

Aus der Poliklinik für Zahnerhaltung und Parodontologie

Klinik der Universität München

Direktor: Prof. Dr. med. dent. Reinhard Hickel

*Untersuchung der systemischen Expression von Surfactant Protein-D und
Matrixmetalloproteinase 8 nach nicht-chirurgischer Therapie der Parodontitis*

Dissertation

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

vorgelegt von

Lina Sophia Klusmann

aus

München

Jahr

2022

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr.med Dr. med. dent. Matthias Folwaczny

Mitberichterstatter: PD Dr. Dr. Wenko Smolka

Mitbetreuung durch den
promovierten Mitarbeiter: Dr. med. dent. Christina Ern

Dekan: Prof. Dr. med. Thomas Gudermann

Tag der mündlichen Prüfung: 12.07.2022

Inhaltsverzeichnis

Einleitung	1
1.1 Definition und Epidemiologie der Parodontitis	1
1.2 Ätiologie und Pathogenese der Parodontitis	2
1.2.1 Immunopathogenese	2
1.2.2 Dentaler Biofilm	3
1.3 Parodontale Befunderhebung	6
1.4 Parodontale Therapie	7
1.4.1 Klinische und bakterielle Veränderung nach parodontaler Therapie	7
1.4.2 Einflussfaktoren auf das Therapieergebnis	8
1.5 Biomarker in der Parodontologie	9
1.5.1 Matrixmetalloproteinase-8	9
1.5.2 Surfactant Protein-D	11
Thema der Arbeit	13
Material und Methoden	14
3.1 Studiendesign und Population	14
3.2 Klinik: Parodontalbefund und Therapie	14
3.3 Mikrobiologie: Probengewinnung und Analyse	15
3.3.1 Quantitativer Nachweis von SP-D im Plasma und MMP-8 im Serum mittels ELISA	16
3.3.1.1 MMP-8 Nachweis	18

3.3.1.2	SP-D Nachweis	18
3.3.2	Qualitativer Nachweis der Bakterien im Sulkusfluid	20
3.3.2.1	DNA-Isolation	20
3.3.2.2	DNA-Amplifikation	21
3.3.2.3	DNA-Detektion	22
3.4	Statistische Auswertung	23
3.4.1	Definition der Gruppen und Variablen	23
3.4.2	Test auf Normalverteilung	23
3.4.3	Test auf signifikante Veränderung von Initial zum 2.Recall	24
3.4.4	Test auf signifikanten Unterschied zwischen den Subgruppen	24
3.4.5	Zusammenhang zwischen den Variablen	24
Ergebnisse		26
4.1	Studienpopulation	26
4.2	Klinische Parameter	27
4.2.1	Sondierungstiefe	27
4.2.2	Blutung auf Sondierung	28
4.2.3	Plaque-Index	29
4.3	Bakterien	30
4.3.1	Aggregatibacter actinomycetemcomitans	32
4.3.2	Porphyromonas gingivalis	33
4.3.3	Fusobacterium nucleatum	34
4.3.4	Prevotella intermedias	36
4.3.5	Tannerella forsythia	37
4.3.6	Treponema denticola	38
4.4	Matrixmetalloproteinase-8	40
4.5	Surfactant Protein-D	40

4.6	Korrelation zwischen SP-D, MMP-8 und den klinischen Parametern	42
4.7	Zusammenhänge zwischen SP-D, MMP-8, den klinischen Parametern und dem Bakteriennachweis	43
	Diskussion	44
5.1	Diskussion der Methoden	44
5.1.1	Zeitraum der Studie	44
5.1.2	Wahl der Studienpopulation	44
5.1.3	Wahl der Therapieform und Durchführung der Studie im Studentenkurs	45
5.1.4	Vergleich zwischen Sulkusflüssigkeit und Blut	46
5.1.5	Analyseverfahren von MMP-8	46
5.1.6	Analyseverfahren von SP-D	47
5.1.7	Probenentnahme und Analyse der Bakterien	47
5.2	Diskussion der Ergebnisse	48
5.2.1	Klinische Ergebnisse	48
5.2.1.1	Erfolgreicher Therapieeffekt	48
5.2.1.2	Sondierungstiefe	49
5.2.1.3	Blutung auf Sondierung	50
5.2.1.4	Plaque-Index	51
5.2.2	Bakteriennachweis	52
5.2.3	Biomarker in der Parodontologie	53
5.2.3.1	Matrixmetalloproteinase-8	54
5.2.3.2	Surfactant Protein-D	57
	Zusammenfassung	60
	Abkürzungsverzeichnis	61
	Abbildungsverzeichnis	61

