs hat nach Thiel et al. eine zehnfach höhere Sensitivität gezeigt, wenn MBL spezifische Antikörper als Bindungspartner in den Kavitäten vorfindet und nicht Mannan (128). Für die Studien wurden jeweils kommerziell erwerbliche ELISA-Kits verwendet, bei denen die Mikrotiterplatten mit Antikörpern gegen MBL bzw. SP-D beschichtet waren. Die Versuchsumsetzung erfolgte entsprechend den Herstellerprotokollen. Um Fehlerquoten bei den Messvorgängen zu limitieren, wurde zusätzlich für jede Probe eine Doppelbestimmung durchgeführt. Bei den SP-D ELISAs wurden zur Überprüfung der Validität der Eichkurve jeweils zwei zusätzliche Proben mit bekannt hoher und niedriger Proteinkonzentration eingesetzt. Um potenzielle Interaktionen der im Plasma enthaltenen Immunglobuline mit MBL-Antigenen zu vermeiden, wurden alle Proben vor ihrem Einsatz im MBL-ELISA in eine rinderalbuminhaltige Verdünnungslösung aufgenommen.

5.2. Bewertung der Ergebnisse im Literaturvergleich

5.2.1. Deutung der Ergebnisse bzgl. der MBL-Plasmakonzentration

In der vorliegenden Studie konnte signifikant gezeigt werden, dass die MBL-Plasmakonzentration bei Patienten mit chronischer Parodontitis im Vergleich zur Kontrollgruppe erniedrigt ist (im Median: 1218,9 ng/ml versus 1324,2 ng/ml, $p = 0,027$). Dieser moderate Unterschied spricht für eine potentielle Rolle des MBL als pathogenetischer Faktor in der Entstehung der chronischen Parodontitis hinter dem Kontext einer multifaktoriellen Ätiologie.

Das unterschiedliche Verteilungsmuster hinsichtlich der Genotypen im MBL-2 Gen der Patienten- und Kontrollgruppe (s. 3.1.3.1., Tab. 3) unterstützt den Anhalt auf pathogenetische Relevanz des MBL bei chronischer Parodontitis und liefert gleichzeitig eine mögliche Erklärung für erniedrigten MBL-Plasmalevel in der Patientengruppe. In der Kontrollgruppe ist der Anteil der Wildtypallelträger (Genotyp AA) im MBL-2 Gen höher als in der Patientengruppe (Kontrollgruppe: 60,8 % versus Patienten 52,2 %). Dagegen sind bei den Patienten mit chronischer Parodontitis häufiger Mutationen im MBL-2 Gen zu finden (Patienten: 47,8 % versus Kontrollgruppe: 39,2 %). Der Vergleich der MBL-Plasmakonzentration bei Wildtypallelträgern (AA) und Mutationsträgern im MBL-2 Gen (Nicht AA) im Gesamtkollektiv hat gezeigt, dass der Expressionsgrad an MBL im Blutplasma zwischen diesen beiden Gruppen äußerst stark differiert (im Median: 2015,7 ng/ml (AA) versus 426,0 ng/ml (Nicht AA)). Die MBL-Plasmalevel bei Mutationsträgern sind hierbei hoch signifikant ($p < 0,001$) erniedrigt. Auch Lipscombe et al. (71) zeigten in ihrer Studie, dass die MBL-Serumlevel bei Codon 54 Mutationsträgern gegenüber Individuen mit dem Wildtypgenotyp um das ca. 100fache erniedrigt sind. Daraus ist ersichtlich, dass der jeweilige Genotyp einen funktionellen Einfluss auf die Proteinexpression zu haben scheint und sich somit auch auf die Plasmakonzentration auswirkt.

Die Tatsache, dass in der Patientengruppe mehr Mutationsträger zu finden sind als in der Kontrollgruppe und dass Mutationsträger signifikant niedrigere MBL-

Plasmalevel aufweisen, spricht dafür, dass die erniedrigte MBL-Plasmakonzentration bei Patienten mit chronischer Parodontitis gegenüber der Kontrollgruppe genetisch bedingt ist. Unterstützt wird diese These durch die Beobachtung, wonach sich die MBL-Plasmakonzentration bei Wildtypallelträgern (AA) der Patienten- und Kontrollgruppe, bei denen keine genetischen Veränderungen im MBL-2 Gen vorliegen, nicht mehr signifikant unterscheidet (im Median: Patienten 1993,9 ng/ml versus Kontrollen 2038,3 ng/ml, $p = 0,864$).

Der Vergleich der MBL-Plasmakonzentration zwischen Patienten und Kontrollgruppe bei Mutationsträgern im MBL-2 Gen zeigt sich wiederum signifikant (im Median: Patienten 337,3 ng/ml versus Kontrollen 459,2 ng/ml, $p = 0,028$). Dies könnte bedeuten, dass Polymorphismen im MBL-2 Gen und der damit verbundene erniedrigte MBL-Plasmaspiegel ein erhöhtes Risiko bergen an chronischer Parodontitis zu erkranken. Jedoch wurde bei den Mutationsträgern (Nicht AA) nicht bzgl. der verschiedenen Mutationen in den Codons 52, 54 und 57 des MBL-2 Gens unterschieden und auch nicht weiter differenziert bzgl. heterozygot und homozygot mutierter Allele. Da die verschiedenen Exon1 Mutationen unterschiedlich starke Auswirkungen auf die Serumlevel von MBL haben (133), und die Genotypverteilung in der Patienten- und Kontrollgruppe nicht identisch ist, kann nicht ausgeschlossen werden, dass der Unterschied im MBL-Plasmaspiegel bei Mutationsträger der Patienten- und Kontrollgruppe darauf zurückzuführen ist.

Beim Menschen ist ein Mangel an MBL durch niedrige MBL-Serum- bzw. Plasmakonzentrationen gekennzeichnet (120). Aufgrund der oben beschriebenen Ergebnisse kann der Mangel an MBL als ein neuer Risikofaktor für die chronische Parodontitis diskutiert werden. Durch die Defizienz dieses Proteins kann die Fähigkeit der präventiven Abwehr des menschlichen Organismus eingeschränkt sein, mit der Folge einer eventuell verlängerten Entzündungsreaktion mit konsekutiver Gewebedestruktion.

Dass MBL in der Modulation von Entzündungen eine wichtige Rolle zu spielen scheint, zeigt die Studie von Jack et al. (54), die einen konzentrationsabhängigen Effekt von MBL auf die Zytokinproduktion nachweist. *Neisseriae meningitides* wurden vor Zugabe zu MBL-defizientem Vollblut mit ansteigenden Konzentrationen an MBL

inkubiert. Dabei konnte festgestellt werden, dass die monozytäre Zytokinfreisetzung von TNF- α , IL-1 β und IL-6 bei MBL-Konzentrationen unter 4 $\mu\text{g/ml}$ verstärkt und bei höher liegenden Konzentrationen vermindert war. Aufgrund der wichtigen Rolle des MBL bei der präventiven Abwehr parodontal-pathogener Mikroorganismen und seiner immunmodulatorischen Effekte bei Entzündungsprozessen des Zahnhalteapparates, stellt der Mangel an MBL einen Risikofaktor für die chronische Parodontitis dar. Dennoch sollte die Defizienz dieses Kollektins nicht als isolierter Risikofaktor betrachtet werden. Das individuelle Risikoprofil wird viel mehr durch das Zusammenspiel mit anderen genetischen Faktoren und Umwelteinflüssen im Sinne einer multifaktoriellen Ätiologie geprägt.

Maffai et al. untersuchten ebenfalls den Zusammenhang zwischen einem MBL-Mangel und dem Auftreten einer Parodontitis und stellten im Gegensatz zu dieser Studie keine Assoziationen fest (80). Diese Arbeit basierte jedoch auf einer deutlich kleineren Untersuchungspopulation mit nur 115 Patienten und 104 Kontrollen. Außerdem setzte sich deren Untersuchungskollektiv aus holländischen Probanden zusammen, unter denen nur 86% weißer Abstammung waren. Die eigene Studie wurde ausschließlich mit deutschstämmigen Probanden kaukasischer Herkunft durchgeführt. In der holländischen Studie wurden zudem keine Genanalysen auf Mutationen durchgeführt. Da die Verteilung der verschiedenen MBL-Genotypen stark vom jeweiligen ethnischen Hintergrund abhängt (135), können unterschiedliche Verteilungsmuster bzgl. der MBL-Genotypen in den beiden Studien nicht ausgeschlossen werden, welche die MBL-Plasmakonzentration beeinflussen könnten.

Erhöhte MBL-Plasmalevel wurden für die unterschiedlichsten Entzündungsprozesse beschrieben. Thiel et al. fanden heraus, dass eben diese bei postoperativen Patienten sowie Malariainfizierten unter Chloroquin-Therapie teilweise bis auf das Dreifache erhöht waren (127). In Assoziation dazu wurde das MBL als Akut-Phase-Protein deklariert (134). Um zu prüfen, ob MBL auch im Rahmen einer chronischen Parodontitis als Akut-Phase-Protein fungiert, wurden in vorliegender Studie die MBL-Plasmawerte im Untersuchungskollektiv derer Probanden untersucht, die MBL als Wildtyp exprimierten und folglich keine Defizienz aufwiesen. Nach Ausschluss

genetischer Einflüsse auf das MBL-2 Gen, zeigt der Vergleich der MBL-Plasmakonzentration der Patienten mit der der Kontrollen keine Signifikanz (im Median: Patienten 1993,9 ng/ml versus Kontrollen 2038,3 ng/ml, $p = 0,864$). Bisherige Studien an Patienten mit chronischer Parodontitis zeigten einen moderaten Anstieg der CRP-Level (30, 73). Maffei et al. konnten in ihrer Arbeit eine Korrelation zwischen einem erhöhten MBL-Plasmalevel und erhöhten CRP-Konzentrationen bei Patienten mit chronischer Parodontitis ausschließen (80). MBL übernimmt demnach offenbar trotz der Entzündungsprozesse keine Rolle als Akut-Phase-Protein im Rahmen der chronischen Parodontitis.