Tabellenverzeichnis	63
Literaturverzeichnis	65
Danksagung	80
Affidavit	81
Lebenslauf	82

Einleitung

1.1 Definition und Epidemiologie der Parodontitis

Die Parodontitis ist eine multifaktoriell bedingte, chronisch entzündliche Erkrankung des parodontalen Gewebes. Sie wird mit einer pathogenen Veränderung des dentalen Biofilms assoziiert. Von der reversiblen Gingivitis unterscheidet sich die Parodontitis durch den entzündungsbedingten irreversiblen Verlust des Zahnhalteapparats, welcher zum Zahnverlust führen kann. Kennzeichen der Parodontitis sind der klinische Attachmentverlust, parodontale Taschen und gingivale Blutung sowie röntgenologisch sichtbarer Knochenverlust ([Pihlstrom et al. 2005](#), [Darveau 2010](#), [Hajishengallis 2014](#), [Chapple et al. 2015](#), [Papapanou et al. 2018](#), [Tonetti et al. 2018](#)). Die Parodontitis nimmt negativen Einfluss auf die orale und systemische Gesundheit und mindert die allgemeine Lebensqualität. Neben der Beeinträchtigung der Kaufunktion, kann sich die Krankheit auch nachteilig auf die zwischenmenschliche Kommunikation und soziale Beziehungen auswirken ([Drisko 2001](#), [Hajishengallis 2014](#), [Papapanou et al. 2018](#), [Bishop et al. 2021](#)). Mit dem Alter erkranken mehr Menschen an Parodontitis und leiden häufiger an schweren Krankheitsverläufen. Angesichts des demografischen Wandels prognostiziert die 5. Deutsche Mundgesundheitsstudie steigenden parodontalen Behandlungsbedarf trotz allgemein abnehmender Prävalenz ([Jordan et al. 2014](#)).

Die aktuelle Klassifikation aus dem World Workshop 2017 zu parodontalen und periimplantären Krankheiten und Zuständen nennt drei Formen der Parodontitis, die anhand ihrer Pathophysiologie unterschieden werden können: die nekrotisierende Parodontitis, die Parodontitis als Manifestation systemischer Erkrankung und die Parodontitis. Letztere fasst die ehemals voneinander abgegrenzten Formen, die aggressive und die chronische, in einer Kategorie zusammen ([Armitage 1999](#), [Geurs et al. 2015](#), [Papapanou et al. 2018](#), [Tonetti et al. 2018](#)).

1.2 Ätiologie und Pathogenese der Parodontitis

Bei parodontaler Gesundheit besteht zwischen Wirt und bakterieller Flora ein physiologisches Gleichgewicht. Verschiebungen innerhalb der bakteriellen Flora und beeinträchtigte Abwehrfunktionen können zum Verlust dieses Gleichgewichts führen. Parodontalpathogene Bakterien und ein anfälliger Wirt sind Grundvoraussetzungen für die Entstehung der Parodontitis. Die Destruktion von parodontalem Gewebe geschieht dabei vor allem durch wirtseigene Produkte (Page 1999, Darveau 2010, Pihlstrom et al. 2005, Hajishengallis et al. 2012, Hajishengallis 2014, Hasturk and Kantarci 2015, Kinane et al. 2017). Zu wichtigen Risikofaktoren zählen systemische Erkrankungen, genetische Faktoren, erhöhtes Stresslevel, Ernährungsgewohnheiten und Tabakkonsum sowie sozialer Status und Herkunft (Pihlstrom et al. 2005, Kinane et al. 2017).

1.2.1 Immunopathogenese

Freiwerdende Stoffwechselprodukte und bakterielle Bestandteile aus dem Biofilm aktivieren Zellen und humorale Komponenten des Immunsystems und führen zur Entstehung einer Entzündung. Zeichen der Entzündung sind Gefäßerweiterung, erhöhte Durchlässigkeit und Durchblutung sowie der Austritt von entzündlichem Infiltrat. Dabei wandern anfangs vor allem polymorphkernige neutrophile Granulozyten (PMN) in Richtung der bakteriellen Eintrittspforte und übernehmen eine Schlüsselrolle als erste Abwehr gegen die Bakterien (Yucel Lindberg and Båge 2013, Hasturk and Kantarci 2015). Von entscheidender Bedeutung sind außerdem die, zu den humoralen Bestandteilen der angeborenen Abwehr zählenden, Pattern Recognition Receptors (PRR). Diese sind in löslicher Form oder an Zellen der Immunabwehr vorhanden und interagieren mit Bestandteilen der eindringenden Bakterien. Sie binden an pathogenassoziierte molekulare Muster (PAMP) und vermitteln Abwehrreaktionen. Zu den PAMPs zählen unter anderem Oberflächenbestandteile gramnegativer Bakterien, die Lipopolysaccharide (LPS) (Sorensen et al. 2007, Jia et al. 2019). Lipopolysaccharide und andere bakterielle Komponenten veranlassen PMNs, Makrophagen und weitere Abwehrzellen zur Freisetzung zahlreicher Entzündungsmediatoren wie Prostaglandin E₂, Interleukin 1, Tumornekrosefaktor α und Matrixmetalloproteinasen (MMP). Deren Freisetzung stimuliert zusätzlich die Produktion von Entzündungsmediatoren und hemmt deren Gegenspieler.

Das Ziel der Entzündungsreaktion liegt in der Abwehr der Bakterien und dem Schutz des parodontalen Gewebes. Die Entstehung einer chronischen Parodontitis kann sowohl Folge einer unzureichenden Beseitigung der Bakterien durch die akute Entzündungsreaktion sein, als auch aus einer deregulierten, überschießenden Immunreaktion resultieren (Page 1999, Yucel Lindberg and Båge 2013, Hasturk and Kantarci 2015). Dabei trägt

das Ungleichgewicht zwischen Matrixmetalloproteinasen und deren Gegenspielern maßgeblich zu dem Abbau des parodontalen Gewebes bei (Sorsa et al. 2015). Im Zuge der Entzündungsausbreitung wandert das Saumepithel nach apikal und wandelt sich in Taschenepithel um. Der entzündungsbedingte Verlust des parodontalen Attachments führt zur Entstehung parodontaler Taschen, dem Hauptmerkmal der Parodontitis. Parodontale Taschen bilden bakterielle Nischen und das entzündliche Infiltrat dient den Bakterien als Nahrungsquelle. Eine vollständige Regeneration kann gerade bei tiefen Taschen in der Regel nicht mehr erreicht werden (Page 1999, Graves et al. 2000, Pihlstrom et al. 2005, Hajishengallis et al. 2012, Yucel Lindberg and Båge 2013, Hasturk and Kantarci 2015).

1.2.2 Dentaler Biofilm

Bakterien kolonisieren verschiedene Oberflächen als Biofilm. Dazu zählt auch die Zahnoberfläche. Der Biofilm ist eine Überlebensstrategie, da durch diese Organisation als System, Bakterien vor Wirtsabwehr und Antibiotika im Gegensatz zu einem planktonischen Vorkommen besser geschützt sind (Graves et al. 2000, Socransky and Haffajee 2002, Folwaczny and Hickel 2003, Socransky and Haffajee 2005, Darveau 2010). Innerhalb des bakteriellen Systems findet reger Austausch von Informationen und Fähigkeiten, wie etwa Antibiotika-Resistenz, statt. Der Biofilm besteht vor allem aus polymerer Matrix, in die die Bakterien eingebettet sind (Socransky and Haffajee 2002). Die Zusammensetzung des Biofilms steht in dynamischer Beziehung zu dem Habitat. Einen Einfluss auf die Zusammensetzung haben dabei zum Beispiel das an- bzw. aerobe Milieu, die Beschaffenheit der zu besiedelnden Oberfläche sowie das vorhandene Nahrungsangebot (Socransky and Haffajee 2005).