Geschlechtsspezifische Unterschiede hinsichtlich der MBL-Plasmakonzentration waren nur in der Kontrollgruppe zu verzeichnen (im Median: Männer 1448,0 ng/ml versus Frauen 1195,3 ng/ml, $p = 0,041$), wohingegen in der Patientengruppe keine signifikanten Unterschiede auszumachen waren (im Median: Männer 1219,5 ng/ml versus Frauen 1218,2 ng/ml, $p = 0,127$). Bisherige Studien zu der Fragestellung, ob der MBL-Expressionsgrad vom Geschlecht beeinflusst wird, zeigen unterschiedliche Ergebnisse. Während Ytting et al. (150) in ihrem skandinavischen Studienkollektiv und Ip et al. (53) in ihrer Studie an erwachsenen Chinesen keine geschlechtsspezifischen Unterschiede bezüglich der MBL-Serumkonzentration feststellen konnten, zeigte eine koreanische Studie von Lee et al. (69) signifikant höhere MBL-Serumwerte bei Frauen.

Die Stratifizierung des Studienkollektivs in Raucher und Nichtraucher zeigte in der vorliegenden Studie, dass der Vergleich der MBL-Plasmakonzentration bzgl. des Nikotinabusus innerhalb der Patientengruppe keine Signifikanz aufweist (im Median: Raucher 1139,3 ng/ml versus Nichtraucher 1115,3 ng/ml, $p = 0,794$). Auch der MBL-Plasmaspiegel in der Kontrollgruppe unterschied sich hinsichtlich ihres Raucherstatus nicht signifikant (im Median: Raucher 1464,9 ng/ml versus Nichtraucher 1308,5 ng/ml, $p = 0,165$). Maffei et al. konnten diesbezüglich in ihrer Studie, unabhängig vom Parodontalstatus, eine signifikante Erhöhung der MBL-Plasmalevel bei starken Rauchern gegenüber Nichtrauchern nachweisen (80). Eine tendenzielle Erhöhung der MBL-Plasmalevel der Raucher gegenüber den

Nichtrauchern innerhalb der Patienten- und Kontrollgruppe, war auch in der eigenen Studie zu verzeichnen. Diese Tatsache könnte möglicherweise durch den generellen proinflammatorischen Effekt des Rauchens erklärbar sein. Für chronische Entzündungsprozesse, wie auch der chronischen Parodontitis, konnte gezeigt werden, dass das Zigarettenrauchen zu einer Verminderung von IgG im Serum führt (40, 88, 101). Dementsprechend könnte im Rahmen der Infektabwehr über eine kompensatorische Erhöhung der MBL-Level bei Rauchern spekuliert werden.

Selbst bei weiterer Selektion der Patienten bezüglich des Vorhandenseins von Mutationen im MBL-2 Gen hat der Raucherstatus keinen signifikanten Einfluss auf die MBL-Expression im Plasma. Die MBL-Plasmalevel unterscheiden sich weder bei Wildtypallelträgern (AA) (im Median: Raucher 2000,0 ng/ml versus Nichtraucher 1934,8 ng/ml, $p = 0,686$) noch bei Mutationsträgern im MBL-2 Gen (im Median: Raucher 371,7 ng/ml versus Nichtraucher 279,3 ng/ml, $p = 0,655$) signifikant. Die Tatsache, dass die schädlichen Substanzen von Zigaretten auch im Patientenkollektiv ohne Mutationen keinen MBL-Anstieg bedingen, lässt ebenfalls Raum für Spekulationen. Möglicherweise wird bei der chronischen Parodontitis der Anstieg des MBL aufgrund des dauerhaft angebotenen Reizes des Rauchens durch einen zusätzlichen, bisher unbekanntem Mechanismus verhindert.

Die weitere Differenzierung der Kontrollgruppe gemäß ihrem Genotyp zeigt im Gegensatz dazu im Vergleich der MBL-Plasmakonzentration zwischen Rauchern und Nichtrauchern signifikante Unterschiede. Raucher verglichen mit Nichtrauchern, die den Wildtyp AA im MBL-2 Gen tragen, haben signifikant höhere MBL-Plasmaspiegel (im Median: Raucher 2540,1 ng/ml versus Nichtraucher 1972,0 ng/ml, $p = 0,001$). Das gleiche gilt in der Kontrollgruppe auch für Raucher und Nichtraucher mit Mutationen im MBL-2 Gen (im Median: Raucher 689,9 ng/ml versus Nichtraucher 448,7 ng/ml, $p = 0,024$). Diese Ergebnisse stimmen mit den Resultaten der holländischen Studie von Maffei et al. (80) überein, in der wie oben bereits beschrieben, bei Rauchern signifikant erhöhte MBL-Plasmaspiegel nachgewiesen wurden und sprechen für einen systemischen Einfluss des Nikotins auf die MBL-Expression.

5.2.2. Deutung der Ergebnisse bzgl. der SP-D-Plasmakonzentration

In der vorliegenden Studie konnte bewiesen werden, dass die SP-D Plasmakonzentration bei Patienten mit chronischer Parodontitis gegenüber gesunden Kontrollpersonen signifikant erhöht ist (im Median: 81,6 ng/ml versus 52,6 ng/ml, $p = 0,00051$). Daher könnte SP-D als systemischer Biomarker für die chronische Parodontitis herangezogen werden. Von weiterem Interesse wäre nun, ob der Anstieg von SP-D bei chronischer Parodontitis mit der Aktivität dieser Erkrankung korreliert und ob dadurch der Krankheitsverlauf und therapeutische Ansprechraten kontrolliert werden könnten - dies gilt es in Folgestudien zu beweisen. Desweiteren wäre es interessant zu untersuchen, ob die SP-D-Plasmakonzentration bei anderen Parodontitisformen, wie z.B. der aggressiven Parodontitis, ebenfalls erhöht ist. Zum jetzigen Zeitpunkt gibt es noch keine suffiziente klinische oder radiologische Unterscheidungskriterien, sodass eine zuverlässige Abgrenzung der verschiedenen Parodontisentitäten schwierig ist (130). Auch die Abschätzung des Schweregrades der Erkrankung ist bisher limitiert und bedarf eines geeigneten Verlaufsparmeters (28).

Der geschlechtsspezifische Vergleich der SP-D-Plasmakonzentration zeigte weder in der Patientengruppe (im Median: Männer 82,5 ng/ml versus Frauen 81,6 ng/ml, $p = 0,1118$) noch in der Kontrollgruppe (im Median: 48,3 ng/ml versus 62,7 ng/ml, $p = 0,3472$) signifikante Unterschiede. Sorensen et al. (115) untersuchten die SP-D-Plasmakonzentration von gesunden, gleichgeschlechtlichen Zwillingspaaren und konnten bezüglich des männlichen Geschlechtes signifikant erhöhte Werte detektieren.

Nikotinabusus stellt für die Entwicklung und das Fortschreiten der chronischen Parodontitis ein erhebliches Risikopotential dar. Ferner konnten größere Knochensubstanzverluste und verminderte therapeutische Ansprechraten mit dem Rauchen in Zusammenhang gebracht werden (103). In der eigenen Studie war die SP-D Plasmakonzentration bei Patienten mit chronischer Parodontitis jedoch unabhängig vom Raucherstatus erhöht. Es konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen Nichtrauchern und Rauchern gefunden werden (im Median: 86,5 ng/ml versus 68,8 ng/ml, $p = 0,2019$). Damit scheint ein Nikotinabusus zumindest in diesem

Studiendesign keine direkte zusätzliche Auswirkung auf den Expressionsgrad von SP-D im Blutplasma zu haben. Im Gegensatz dazu konnten Sorensen et al. (115) in ihrer Zwillingsstudie einen signifikanten Zusammenhang zwischen Rauchen und erhöhtem SP-D-Plasmalevel nachweisen.

In vorangegangenen Studien konnte gezeigt werden, dass die SP-D-Plasmakonzentration von genetischen Polymorphismen innerhalb des SFTPD-Gens beeinflusst wird. In der Arbeit von Sorensen et al. (115) konnte bei 738 dänischen Zwillingspaaren mit einer genetischen Met11Thr Variante in ihrem SFTPD-Gen ein signifikant erniedrigter SP-D-Level im Blutplasma nachgewiesen werden ($p = 0,0004$). Leth-Larsen et al. (70) konnten an genotypisierten Blutspendern zeigen, dass Träger des Genotyps 11Thr/Thr gegenüber den Wildtypallelträgern 11Met/Met signifikant niedrigere SP-D-Plasmaspiegel hatten ($p = 0,015$). Von Heidinger et al. (46) wurde in zwei Untersuchungskollektiven ein Haplotyp identifiziert, welcher Assoziation zu erniedrigten SP-D Serumkonzentrationen bei Trägern des Met11Thr Polymorphismus zeigte ($p = 0,001$ bzw. $p = 0,031$).

Die in der eigenen Studie untersuchten Kollektive (105 Patienten mit chronischer Parodontitis, 122 gesunde Kontrollpersonen) wurden durch Glas et al. (39) ebenfalls auf genetische Polymorphismen im SFTPD-Gen hin untersucht. Oben diskutierte Ergebnisse (46, 70, 115) konnten nach statistischer Korrektur von Alter, Geschlecht und Krankheitsstatus bestätigt werden; die SP-D-Plasmakonzentration war im Gesamtkollektiv für Met11Thr ($p = 0,018$) signifikant erniedrigt. Keine Signifikanz fand sich bei den Genotypen Ala160Thr ($p = 0,077$) und Ser270Thr ($p = 0,066$). Die Häufigkeitsverteilung der Genotypen bezüglich der Polymorphismen Met11Thr, Ala160Thr und Ser270Thr zeigte keine signifikanten Unterschiede zwischen der Patienten- und Kontrollgruppe. Nach weiterer Aufgliederung in die verschiedenen Schweregrade der Erkrankung konnte im Verteilungsmuster der Genotypen ebenfalls keine Signifikanz aufgezeigt werden.