Ob für die Entstehung der Parodontitis die Qualität (spezifische Plaquehypothese) der dentalen Plaque oder einzig die Quantität (unspezifische Plaquehypothese) der Plaque ausschlaggebend ist, wird seit über 100 Jahren diskutiert. Nachdem eine starke Assoziation zwischen potenziell pathogenen Spezies und klinischen Krankheitsausprägungen festgestellt wurde, löste um 1970 die spezifische die, zu der Zeit dominierende, unspezifische Plaquehypothese ab (Socransky and Haffajee 1992).

Socransky and Haffajee (1992) grenzen die parodontalpathogenen Bakterien von den Erregern klassischer Infektionskrankheiten nach Koch (1932) ab (ein exogener Erreger führt nach Wirtsbefall zur Erkrankung). Die Autoren beschreiben die parodontalpathogenen Bakterien als opportunistische Bakterien, die nur unter bestimmten Umständen zunehmen und pathogen wirken (Socransky and Haffajee 1992). Weil die Verschiebung innerhalb der bakteriellen Flora (Dysbiose) Auslöser der Krankheitsentstehung ist, wird die Parodontitis auch als Microbial-Shift-Disease bezeichnet (Darveau 2010, Hajishengallis et al. 2012, Hajishengallis 2014, Papapanou et al. 2018). Folgende Bakterienarten wurden da-

bei bereits von [Socransky and Haffajee \(1992\)](#) genannt: *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (Aa), *Porphyromonas gingivalis* (Pg), *Tannerella forsythia* (ehemals *Bacteroides forsythus*, Tf), *Treponema denticola* (Td), *Prevotella intermedia* (Pi), *Fusobacterium nucleatum* (Fn). Neben anderen kommen diese Bakterien in bestimmten Konstellationen vor. [Socransky et al. \(1998\)](#) definieren fünf farblich gekennzeichnete, bakterielle Hauptkonstellationen in der subgingivalen Plaque. Die Studie untersucht die Verbindung der Vertreter innerhalb der Komplexe, die Beziehungen zwischen den Komplexen sowie jene zu klinischen Merkmalen der Parodontitis. Der rote (Pg, Td, Tf) und orangene Komplex (u.a. Fn, Pi) wird mit parodontaler Erkrankung assoziiert. Mit zunehmender Sondierungstiefe steigt der Anteil beider Komplexe an. Die niedrigsten Sondierungstiefen finden sich bei Stellen ohne Vertreter des roten und orangenen Komplexes. Blutungswerte zeigen außerdem starke Assoziationen zu denen des roten Komplexes. Mit parodontaler Gesundheit hingegen werden der gelbe und violette Komplex assoziiert. Aa steht außerhalb der fünf Gruppen bzw. wird zu der blauen *Actinomyces*-Gruppe gezählt. Besonders die Spezies Aa, Pg und Tf werden mit Erkrankung, Fortschreiten sowie ausbleibendem Erfolg der parodontalen Therapie in Verbindung gebracht ([Socransky et al. 1998](#), [Socransky and Haffajee 2002](#)).