Schlussfolgernd kann an dieser Stelle gesagt werden, dass der Anstieg der SP-D-Plasmakonzentration bei Patienten mit chronischer Parodontitis nicht durch den Einfluss genetischer Varianten im SFTPD-Gen bedingt sein kann. Nachdem genetische Faktoren offenbar die SP-D-Plasmaerhöhungen bei Patienten mit

chronischer Parodontitis nicht begründen können, erhärtet sich die Hypothese, dass dieser Effekt der Entzündung selbst zu zuschreiben ist. Bekannt ist, dass durch inflammatorische Prozesse eine Permeabilitätssteigerung der Schleimhaut resultiert, welche wiederum den Transfer bestimmter Mediatoren in den systemischen Kreislauf ermöglicht (138). Bei diversen chronischen und entzündlichen Lungenerkrankungen wurden bereits erhöhte SP-D-Plasmalevel detektiert. Pathogenetisch führt man diese Beobachtung auf die oben genannte Steigerung der Permeabilität der Alveolarmembran für dieses Kollektiv zurück (136, 137). Da SP-D außerhalb der Lunge in der gastrointestinalen Mukosa und damit auch oralen Mukosa am häufigsten exprimiert wird, liegt es nahe, dass hier ähnliche Mechanismen vorherrschen und SP-D im Rahmen der Entzündung vermehrt in den Blutkreislauf übertritt. Evidenzbasierte Daten hierzu liegen jedoch noch nicht vor.

5.3. MBL und SP-D im Rahmen anderer Erkrankungen

5.3.1. MBL-Mangel bei anderen Erkrankungen

Obwohl bevölkerungsbezogene Studien existieren, die hinsichtlich des MBL-Status keine signifikanten Unterschiede bezüglich der Morbidität und Mortalität bei Infektionskrankheiten und anderen häufigen Krankheiten aufzeigten (10, 123), muss dem Expressionsgrad von MBL dennoch eine klinische Relevanz beigemessen werden. Der Mangel an MBL wurde bereits in Assoziation zu vielen Krankheiten untersucht. Es existiert eine Vielzahl an Studien, die Zusammenhänge bestimmter Krankheiten mit einem niedrigen MBL-Serumlevel oder Mutationen im MBL-2 Gen geprüft haben.

5.3.1.1. MBL-Mangel in Zusammenhang mit Infektionskrankheiten

Das Risiko für die Entwicklung einer akuten Entzündung im Respirationstrakt in der frühen Kindheit ist bei MBL-Mangel erhöht. Besonders anfällig hierfür sind Kinder im Alter zwischen sechs und 17 Monaten (61). In dieser Zeit schwinden die maternalen IgGs langsam, das eigene adaptive Immunsystem ist jedoch noch nicht vollständig

entwickelt. Gerade in dieser vulnerablen Phase, scheint das MBL eine besonders wichtige Rolle im Rahmen der angeborenen Immunabwehr zu übernehmen. Auch bei Immunsupprimierten infolge einer Chemotherapie bei Tumorerkrankung oder nach Organtransplantation stellt ein MBL-Mangel einen Risikofaktor für eine fiebrige Neutropenie und den Erwerb anderer schwerer Infektionen dar (91, 100). Zystische Fibrose-Patienten mit Mutationen im MBL-2 Gen zeigen eine schlechtere Lungenfunktion und sind häufiger mit *Pseudomonas aeruginosa* infiziert, wodurch deren Lebenserwartung deutlich eingeschränkt wird (35). Die Gefahr sich an dem „human immunodeficiency virus“ (HIV) anzustecken, ist für MBL-defiziente Personen erhöht (33, 36). In vitro konnte die Bindung von MBL an das rekombinante Glykoprotein (gp120) des HIV nachgewiesen werden und es konnte gezeigt werden, dass humanes MBL die Infektion von CD4+ H9 Lymphoblasten mit dem HIV verhindert (23). Des Weiteren sind Personen mit chronischer Hepatitis B oder C, die MBL-Mutationsträger sind, einem größeren Risiko für Komplikationen wie Leberzirrhose oder spontane bakterielle Peritonitiden ausgesetzt und sprechen auf eine Therapie mit Interferon schlechter an (83, 151). Fidler et al. (26) konnten bei intensivpflichtigen Kindern mit niedrigem MBL-Serum-Level aufgrund von Mutationen im MBL-2 Gen ein siebenfach erhöhtes Risiko für die Entwicklung eines „systemic inflammatory response syndroms“ SIRS mit deutlich schwererem Krankheitsverlauf nachweisen. Zu einem ähnlichen Ergebnis kam auch die Gruppe um Garred (32), die bei erwachsenen Intensivpatienten mit SIRS den Zusammenhang zwischen dem Vorhandensein von vom Wildtyp abweichenden MBL-Allelen mit niedrigen Serumwerten und der Krankheitsausdehnung zur schweren Sepsis bzw. septischen Schock prüften.

Interessanterweise scheint ein niedriger MBL-Serumspiegel aber auch protektiv bei viszeraler Leishmaniose zu sein (107). Intrazelluläre Parasiten benutzen im Rahmen der Komplementsystemaktivierung die C3-Opsonierung und dringen über C3-Rezeptoren in die Wirtszellen ein. Eine durch einen Mangel an MBL bedingte, verminderte Aktivierung des Komplementsystems, scheint so vor Parasitismus zu schützen (15).

5.3.1.2. MBL-Mangel in Zusammenhang mit Autoimmunkrankheiten

Die Wahrscheinlichkeit des Auftretens eines systemischen Lupus erythematodes (SLE) und die damit verbundene Komplikation einer arteriellen Thrombose, können ebenfalls durch einen Mangel an MBL bedingt sein (37, 95). Ein weiterer pathogenetischer Faktor scheint für die rheumatoide Arthritis zu existieren, denn Patienten mit niedrigem MBL-Serumlevel erkranken im Durchschnitt früher, weisen eine schnellere Gelenksdestruktion auf und sprechen auf mögliche Therapieoptionen schlechter an (41, 105).

5.3.2. SP-D-Plasmalevel bei anderen Erkrankungen

Die Hauptproduktionsstätte des SP-D befindet sich in der Lunge (79). Dementsprechend befasst sich eine Vielzahl der bisherigen Untersuchungen bezüglich SP-D-Konzentrationen mit Lungenerkrankungen. Dabei wurden erhöhte SP-D-Serumlevel bei einer Reihe verschiedener chronischer und entzündlicher Lungenerkrankungen, wie z.B. idiopathischer Lungenfibrose, interstitieller Pneumonie bei Kollagenosen, pulmonaler Alveolarproteinose, akuter eosinophiler Pneumonie, akutem respiratorischem Distresssyndrom und zystischer Fibrose gefunden (13, 31, 42, 50, 66, 124, 137). Bei vielen dieser Erkrankungen korreliert die SP-D-Erhöhung im Serum mit der Aktivität bzw. dem Schweregrad der Erkrankung. Die Messung von SP-D wird hierbei als brauchbarer klinischer Marker eingeschätzt (13, 31, 50). Greene et al.(42) konnten sogar zeigen, dass der SP-D-Plasmalevel eine hohe Prädiktivität für die Überlebenswahrscheinlichkeit von Patienten mit idiopathischer Lungenfibrose hat. Takahasi et al. (124) demonstrierten bei Untersuchungen zu dieser Erkrankung, dass die SP-D-Plasmakonzentration sowohl mit dem Ausmaß entzündlicher alveolärer Prozesse, als auch mit dem Grad eines parenchymatösen Untergangs und der Rate der jährlichen Verschlechterung der Lungenfunktion korreliert. Ein Bezug zur Progression der Fibrose bezüglich ihrer irreversiblen Gewebsveränderungen konnte nicht hergestellt werden.

Auch bei chronischen und entzündlichen Systemerkrankungen wie der Sarkoidose (56), Allergien (63), systemischer Sklerose (42, 124), Polymyositis und Dermatomyositis (51) konnten erhöhte SP-D-Serumlevel nachgewiesen werden.

Ebenso konnte ein Anstieg des SP-D im Serum bei einer Reihe von Infektionskrankheiten wie bakteriellen Pneumonien (96), Tuberkulose (50) und Masern (1) beobachtet werden. Hieraus wird ersichtlich, dass SP-D bei einer Vielzahl von Erkrankungen erhöht ist. Daher sollte dies bei weiteren Überlegungen, SP-D in Zukunft als Biomarker für die chronische Parodontitis einzusetzen, unbedingt berücksichtigt werden. Insbesondere Lungenerkrankungen gilt es im Vorfeld anamnestisch auszuschließen, um hier die Aussagekraft einer SP-D-Erhöhung im Rahmen einer chronischen Parodontitis auszudehnen und zu verbessern.

5.4. Ausblick

MBL übernimmt wichtige Aufgaben für das angeborene Immunsystem, wie die Aktivierung des Komplementsystems via dem Lektin-Weg. Die vorliegende Studie hat gezeigt, dass ein Mangel an diesem Protein mit ursächlich für die Entstehung von chronischer Parodontitis sein kann. Daher wäre es sehr interessant die Rolle von weiteren Komponenten des Lektin-Weges für diese Erkrankung zu untersuchen. Dazu zählen die MASPs, unter welchen vor allem die MASP-2 einen wichtigen Bestandteil der Aktivierungskaskade des Lektin-Weges darstellt. In den codierenden Genen, MASP-1Gen für MASP-1 und MASP-3 sowie MASP-2Gen für MASP-2 und MAp19, wurden bereits einige Polymorphismen entdeckt (111, 116). Es ist bisher nichts über deren funktionelle Relevanz bekannt, es könnte aber möglich sein, dass diese die MBL-MASP-Interaktionen beeinflussen und damit die Aktivierung des Komplementsystems verhindern. Ein Fallbericht über einen MASP-2 defizienten Patienten, der an rezidivierenden Infektionen und diversen autoimmunen Symptomen leidet, liefert erste Hinweise (117). Neben dem MBL, vermögen auch L- und H-Ficolin in Komplexen mit MASPs das Komplementsystem über den Lektin-Weg zu aktivieren. Daher wäre es auch interessant bei diesen Proteinen einen Zusammenhang mit der chronischen Parodontitis zu prüfen. Hierfür sind ebenfalls

bereits Polymorphismen bekannt, über deren klinische Bedeutung jedoch noch keine Informationen vorliegen.

Der genetisch bedingte MBL-Mangel ist sehr häufig, ungefähr 30% der menschlichen Bevölkerung weisen MBL-Plasmakonzentrationen von weniger als 500ng/ml auf (99). Betroffene Individuen sind dabei einem höheren Risiko für Infektionskrankheiten und Autoimmunerkrankungen ausgesetzt. Der Ausgleich des Mangels an MBL ist daher von therapeutisch hoher Relevanz und scheint einen guten Ansatzpunkt zu bieten. Zwei Fallberichte beschreiben bei Patienten eine eindeutige Besserung nach erfolgter MBL-Substitution, ohne erkennbare Risiken und Nebenwirkungen (34, 139). In zwei klinischen Phase I Studien wurden bisher gesunden MBL-defizienten Probanden rekombinant hergestelltes bzw. aus Plasma auf gereinigtes MBL verabreicht. Dabei traten keine Unverträglichkeiten oder ernsthafte Nebenwirkungen auf und unerwünschte immunologische Reaktionen wie Antikörperbildung gegen MBL blieben aus. Nach Ersatz konnten therapeutisch wirksame Serumspiegel (>1000ng/ml) detektiert werden (99, 140). Dennoch bedarf es weiterer großangelegter randomisierter klinischer Studien, um MBL als therapeutisches Agens zu etablieren. Da in dieser Studie ein Mangel an MBL einen Anhalt für die pathogenetische Relevanz für die chronische Parodontitis gezeigt hat, scheint auch der MBL-Ersatz bei chronischen Parodontitis Patienten mit MBL-Mangel ein interessanter Ansatz für künftige Therapieoptionen zu sein, welcher in weiteren Studien zu überprüfen ist.

Bisherige Untersuchungen konnten zeigen, dass ein Opsionieren pathogener Erreger mittels „bispecific antibody“, die Phagozytose und das Abtöten pathogener Keime durch CD89 exprimierende neutrophile Granulozyten induziert (47, 142). Die bispezifischen Antikörper bestanden aus einem Antikörper gegen ein spezifisches Pathogen, gekoppelt an einen Antikörper gegen CD89. An einen Antikörper binden nur eine begrenzte Auswahl pathogener Keime. Kollektine wie das SP-D können allerdings ein weites Spektrum an pathogenen Erregern erkennen. Aus diesem Grund haben Tacke et al. (121, 122) die Effektivität eines chimären Proteins getestet, dass sich aus einem rekombinanten trimeren SP-D Fragment (rfSP-D) und

einem Antikörper gegen CD89 (Anti-CD89) zusammensetzt. Sie konnten dabei in vitro für drei strukturell nicht miteinander verwandte Pathogene, E. coli, C. albicans und Influenza A Virus, eine verstärkte Aufnahme durch neutrophile Granulozyten zeigen. Zusätzlich stimulieren rfSP-D / anti CD 89 diese Granulozyten zum Abtöten o.g. Erreger und es kommt bei der Influenza zu einer vermehrten neutrophilen Aktivität. Basierend auf diesen Mechanismus könnte das rfSP-D/anti-CD89 Protein ein vielversprechender Therapieansatz für Infektionskrankheiten sein und damit zukünftig unter anderem auch für die chronische Parodontitis.

6. Zusammenfassung

Die *chronische Parodontitis* ist eine bakteriell verursachte Erkrankung, die mit Attachment- und alveolärem Knochenverlust einhergeht. Sie ist durch die Bildung von Zahnfleischtaschen und Gingivarezessionen gekennzeichnet und stellt die am häufigsten überwiegend im Erwachsenenalter vorkommende Parodontitisform dar. Die ursächlichen parodontalpathogenen Erreger werden durch das *Mannose bindende Lektin (MBL)* und *Surfactant Protein D (SP-D)* mittels spezifischer Rezeptoren (PRR) an deren Oberflächenstrukturen (PAMPs) erkannt. Dadurch können diese Erreger vom Immunsystem leichter eliminiert werden. Welche Rolle die Plasmakonzentrationen dieser Kollektine (MBL, SP-D) in der Pathogenese und im Verlauf dieser Erkrankung spielen war Gegenstand dieser Arbeit.

An der Klinik und Poliklinik für Zahnerhaltung und Parodontologie der Ludwig-Maximilians-Universität München wurde neben einer klinischen Untersuchung bei 1139 Personen die MBL- und bei 227 Personen die SP-D-Plasmakonzentration mittels ELISA bestimmt. Jedes Untersuchungskollektiv setzte sich aus an chronischer Parodontitis Erkrankten und gesunden Kontrollpersonen zusammen. Die Zuordnung wurde anhand standardisierter Kriterien festgelegt. Die gemessenen Plasmakonzentrationen wurden bezüglich Krankheitsstatus, Geschlecht und Rauchverhalten statistisch ausgewertet. Vorhandene Daten dieser Kollektive bezüglich genetischer Varianten und Polymorphismen im MBL-2- bzw. SFTPD-Gen wurden vergleichend herangezogen und deren Einfluss auf die jeweiligen Expressionslevel überprüft.

Bezüglich MBL konnte gezeigt werden, dass Patienten mit chronischer Parodontitis gegenüber der Kontrollgruppe insgesamt signifikant geringere Plasmawerte aufwiesen. Der Mangel an MBL als pathogenetischer Risikofaktor gewinnt somit an Relevanz. Durch vorexistente Daten zu Polymorphismen im MBL-2 Gen, konnte nach Messung der Plasmakonzentration gezeigt werden, dass Patienten mit chronischer Parodontitis und Mutationen signifikant niedrigere Werte als die Kontrollgruppe

aufwiesen. Jedoch zeigte der Vergleich der Patienten- mit der Kontrollgruppe ohne Mutationen insgesamt keine signifikanten Unterschiede. Beide Ergebnisse sprechen dafür, dass der detektierte MBL-Mangel bei chronischer Parodontitis genetisch beeinflusst ist und durch diese Zusammenhänge insgesamt, die Wertigkeit von MBL als Akut-Phase-Protein bzw. Biomarker eingeschränkt wird. Ein Nikotinabusus zeigte bezüglich der MBL-Plasmakonzentration keine signifikanten Unterschiede zwischen der Patienten- und Kontrollgruppe. Allerdings war unter Berücksichtigung der genetischen Zusammenhänge eine signifikante Erhöhung der MBL-Plasmawerte bei gesunden Rauchern zu verzeichnen, was für einen möglichen systemischen Einfluss des Nikotins auf die MBL-Expression hinweist.

Bezüglich der SP-D-Plasmakonzentration konnte gezeigt werden, dass diese bei Patienten mit chronischer Parodontitis gegenüber den Kontrollpersonen signifikant erhöht ist. Bei der geschlechtsspezifischen Differenzierung waren keine Unterschiede zu verzeichnen. Eine Stratifizierung gemäß dem Rauchstatus ergab innerhalb der Patientengruppe keine Signifikanz bezüglich der SP-D-Plasmakonzentration. Nach Vergleichen mit der aktuellen Literatur, scheint für SP-D die Wertigkeit als Biomarker zur Verlaufskontrolle gegeben, da auch genetische Varianten im SFTPD-Gen keine signifikante Auswirkung auf die SP-D-Plasmakonzentrationserhöhung der Patienten gegenüber den Kontrollen hatten.

7. Abkürzungsverzeichnis

Abb.	Abbildung
AIDS	acquired immune deficiency syndrome
BSA	Bovines Serum Albumin
bzw.	beziehungsweise
ca.	circa
CRD	carbohydrate recognition domain
DMS	Deutsche Mundgesundheitsstudie
ELAM-1	endothelial leukocyte adhesion molecule-1
ELISA	Enzyme-linked Immunoabsorbent Assay
engl.	Englisch
et al.	et alii bzw. et aliae
FMLP	Formyl-Methionin-Leucyl-Phenylalanin
GTR	gesteuerte Geweberegeneration
HIV	humans Immundefizienz Virus (engl.: human immunodeficiency virus)
HRP	horse-radish peroxidase
ICAM-1	intercellular adhesion molecule-1
Ig	Immunglobulin
IL	Interleukin
kDa	kilo Dalton
LPS	Lipopolysaccharid
MASP	MBL-assoziierte Serin Protease
MBL	Mannose-bindendes Lektin
MMP	Matrix-Metallo-Protease