Die Virulenz der parodontalpathogenen Bakterien beschreibt ihre Fähigkeit sich im Wirt zu etablieren, in das Wirtsgewebe einzudringen und Gewebedestruktion zu erzielen. Sie ist einerseits abhängig von der Anfälligkeit des Wirts und andererseits von der Bakterienlast und den Virulenzfaktoren der Bakterien. Zu den Virulenzfaktoren zählen unter anderem die Lipopolysaccharide. Sie befinden sich auf der äußeren Membran, die nur bei gram-negativen Bakterien vorhanden ist. Die proinflammatorische Wirkung der Lipopolysaccharide auf das Immunsystem variiert je nach Bakterienart. Die genannten Bakterien gehören zur Gruppe der gram-negativen Bakterien mit strikt anaerobem Stoffwechsel, einzig Aa ist fakultativ anaerob ([Holt et al. 1999](#), [Johansson and Dahlén 2018](#), [Dahlén et al. 2019](#)).

Aa kommt auf der Mundschleimhaut, an der Zahnoberfläche und in der parodontalen Tasche vor. Beginn und Fortschreiten der Parodontitis sowie der Therapieeffekt sind eng mit seiner Anwesenheit verknüpft. Aa dringt sowohl in Gewebe als auch in die Blutbahn ein und wird mit systemischen Krankheiten assoziiert ([Fine et al. 2006](#)). Ein ausgesprochen potenter Virulenzfaktor der Spezies ist das Leukotoxin. Es kann Zellen des angeborenen Immunsystems direkt angreifen, Immunglobuline und Komplementsystem können deaktiviert werden. Die Familie der Aa umfasst mehrere Subtypen, deren unterschiedliche Virulenz besonders von der Ausprägung des Leukotoxins beeinflusst wird ([Wolf et al. 2003](#), [Fine et al. 2006](#)). Aa wurde mit der lokalisierten aggressiven Parodontitis direkt assoziiert. Wie bereits beschrieben veränderte diese Beobachtung die Sicht auf die krankmachenden Ursachen des Biofilms ([Haffajee and Socransky 2006](#)).

Pg ist besonders in tiefen Taschen zu finden. Das Bakterium kann die Wirtsabwehr durch

Invasion in Zellen des parodontalen Gewebes umgehen ([Johansson and Dahlén 2018](#)). Zu seinen wichtigsten Virulenzfaktoren zählen Gingipain, Fimbriae/Pilii und die Lipopolysaccharide. Diese können direkt und indirekt zu Gewebedestruktion führen. Durch ihre Freisetzung werden Zellen des Abwehrsystems unter anderem zur Expression zahlreicher entzündlicher Mediatoren stimuliert ([Graves et al. 2000](#), [Jia et al. 2019](#)). Die Entfernung bzw. Verringerung von Pg führt zu einem erfolgreichen Therapieergebnis, die Persistenz hingegen wird mit Residualläsionen assoziiert ([Socransky and Haffajee 1992](#)).

Tf steht in enger Beziehung zu parodontalem Attachmentverlust ([Gmür et al. 1989](#)). Gemäß der Übersichtsarbeit von [Tanner and Izard \(2006\)](#) wird Tf sowohl in besonders schweren als auch beginnenden Stadien der Parodontitis detektiert. Eine Verringerung der Spezies wird mit der Abnahme klinischer Symptome einer Parodontitis in Verbindung gebracht ([Tanner and Izard 2006](#)). Proteasen von Td bewirken den Abbau parodontalen Gewebes und verstärken diesen noch durch die Aktivierung körpereigener proteolytischer Enzyme. Zudem werden Lipoproteine auf der Oberfläche der Bakterien in Zusammenhang mit der Freisetzung proinflammatorischer Zytokine durch Abwehrzellen gebracht. Weitere spezielle Oberflächenkomponenten befähigen Tf ferner zur Adhäsion und Koaggregation mit anderen Bakterien ([Sharma 2010](#)).

Td wird gemeinsam mit Tf und Pg in enger Beziehung zu erhöhten Sondierungstiefen und Blutungswerten gesehen. Die Virulenz von Td ist durch seine ausgeprägte Beweglichkeit und die Freisetzung von proteolytischen Stoffen bedingt. Sie befähigen die Spezies, in Gewebe einzudringen und es zu schädigen. Td wird unter anderem mit einer Akutform der Parodontitis, der nekrotisierenden ulzerierenden Gingivitis assoziiert ([Socransky et al. 1998](#), [Sela 2001](#), [Socransky and Haffajee 2005](#), [Ishihara 2010](#)).