PAG	periodontitis associated genotype
PAMP	pathogen associated molecular pattern
PBS	Phosphat gepufferte Kochsalzlösung (engl.: phosphate buffered saline)
PCR	Polymerasekettenreaktion (engl.: polymerase chain reaction)
PGE ₂	Prostaglandin E ₂
PMN	Polymorphkerniger Granulozyt
PROS	pathogen related oral spirochetes
PRR	pathogen recognition receptor
RANTES	regulated on activation, normal T-cell expressed and secreted
RFLP	restriction fragment length polymorphism
rpm	rounds per minute
s. o.	siehe oben
s. u.	siehe unten
SFTPD-Gen	Surfactantprotein D-Gen
SIRS	systemisches inflammatorisches Response-Syndrom
SLE	Systemischer Lupus Erythematodes
SP-A	Surfactantprotein A
SP-D	Surfactantprotein D
Tab.	Tabelle
TGF	transforming growth factor
TNF α	Tumor-Nekrose-Faktor alpha
u. a	unter anderem
z.B.	zum
	Beispiel

8. Literaturverzeichnis

1. Arai, Y., K. Obinata, Y. Sato, K. Hisata, R. Tadokoro, T. Tawa, and K. Kinoshita. 2001. Clinical significance of the serum surfactant protein D and KL-6 levels in patients with measles complicated by interstitial pneumonia. *Eur J Pediatr* 160:425-9.
2. Armitage, G. C. 1999. Development of a classification system for periodontal diseases and conditions. *Ann Periodontol* 4:1-6.
3. Armitage, G. C. 2003. Diagnosis of periodontal diseases. *J Periodontol* 74:1237-47.
4. Arnold, J. N., R. A. Dwek, P. M. Rudd, and R. B. Sim. 2006. Mannan binding lectin and its interaction with immunoglobulins in health and in disease. *Immunol Lett* 106:103-10.
5. Bramanti, T. E., G. G. Wong, S. T. Weintraub, and S. C. Holt. 1989. Chemical characterization and biologic properties of lipopolysaccharide from *Bacteroides gingivalis* strains W50, W83, and ATCC 33277. *Oral Microbiol Immunol* 4:183-92.
6. Bufler, P., B. Schmidt, D. Schikor, A. Bauernfeind, E. C. Crouch, and M. Griese. 2003. Surfactant protein A and D differently regulate the immune response to nonmucoid *Pseudomonas aeruginosa* and its lipopolysaccharide. *Am J Respir Cell Mol Biol* 28:249-56.
7. Califano, J. V., H. A. Schenkein, and J. G. Tew. 1991. Immunodominant antigens of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* serotypes a and c in high-responder patients. *Oral Microbiol Immunol* 6:228-35.
8. Crouch, E., K. Rust, R. Veile, H. Donis-Keller, and L. Grosso. 1993. Genomic organization of human surfactant protein D (SP-D). SP-D is encoded on chromosome 10q22.2-23.1. *J Biol Chem* 268:2976-83.
9. Crouch, E., and J. R. Wright. 2001. Surfactant proteins a and d and pulmonary host defense. *Annu Rev Physiol* 63:521-54.
10. Dahl, M., A. Tybjaerg-Hansen, P. Schnohr, and B. G. Nordestgaard. 2004. A population-based study of morbidity and mortality in mannan-binding lectin deficiency. *J Exp Med* 199:1391-9.
11. Dahl, M. R., S. Thiel, M. Matsushita, T. Fujita, A. C. Willis, T. Christensen, T. Vorup-Jensen, and J. C. Jensenius. 2001. MASP-3 and its association with distinct complexes of the mannan-binding lectin complement activation pathway. *Immunity* 15:127-35.
12. Dahlin, C., A. Linde, J. Gottlow, and S. Nyman. 1988. Healing of bone defects by guided tissue regeneration. *Plast Reconstr Surg* 81:672-6.

13. Daimon, T., S. Tajima, K. Oshikawa, M. Bando, S. Ohno, and Y. Sugiyama. 2005. KL-6 and surfactant proteins A and D in serum and bronchoalveolar lavage fluid in patients with acute eosinophilic pneumonia. *Intern Med* 44:811-7.
14. DiAngelo, S., Z. Lin, G. Wang, S. Phillips, M. Ramet, J. Luo, and J. Floros. 1999. Novel, non-radioactive, simple and multiplex PCR-cRFLP methods for genotyping human SP-A and SP-D marker alleles. *Dis Markers* 15:269-81.
15. Dommett, R. M., N. Klein, and M. W. Turner. 2006. Mannose-binding lectin in innate immunity: past, present and future. *Tissue Antigens* 68:193-209.
16. Drickamer, K. 1988. Two distinct classes of carbohydrate-recognition domains in animal lectins. *J Biol Chem* 263:9557-60.
17. DuFour, A., C. Baran, H. L. Langkamp, N. P. Piesco, and S. Agarwal. 1993. Regulation of differentiation of gingival fibroblasts and periodontal ligament cells by rhIL-1 beta and rhTNF-alpha. *J Periodontal Res* 28:566-8.
18. Eickholz, P. 2005. Ätiologie. In: Heidemann, D.: *Praxis der Zahnheilkunde - Parodontologie*.
19. Eickholz, P., T. S. Kim, T. Burklin, B. Schacher, H. H. Renggli, M. T. Schaecken, R. Holle, A. Kubler, and P. Ratka-Kruger. 2002. Non-surgical periodontal therapy with adjunctive topical doxycycline: a double-blind randomized controlled multicenter study. *J Clin Periodontol* 29:108-17.
20. Elter, J. R., H. P. Lawrence, S. Offenbacher, and J. D. Beck. 1997. Meta-analysis of the effect of systemic metronidazole as an adjunct to scaling and root planing for adult periodontitis. *J Periodontal Res* 32:487-96.
21. Emrich, L. J., M. Shlossman, and R. J. Genco. 1991. Periodontal disease in non-insulin-dependent diabetes mellitus. *J Periodontol* 62:123-31.
22. Engebretson, S. P., I. B. Lamster, M. Herrera-Abreu, R. S. Celenti, J. M. Timms, A. G. Chaudhary, F. S. di Giovine, and K. S. Kornman. 1999. The influence of interleukin gene polymorphism on expression of interleukin-1beta and tumor necrosis factor-alpha in periodontal tissue and gingival crevicular fluid. *J Periodontol* 70:567-73.
23. Ezekowitz, R. A., M. Kuhlman, J. E. Groopman, and R. A. Byrn. 1989. A human serum mannose-binding protein inhibits in vitro infection by the human immunodeficiency virus. *J Exp Med* 169:185-96.
24. Farquharson, S. I., G. R. Germaine, and G. R. Gray. 2000. Isolation and characterization of the cell-surface polysaccharides of *Porphyromonas gingivalis* ATCC 53978. *Oral Microbiol Immunol* 15:151-7.
25. Ferguson, J. S., D. R. Voelker, J. A. Ufnar, A. J. Dawson, and L. S. Schlesinger. 2002. Surfactant protein D inhibition of human macrophage uptake of *Mycobacterium tuberculosis* is independent of bacterial agglutination. *J Immunol* 168:1309-14.

26. Fidler, K. J., P. Wilson, J. C. Davies, M. W. Turner, M. J. Peters, and N. J. Klein. 2004. Increased incidence and severity of the systemic inflammatory response syndrome in patients deficient in mannose-binding lectin. *Intensive Care Med* 30:1438-45.
27. Figueredo, C. M., A. Areas, L. A. Miranda, R. G. Fischer, and A. Gustafsson. 2004. The short-term effectiveness of non-surgical treatment in reducing protease activity in gingival crevicular fluid from chronic periodontitis patients. *J Clin Periodontol* 31:615-9.
28. Flemmig, T. F. 1999. Periodontitis. *Ann Periodontol* 4:32-8.
29. Floros, J., H. M. Lin, A. Garcia, M. A. Salazar, X. Guo, S. DiAngelo, M. Montano, J. Luo, A. Pardo, and M. Selman. 2000. Surfactant protein genetic marker alleles identify a subgroup of tuberculosis in a Mexican population. *J Infect Dis* 182:1473-8.
30. Fredriksson, M., K. Bergstrom, and B. Asman. 2002. IL-8 and TNF-alpha from peripheral neutrophils and acute-phase proteins in periodontitis. *J Clin Periodontol* 29:123-8.
31. Fujii, M., H. Tanaka, M. Kameda, M. Fujii, S. Tanaka, K. Ohashi, H. Chiba, H. Takahashi, and S. Abe. 2004. Elevated serum surfactant protein A and D in a case of acute eosinophilic pneumonia. *Intern Med* 43:423-6.
32. Garred, P., J. S. J, L. Quist, E. Taaning, and H. O. Madsen. 2003. Association of mannose-binding lectin polymorphisms with sepsis and fatal outcome, in patients with systemic inflammatory response syndrome. *J Infect Dis* 188:1394-403.
33. Garred, P., H. O. Madsen, U. Balslev, B. Hofmann, C. Pedersen, J. Gerstoft, and A. Svejgaard. 1997. Susceptibility to HIV infection and progression of AIDS in relation to variant alleles of mannose-binding lectin. *Lancet* 349:236-40.
34. Garred, P., T. Pressler, S. Lannig, H. O. Madsen, C. Moser, I. Laursen, F. Balstrup, C. Koch, and C. Koch. 2002. Mannose-binding lectin (MBL) therapy in an MBL-deficient patient with severe cystic fibrosis lung disease. *Pediatr Pulmonol* 33:201-7.
35. Garred, P., T. Pressler, H. O. Madsen, B. Frederiksen, A. Svejgaard, N. Hoiby, M. Schwartz, and C. Koch. 1999. Association of mannose-binding lectin gene heterogeneity with severity of lung disease and survival in cystic fibrosis. *J Clin Invest* 104:431-7.
36. Garred, P., C. Richter, A. B. Andersen, H. O. Madsen, I. Mtoni, A. Svejgaard, and J. Shao. 1997. Mannan-binding lectin in the sub-Saharan HIV and tuberculosis epidemics. *Scand J Immunol* 46:204-8.
37. Garred, P., A. Voss, H. O. Madsen, and P. Junker. 2001. Association of mannose-binding lectin gene variation with disease severity and infections in a population-based cohort of systemic lupus erythematosus patients. *Genes Immun* 2:442-50.

38. Genco, R. J. 1996. Current view of risk factors for periodontal diseases. *J Periodontol* 67:1041-9.
39. Glas, J., V. Beynon, B. Bachstein, J. Steckenbiller, V. Manolis, A. Euba, B. Muller-Myhsok, and M. Folwaczny. 2008. Increased plasma concentration of surfactant protein D in chronic periodontitis independent of SFTPD genotype: potential role as a biomarker. *Tissue Antigens* 72:21-8.
40. Graswinckel, J. E., U. van der Velden, A. J. van Winkelhoff, F. J. Hoek, and B. G. Loos. 2004. Plasma antibody levels in periodontitis patients and controls. *J Clin Periodontol* 31:562-8.
41. Graudal, N. A., C. Homann, H. O. Madsen, A. Svejgaard, A. G. Jurik, H. K. Graudal, and P. Garred. 1998. Mannan binding lectin in rheumatoid arthritis. A longitudinal study. *J Rheumatol* 25:629-35.
42. Greene, K. E., T. E. King, Jr., Y. Kuroki, B. Bucher-Bartelson, G. W. Hunninghake, L. S. Newman, H. Nagae, and R. J. Mason. 2002. Serum surfactant proteins-A and -D as biomarkers in idiopathic pulmonary fibrosis. *Eur Respir J* 19:439-46.
43. Greenstein, G. 1992. Periodontal response to mechanical non-surgical therapy: a review. *J Periodontol* 63:118-30.
44. Harms, V. 1988. *Biomathematik, Statistik und Dokumentation*, vol. 5. Auflage. Harms-Verlag, Kiel.
45. Hart, T. C., and K. S. Kornman. 1997. Genetic factors in the pathogenesis of periodontitis. *Periodontol* 2000 14:202-15.
46. Heidinger, K., I. R. Konig, A. Bohnert, A. Kleinsteiber, A. Hilgendorff, L. Gortner, A. Ziegler, T. Chakraborty, and G. Bein. 2005. Polymorphisms in the human surfactant protein-D (SFTPD) gene: strong evidence that serum levels of surfactant protein-D (SP-D) are genetically influenced. *Immunogenetics* 57:1-7.
47. Hellwig, S. M., A. B. van Spriel, J. F. Schellekens, F. R. Mooi, and J. G. van de Winkel. 2001. Immunoglobulin A-mediated protection against *Bordetella pertussis* infection. *Infect Immun* 69:4846-50.
48. Holmskov, U., S. Thiel, and J. C. Jensenius. 2003. Collections and ficolins: humoral lectins of the innate immune defense. *Annu Rev Immunol* 21:547-78.
49. Holt, S. C., L. Kesavalu, S. Walker, and C. A. Genco. 1999. Virulence factors of *Porphyromonas gingivalis*. *Periodontol* 2000 20:168-238.
50. Honda, Y., Y. Kuroki, E. Matsuura, H. Nagae, H. Takahashi, T. Akino, and S. Abe. 1995. Pulmonary surfactant protein D in sera and bronchoalveolar lavage fluids. *Am J Respir Crit Care Med* 152:1860-6.

51. Ihn, H., Y. Asano, M. Kubo, K. Yamane, M. Jinnin, N. Yazawa, M. Fujimoto, and K. Tamaki. 2002. Clinical significance of serum surfactant protein D (SP-D) in patients with polymyositis/dermatomyositis: correlation with interstitial lung disease. *Rheumatology (Oxford)* 41:1268-72.
52. Iobst, S. T., M. R. Wormald, W. I. Weis, R. A. Dwek, and K. Drickamer. 1994. Binding of sugar ligands to Ca(2+)-dependent animal lectins. I. Analysis of mannose binding by site-directed mutagenesis and NMR. *J Biol Chem* 269:15505-11.
53. Ip, W. K., Y. F. To, S. K. Cheng, and Y. L. Lau. 2004. Serum mannose-binding lectin levels and mbl2 gene polymorphisms in different age and gender groups of southern Chinese adults. *Scand J Immunol* 59:310-4.
54. Jack, D. L., N. J. Klein, and M. W. Turner. 2001. Mannose-binding lectin: targeting the microbial world for complement attack and opsonophagocytosis. *Immunol Rev* 180:86-99.
55. Janeway, C. A. 2002. *Immunologie* 5.Auflage. Spektrum Akademischer Verlag GmbH, Heidelberg, Berlin.
56. Janssen, R., H. Sato, J. C. Grutters, A. Bernard, H. van Velzen-Blad, R. M. du Bois, and J. M. van den Bosch. 2003. Study of Clara cell 16, KL-6, and surfactant protein-D in serum as disease markers in pulmonary sarcoidosis. *Chest* 124:2119-25.
57. Johnson, G. K., and M. Hill. 2004. Cigarette smoking and the periodontal patient. *J Periodontol* 75:196-209.
58. Kishore, U., T. J. Greenhough, P. Waters, A. K. Shrive, R. Ghai, M. F. Kamran, A. L. Bernal, K. B. Reid, T. Madan, and T. Chakraborty. 2006. Surfactant proteins SP-A and SP-D: structure, function and receptors. *Mol Immunol* 43:1293-315.
59. Kleber, B. 2005. Befunderhebung und Diagnose. In: Heidemann, D.: *Praxis der Zahnheilkunde - Parodontologie*.
60. Kobayashi, T., K. Yamamoto, N. Sugita, W. L. van der Pol, K. Yasuda, S. Kaneko, J. G. van de Winkel, and H. Yoshie. 2001. The Fc gamma receptor genotype as a severity factor for chronic periodontitis in Japanese patients. *J Periodontol* 72:1324-31.
61. Koch, A., M. Melbye, P. Sorensen, P. Homoe, H. O. Madsen, K. Molbak, C. H. Hansen, L. H. Andersen, G. W. Hahn, and P. Garred. 2001. Acute respiratory tract infections and mannose-binding lectin insufficiency during early childhood. *Jama* 285:1316-21.
62. Kolenbrander, P. E., R. N. Andersen, D. S. Blehert, P. G. Eglund, J. S. Foster, and R. J. Palmer, Jr. 2002. Communication among oral bacteria. *Microbiol Mol Biol Rev* 66:486-505, table of contents.

63. Koopmans, J. G., J. S. van der Zee, E. J. Krop, C. E. Lopuhaa, H. M. Jansen, and J. J. Batenburg. 2004. Serum surfactant protein D is elevated in allergic patients. *Clin Exp Allergy* 34:1827-33.
64. Kornman, K. S., A. Crane, H. Y. Wang, F. S. di Giovine, M. G. Newman, F. W. Pirk, T. G. Wilson, Jr., F. L. Higginbottom, and G. W. Duff. 1997. The interleukin-1 genotype as a severity factor in adult periodontal disease. *J Clin Periodontol* 24:72-7.
65. Kornman, K. S., R. C. Page, and M. S. Tonetti. 1997. The host response to the microbial challenge in periodontitis: assembling the players. *Periodontol* 2000 14:33-53.
66. Krane, M., and M. Griese. 2003. Surfactant protein D in serum from patients with allergic bronchopulmonary aspergillosis. *Eur Respir J* 22:592-5.
67. Kuhlman, M., K. Joiner, and R. A. Ezekowitz. 1989. The human mannose-binding protein functions as an opsonin. *J Exp Med* 169:1733-45.
68. Lahti, M., J. Lofgren, R. Marttila, M. Renko, T. Klaavuniemi, R. Haataja, M. Ramet, and M. Hallman. 2002. Surfactant protein D gene polymorphism associated with severe respiratory syncytial virus infection. *Pediatr Res* 51:696-9.
69. Lee, S. G., J. S. Yum, H. M. Moon, H. J. Kim, Y. J. Yang, H. L. Kim, Y. Yoon, S. Lee, and K. Song. 2005. Analysis of mannose-binding lectin 2 (MBL2) genotype and the serum protein levels in the Korean population. *Mol Immunol* 42:969-77.
70. Leth-Larsen, R., P. Garred, H. Jensenius, J. Meschi, K. Hartshorn, J. Madsen, I. Tornoe, H. O. Madsen, G. Sorensen, E. Crouch, and U. Holmskov. 2005. A common polymorphism in the SFTPD gene influences assembly, function, and concentration of surfactant protein D. *J Immunol* 174:1532-8.
71. Lipscombe, R. J., M. Sumiya, A. V. Hill, Y. L. Lau, R. J. Levinsky, J. A. Summerfield, and M. W. Turner. 1992. High frequencies in African and non-African populations of independent mutations in the mannose binding protein gene. *Hum Mol Genet* 1:709-15.
72. Loe, H., E. Theilade, and S. B. Jensen. 1965. Experimental Gingivitis In Man. *J Periodontol* 36:177-87.
73. Loos, B. G., J. Craandijk, F. J. Hoek, P. M. Wertheim-van Dillen, and U. van der Velden. 2000. Elevation of systemic markers related to cardiovascular diseases in the peripheral blood of periodontitis patients. *J Periodontol* 71:1528-34.
74. Lynch, N. J., S. Roscher, T. Hartung, S. Morath, M. Matsushita, D. N. Maennel, M. Kuraya, T. Fujita, and W. J. Schwaeble. 2004. L-ficolin specifically binds to lipoteichoic acid, a cell wall constituent of Gram-positive bacteria, and activates the lectin pathway of complement. *J Immunol* 172:1198-202.