Fn sticht durch seine Eigenschaft der Koaggregation hervor, durch welches es das Wachstum des Biofilms fördert. Fn bildet ein Brückenglied zwischen den verschiedenen Komplexen, durch seine besondere Fähigkeit, sich mit verschiedenen Spezies zu verknüpfen. Dazu zählt auch Pg. Fn tritt sowohl in frühen als auch in späten Phasen parodontaler Erkrankung auf und wird als eines der am häufigsten vorkommenden Bakterien in der Sulkusflüssigkeit genannt ([Moore and Moore 1994](#), [Socransky and Haffajee 2002](#), [Kolenbrander et al. 2006](#)).

Pi verfügt über zahlreiche Virulenzfaktoren, welche es befähigen, die Mundschleimhaut zu besiedeln sowie Immunreaktionen zu beeinträchtigen und sich vor diesen zu schützen. Pi stimuliert die Freisetzung von Proteinase wie der MMP-8. In der gesteigerten Expression wird ein unmittelbarer Beitrag von Pi zu dem parodontalen Gewebeabbau vermutet ([Eley and Cox 2003](#), [Guan et al. 2009](#)). Die Spezies wird ferner mit erhöhten Blutungswerten assoziiert ([Mombelli et al. 2000](#)).

1.3 Parodontale Befunderhebung

Die Diagnose der Parodontitis basiert auf der parodontalen Befunderhebung. Diese umfasst eine ausführliche Anamnese, inklusive der Erhebung von Risikofaktoren, klinischen Parametern und Röntgenbefunden. Ergänzend kann eine wirtsspezifische und mikrobiologische Diagnostik durchgeführt werden (Wolf et al. 2003).

Zu den klinischen Parametern zählen der klinische Attachmentverlust, die Taschensondierungstiefe und die Blutung auf Sondierung. Der klinische Attachmentverlust entspricht dem Abstand zwischen Schmelz-Zement-Grenze und dem Taschenboden. Er wird aus der Messung der Taschensondierungstiefe und der Rezession errechnet. Die Rezession ist der Abstand zwischen Schmelz-Zement-Grenze und marginaler Gingiva. Die Taschensondierungstiefe ergibt sich aus der oberen Grenze der marginalen Gingiva und dem Taschenboden. Die Messungen werden mittels einer Parodontalsonde erhoben (Wolf et al. 2003, Mombelli 2005, Kinane et al. 2017, Papapanou et al. 2018). Die parodontale Entzündung wird durch die Messung der Blutung auf Sondierung (BOP) ebenfalls mittels Parodontalsonde bestimmt (Tonetti et al. 2018). Die Taschensondierung wird an mehreren Stellen eines Zahns durchgeführt (Mombelli 2005). Um die Mundhygiene zu beurteilen, kann durch Plaque-Indizes die Manifestation von Plaque und deren Lokalisation bestimmt werden. Die Indizes werden als Prozentwerte der positiven Plaquestellen oder in Graden angegeben (Fischman 1986, Marthaler 1986). Röntgenologisch sichtbarer Knochenverlust wird anhand der Messung des Abstandes zwischen Schmelz-Zement-Grenze und Knochen bestimmt (Wolf et al. 2003).

Gemäß der Stellungnahme der Deutschen Gesellschaft für Parodontologie und der Deutschen Gesellschaft für Zahn-, Mund- und Kieferkrankheiten, soll die mikrobiologische Diagnostik durchgeführt werden, wenn eine systemische adjuvante Antibiotikatherapie indiziert ist (Beikler 2005). Diese Aussage war zum Zeitpunkt der Durchführung der Studie richtig, ist jedoch mittlerweile veraltet. Es gibt keine ausreichende Evidenz, um die Auswahl eines geeigneten Wirkstoffs anhand der parodontalen Infektion zu treffen (Cionca et al. 2010, Mombelli et al. 2013, Jockel-Schneider 2018).