75. Madianos, P. N., Y. A. Bobetsis, and D. F. Kinane. 2005. Generation of inflammatory stimuli: how bacteria set up inflammatory responses in the gingiva. *J Clin Periodontol* 32 Suppl 6:57-71.
76. Madsen, H. O., P. Garred, J. A. Kurtzhals, L. U. Lamm, L. P. Ryder, S. Thiel, and A. Svejgaard. 1994. A new frequent allele is the missing link in the structural polymorphism of the human mannan-binding protein. *Immunogenetics* 40:37-44.
77. Madsen, H. O., P. Garred, S. Thiel, J. A. Kurtzhals, L. U. Lamm, L. P. Ryder, and A. Svejgaard. 1995. Interplay between promoter and structural gene variants control basal serum level of mannan-binding protein. *J Immunol* 155:3013-20.
78. Madsen, H. O., M. L. Satz, B. Hogh, A. Svejgaard, and P. Garred. 1998. Different molecular events result in low protein levels of mannan-binding lectin in populations from southeast Africa and South America. *J Immunol* 161:3169-75.
79. Madsen, J., A. Kliem, I. Tornoe, K. Skjodt, C. Koch, and U. Holmskov. 2000. Localization of lung surfactant protein D on mucosal surfaces in human tissues. *J Immunol* 164:5866-70.
80. Maffei, G., N. Brouwer, K. M. Dolman, U. van der Velden, D. Roos, and B. G. Loos. 2005. Plasma levels of mannan-binding lectin in relation to periodontitis and smoking. *J Periodontol* 76:1881-9.
81. Marsh, P. D., and D. J. Bradshaw. 1995. Dental plaque as a biofilm. *J Ind Microbiol* 15:169-75.
82. Matsushita, M., and T. Fujita. 1992. Activation of the classical complement pathway by mannose-binding protein in association with a novel C1s-like serine protease. *J Exp Med* 176:1497-502.
83. Matsushita, M., M. Hijikata, Y. Ohta, K. Iwata, M. Matsumoto, K. Nakao, K. Kanai, N. Yoshida, K. Baba, and S. Mishiro. 1998. Hepatitis C virus infection and mutations of mannose-binding lectin gene MBL. *Arch Virol* 143:645-51.
84. McGuire, M. K., and M. E. Nunn. 1999. Prognosis versus actual outcome. IV. The effectiveness of clinical parameters and IL-1 genotype in accurately predicting prognoses and tooth survival. *J Periodontol* 70:49-56.
85. McIntosh, J. C., A. H. Swyers, J. H. Fisher, and J. R. Wright. 1996. Surfactant proteins A and D increase in response to intratracheal lipopolysaccharide. *Am J Respir Cell Mol Biol* 15:509-19.
86. Michalowicz, B. S., S. R. Diehl, J. C. Gunsolley, B. S. Sparks, C. N. Brooks, T. E. Koertge, J. V. Califano, J. A. Burmeister, and H. A. Schenkein. 2000. Evidence of a substantial genetic basis for risk of adult periodontitis. *J Periodontol* 71:1699-707.

87. Mombelli, A., F. Casagni, and P. N. Madianos. 2002. Can presence or absence of periodontal pathogens distinguish between subjects with chronic and aggressive periodontitis? A systematic review. *J Clin Periodontol* 29 Suppl 3:10-21; discussion 37-8.
88. Moszczyński, P., Z. Zabinski, P. Moszczyński, Jr., J. Rutowski, S. Slowinski, and Z. Tabarowski. 2001. Immunological findings in cigarette smokers. *Toxicol Lett* 118:121-7.
89. Murray, P. A. 1994. Periodontal diseases in patients infected by human immunodeficiency virus. *Periodontol* 2000 6:50-67.
90. Nadesalingam, J., A. W. Dodds, K. B. Reid, and N. Palaniyar. 2005. Mannose-binding lectin recognizes peptidoglycan via the N-acetyl glucosamine moiety, and inhibits ligand-induced proinflammatory effect and promotes chemokine production by macrophages. *J Immunol* 175:1785-94.
91. Neth, O., I. Hann, M. W. Turner, and N. J. Klein. 2001. Deficiency of mannose-binding lectin and burden of infection in children with malignancy: a prospective study. *Lancet* 358:614-8.
92. Neth, O., D. L. Jack, A. W. Dodds, H. Holzel, N. J. Klein, and M. W. Turner. 2000. Mannose-binding lectin binds to a range of clinically relevant microorganisms and promotes complement deposition. *Infect Immun* 68:688-93.
93. Nyman S., L. J. 1997. Examination of patients with periodontal disease. In: Lindhe J., Karring T., Lang NP.: *Clinical periodontology and implant dentistry*.383-395.
94. Offenbacher, S. 1996. Periodontal diseases: pathogenesis. *Ann Periodontol* 1:821-78.
95. Ohlenschlaeger, T., P. Garred, H. O. Madsen, and S. Jacobsen. 2004. Mannose-binding lectin variant alleles and the risk of arterial thrombosis in systemic lupus erythematosus. *N Engl J Med* 351:260-7.
96. Ohnishi, H., A. Yokoyama, K. Kondo, H. Hamada, M. Abe, K. Nishimura, K. Hiwada, and N. Kohno. 2002. Comparative study of KL-6, surfactant protein-A, surfactant protein-D, and monocyte chemoattractant protein-1 as serum markers for interstitial lung diseases. *Am J Respir Crit Care Med* 165:378-81.
97. Paster, B. J., S. K. Boches, J. L. Galvin, R. E. Ericson, C. N. Lau, V. A. Levanos, A. Sahasrabudhe, and F. E. Dewhirst. 2001. Bacterial diversity in human subgingival plaque. *J Bacteriol* 183:3770-83.
98. Perry, M. B., L. M. MacLean, J. R. Brisson, and M. E. Wilson. 1996. Structures of the antigenic O-polysaccharides of lipopolysaccharides produced by *Actinobacillus actinomycetemcomitans* serotypes a, c, d and e. *Eur J Biochem* 242:682-8.

99. Petersen, K. A., F. Matthiesen, T. Agger, L. Kongerslev, S. Thiel, K. Cornelissen, and M. Axelsen. 2006. Phase I safety, tolerability, and pharmacokinetic study of recombinant human mannan-binding lectin. *J Clin Immunol* 26:465-75.
100. Peterslund, N. A., C. Koch, J. C. Jensenius, and S. Thiel. 2001. Association between deficiency of mannanose-binding lectin and severe infections after chemotherapy. *Lancet* 358:637-8.
101. Quinn, S. M., J. B. Zhang, J. C. Gunsolley, H. A. Schenkein, and J. G. Tew. 1998. The influence of smoking and race on adult periodontitis and serum IgG2 levels. *J Periodontol* 69:171-7.
102. Rateitschak, K. H. 2003. *Farbatlant der Zahnmedizin, Bd.1, vol. 3.* Georg Thieme Verlag, Stuttgart, New York.
103. Rivera-Hidalgo, F. 2003. Smoking and periodontal disease. *Periodontol 2000* 32:50-8.
104. Riviere, G. R., T. A. DeRouen, S. L. Kay, S. P. Avera, V. K. Stouffer, and N. R. Hawkins. 1997. Association of oral spirochetes from sites of periodontal health with development of periodontitis. *J Periodontol* 68:1210-4.
105. Saevarsdottir, S., T. Vikingsdottir, A. Vikingsson, V. Manfredsdottir, A. J. Geirsson, and H. Valdimarsson. 2001. Low mannanose binding lectin predicts poor prognosis in patients with early rheumatoid arthritis. A prospective study. *J Rheumatol* 28:728-34.
106. Salvi, G. E., H. P. Lawrence, S. Offenbacher, and J. D. Beck. 1997. Influence of risk factors on the pathogenesis of periodontitis. *Periodontol 2000* 14:173-201.
107. Santos, I. K., C. H. Costa, H. Krieger, M. F. Feitosa, D. Zurakowski, B. Fardin, R. B. Gomes, D. L. Weiner, D. A. Harn, R. A. Ezekowitz, and J. E. Epstein. 2001. Mannan-binding lectin enhances susceptibility to visceral leishmaniasis. *Infect Immun* 69:5212-5.
108. Sastry, K., G. A. Herman, L. Day, E. Deignan, G. Bruns, C. C. Morton, and R. A. Ezekowitz. 1989. The human mannanose-binding protein gene. Exon structure reveals its evolutionary relationship to a human pulmonary surfactant gene and localization to chromosome 10. *J Exp Med* 170:1175-89.
109. Scannapieco, F. A. 1994. Saliva-bacterium interactions in oral microbial ecology. *Crit Rev Oral Biol Med* 5:203-48.
110. Schubert, U., B. M. Kleber, F. P. Strietzel, and P. Dorfling. 2001. CrossLaps and beta-glucuronidase in peri-implant and gingival crevicular fluid. *Int J Oral Maxillofac Implants* 16:252-8.
111. Schwaeble, W., M. R. Dahl, S. Thiel, C. Stover, and J. C. Jensenius. 2002. The mannan-binding lectin-associated serine proteases (MASPs) and MASP-19: four components of the lectin pathway activation complex encoded by two genes. *Immunobiology* 205:455-66.

112. Sheiham, A. 1991. Public health aspects of periodontal diseases in Europe. *J Clin Periodontol* 18:362-9.
113. Sheiham, A., and G. S. Netuveli. 2002. Periodontal diseases in Europe. *Periodontol 2000* 29:104-21.
114. Shlossman, M., W. C. Knowler, D. J. Pettitt, and R. J. Genco. 1990. Type 2 diabetes mellitus and periodontal disease. *J Am Dent Assoc* 121:532-6.
115. Sorensen, G. L., J. B. Hjelmberg, K. O. Kyvik, M. Fenger, A. Hoj, C. Bendixen, T. I. Sorensen, and U. Holmskov. 2006. Genetic and environmental influences of surfactant protein D serum levels. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 290:L1010-7.
116. Sorensen, R., S. Thiel, and J. C. Jensenius. 2005. Mannan-binding-lectin-associated serine proteases, characteristics and disease associations. *Springer Semin Immunopathol* 27:299-319.
117. Stengaard-Pedersen, K., S. Thiel, M. Gadjeva, M. Moller-Kristensen, R. Sorensen, L. T. Jensen, A. G. Sjolholm, L. Fugger, and J. C. Jensenius. 2003. Inherited deficiency of mannan-binding lectin-associated serine protease 2. *N Engl J Med* 349:554-60.
118. Sulter, M. W., G. J. Kloosterhuis, P. J. Coenraads, and H. H. Pas. 1993. A solid-phase protein assay: quantitation of protein in the nanogram range. *Anal Biochem* 211:301-4.
119. Sumiya, M., M. Super, P. Tabona, R. J. Levinsky, T. Arai, M. W. Turner, and J. A. Summerfield. 1991. Molecular basis of opsonic defect in immunodeficient children. *Lancet* 337:1569-70.
120. Super, M., S. Thiel, J. Lu, R. J. Levinsky, and M. W. Turner. 1989. Association of low levels of mannan-binding protein with a common defect of opsonisation. *Lancet* 2:1236-9.
121. Tacke, P. J., and J. J. Batenburg. 2006. Monocyte CD64 or CD89 targeting by surfactant protein D/anti-Fc receptor mediates bacterial uptake. *Immunology* 117:494-501.
122. Tacke, P. J., K. L. Hartshorn, M. R. White, C. van Kooten, J. G. van de Winkel, K. B. Reid, and J. J. Batenburg. 2004. Effective targeting of pathogens to neutrophils via chimeric surfactant protein D/anti-CD89 protein. *J Immunol* 172:4934-40.
123. Tacx, A. N., A. B. Groeneveld, M. H. Hart, L. A. Aarden, and C. E. Hack. 2003. Mannan binding lectin in febrile adults: no correlation with microbial infection and complement activation. *J Clin Pathol* 56:956-9.
124. Takahashi, H., T. Fujishima, H. Koba, S. Murakami, K. Kurokawa, Y. Shibuya, M. Shiratori, Y. Kuroki, and S. Abe. 2000. Serum surfactant proteins A and D as prognostic factors in idiopathic pulmonary fibrosis and their relationship to disease extent. *Am J Respir Crit Care Med* 162:1109-14.

125. Takahashi, M., Y. Endo, T. Fujita, and M. Matsushita. 1999. A truncated form of mannose-binding lectin-associated serine protease (MASP)-2 expressed by alternative polyadenylation is a component of the lectin complement pathway. *Int Immunol* 11:859-63.
126. Taylor, M. E., P. M. Brickell, R. K. Craig, and J. A. Summerfield. 1989. Structure and evolutionary origin of the gene encoding a human serum mannose-binding protein. *Biochem J* 262:763-71.
127. Thiel, S., U. Holmskov, L. Hviid, S. B. Laursen, and J. C. Jensenius. 1992. The concentration of the C-type lectin, mannan-binding protein, in human plasma increases during an acute phase response. *Clin Exp Immunol* 90:31-5.
128. Thiel, S., M. Moller-Kristensen, L. Jensen, and J. C. Jensenius. 2002. Assays for the functional activity of the mannan-binding lectin pathway of complement activation. *Immunobiology* 205:446-54.
129. Thiel, S., T. Vorup-Jensen, C. M. Stover, W. Schwaeble, S. B. Laursen, K. Poulsen, A. C. Willis, P. Eggleton, S. Hansen, U. Holmskov, K. B. Reid, and J. C. Jensenius. 1997. A second serine protease associated with mannan-binding lectin that activates complement. *Nature* 386:506-10.
130. Tonetti, M. S., and A. Mombelli. 1999. Early-onset periodontitis. *Ann Periodontol* 4:39-53.
131. Tsai, C., C. Hayes, and G. W. Taylor. 2002. Glycemic control of type 2 diabetes and severe periodontal disease in the US adult population. *Community Dent Oral Epidemiol* 30:182-92.
132. Tsai, C. C., Y. C. Hong, C. C. Chen, and Y. M. Wu. 1998. Measurement of prostaglandin E2 and leukotriene B4 in the gingival crevicular fluid. *J Dent* 26:97-103.
133. Turner, M. W. 1998. Mannose-binding lectin (MBL) in health and disease. *Immunobiology* 199:327-39.
134. Turner, M. W. 2003. The role of mannose-binding lectin in health and disease. *Mol Immunol* 40:423-9.
135. Turner, M. W., and R. M. Hamvas. 2000. Mannose-binding lectin: structure, function, genetics and disease associations. *Rev Immunogenet* 2:305-22.
136. Tzouvelekis, A., G. Kouliatsis, S. Anevlavis, and D. Bouros. 2005. Serum biomarkers in interstitial lung diseases. *Respir Res* 6:78.
137. Tzouvelekis, A., I. Pneumatikos, and D. Bouros. 2005. Serum biomarkers in acute respiratory distress syndrome an ailing prognosticator. *Respir Res* 6:62.
138. Utech, M., M. Bruwer, and A. Nusrat. 2006. Tight junctions and cell-cell interactions. *Methods Mol Biol* 341:185-95.

139. Valdimarsson, H., M. Stefansson, T. Vikingsdottir, G. J. Arason, C. Koch, S. Thiel, and J. C. Jensenius. 1998. Reconstitution of opsonizing activity by infusion of mannan-binding lectin (MBL) to MBL-deficient humans. *Scand J Immunol* 48:116-23.
140. Valdimarsson, H., T. Vikingsdottir, P. Bang, S. Saevarsdottir, J. E. Gudjonsson, O. Oskarsson, M. Christiansen, L. Blou, I. Laursen, and C. Koch. 2004. Human plasma-derived mannose-binding lectin: a phase I safety and pharmacokinetic study. *Scand J Immunol* 59:97-102.
141. van de Wetering, J. K., M. van Eijk, L. M. van Golde, T. Hartung, J. A. van Strijp, and J. J. Batenburg. 2001. Characteristics of surfactant protein A and D binding to lipoteichoic acid and peptidoglycan, 2 major cell wall components of gram-positive bacteria. *J Infect Dis* 184:1143-51.
142. van Spriël, A. B., I. E. van den Herik-Oudijk, N. M. van Sorge, H. A. Vile, J. A. van Strijp, and J. G. van de Winkel. 1999. Effective phagocytosis and killing of *Candida albicans* via targeting FcγRI (CD64) or FcαRI (CD89) on neutrophils. *J Infect Dis* 179:661-9.
143. W. Micheelis, E. R. 1999. Dritte Deutsche Mundgesundheitsstudie (DMS III), Deutscher Ärzte-Verlag, vol. III. Deutscher Ärzte-Verlag, Köln.
144. W. Micheelis, R. K., J. Krämer. 2006. Vierte Deutsche Mundgesundheitsstudie (DMS IV). *In* B. Kassenärztliche Bundesvereinigung (ed.), vol. IV. Boeken.
145. Wallis, R., and J. Y. Cheng. 1999. Molecular defects in variant forms of mannose-binding protein associated with immunodeficiency. *J Immunol* 163:4953-9.
146. Weis, W. I., K. Drickamer, and W. A. Hendrickson. 1992. Structure of a C-type mannose-binding protein complexed with an oligosaccharide. *Nature* 360:127-34.
147. Wilson, M., K. Reddi, and B. Henderson. 1996. Cytokine-inducing components of periodontopathogenic bacteria. *J Periodontal Res* 31:393-407.
148. Wright, J. R. 2005. Immunoregulatory functions of surfactant proteins. *Nat Rev Immunol* 5:58-68.
149. Yokota, Y., T. Arai, and T. Kawasaki. 1995. Oligomeric structures required for complement activation of serum mannan-binding proteins. *J Biochem (Tokyo)* 117:414-9.
150. Ytting, H., I. J. Christensen, S. Thiel, J. C. Jensenius, M. N. Svendsen, L. Nielsen, T. Lottenburger, and H. J. Nielsen. 2007. Biological variation in circulating levels of mannan-binding lectin (MBL) and MBL-associated serine protease-2 and the influence of age, gender and physical exercise. *Scand J Immunol* 66:458-64.

151. Yuen, M. F., C. S. Lau, Y. L. Lau, W. M. Wong, C. C. Cheng, and C. L. Lai. 1999. Mannose binding lectin gene mutations are associated with progression of liver disease in chronic hepatitis B infection. *Hepatology* 29:1248-51.

9. Danksagung

Mein Dank gilt Herrn Prof. Dr. Reinhard Hickel, Direktor der Poliklinik für Zahnerhaltung und Parodontologie der Ludwig-Maximilians-Universität München, der durch die Bereitstellung der technischen Einrichtungen die Durchführung dieser Studie ermöglicht hat.

Besonders danke ich Herrn Prof. Dr. Dr. Matthias Folwaczny für die Überlassung des Themas, seine persönliche Betreuung und Hilfestellung bei der Bearbeitung.

Bei Frau Dr. Vanessa Beynon möchte ich mich für die freundliche Einarbeitung in die Labortechnik und ihre Hilfsbereitschaft bedanken.

Vielen Dank an Herrn Dr. Marco Rudolph für seine unterstützende statistische Beratung und seine kompetenten Ratschläge.

Danke an meine Schwester Marina, an Marcus Beissner und Herrn Dipl.-Ing. Sebastian Jost für ihre Tipps zur sprachlichen und grafischen Gestaltung.

Meinen Eltern gilt mein Dank in jeglicher Hinsicht.

10. Lebenslauf

11. Hinweis

Teile dieser Dissertation wurden publiziert:

Increased plasma concentration of surfactant Protein D in chronic periodontitis independent of SFTPD genotype: potential role as a biomarker

Glas J, Beynon V, Bachstein B, Steckenbiller J, Manolis V, Euba A, Müller-Myshok B, Folwaczny M

Tissue Antigens 2008 72, 21-28