Bakterielle Proben werden durch das Einführen von sterilen Papierspitzen in die parodontalen Taschen oder mit Hilfe von KÜRretten gewonnen (Jervøe-Storm et al. 2007a, Guentsch et al. 2011). Für die Analyse werden molekularbiologische Methoden, wie die Polymerasekettenreaktion (PCR) und Antikörper-basierte Testmethoden (Enzyme-linked immunoabsorbent assay (ELISA) oder Immunfluoreszenztest) eingesetzt. Ferner können mikrobiologische Methoden, wie das Anlegen von Kulturen und mikroskopische Techniken, angewendet werden (Socransky and Haffajee 2005, Beikler 2005).

1.4 Parodontale Therapie

Ziel der parodontalen Therapie ist die langfristige Wiederherstellung des physiologischen Gleichgewichts zwischen Bakterien und Wirt. Die Abnahme von krankheitsassoziierten Bakterien, Entzündungsrückgang sowie die Bildung eines langen Saumepithels, im Sinne einer Defektheilung, werden durch die Entfernung bzw. Minimierung des Biofilms erreicht und beeinflussen sich gegenseitig (Socransky and Haffajee 2002, Mombelli 2005, Steinger et al. 2010, Socransky et al. 2013, Kinane et al. 2017). Die Mundgesundheit und die systemische Gesundheit stehen in direktem Zusammenhang zueinander. Durch die Wiederherstellung der parodontalen Gesundheit trägt die parodontale Therapie maßgeblich zur Lebensqualität bei (Drisko 2001).

Die parodontale Therapie beinhaltet zuerst eine Mundhygieneaufklärung, die Schaffung von hygienefähigen Verhältnissen und die nicht-chirurgische Therapie der Wurzeloberflächen. Zu dieser zählt die supra- und subgingivale mechanische Oberflächeninstrumentierung, das sogenannte Scaling und Wurzelglätten. Die subgingivale Therapie ist bei Taschensondierungstiefen von mehr als 3 mm indiziert. Die manuelle oder Schall bzw. Ultraschall betriebene Instrumentierung führt dabei zu ähnlichen Ergebnissen (Wolf et al. 2003, Drisko 2001, Kerschull 2019). Bei schwerem Krankheitsverlauf kann die adjuvante systemische Antibiotikatherapie indiziert sein sowie regenerative oder resektive chirurgische Maßnahmen (Heitz-Mayfield et al. 2002, Geurs et al. 2015, Jockel-Schneider 2018, Beikler 2005).

Bei stabiler, entzündungsfreier Situation folgt die Erhaltungsphase mit individuell abgestimmten Recall-Terminen. Sie dient dem langfristigen Erfolg der Therapie (Kinane et al. 2017, Wolf et al. 2003, Drisko 2001, Kerschull 2019). Bei den Recall-Terminen werden Anamnese und Befund aktualisiert und es erfolgt die professionelle supra- und subgingivale Reinigung. Die Mitarbeit des Patienten soll laufend kontrolliert und ggf. verbessert werden (Wolf et al. 2003). Die regelmäßige Plaque-Kontrolle führt dabei zu einer Prävention bzw. Minimierung der Gingivitis und damit zu der Prävention der Parodontitis (Sanz 2015, Graetz et al. 2018, Chapple et al. 2015). Fehlt die Erhaltungsphase können binnen kurzer Zeit die Effekte der parodontalen Therapie schwinden (Becker et al. 1984, Kinane et al. 2017).

1.4.1 Klinische und bakterielle Veränderung nach parodontaler Therapie

Die nicht-chirurgische Therapie führt zu der Abnahme parodontalpathogener Bakterien. Lokale Entzündungsreaktionen, wie die gesteigerte Fließrate des entzündlichen Infiltrats,

gehen zurück. Folglich nimmt auch das Nahrungsangebot für die Bakterien ab. Die Abnahme der Taschensondierungstiefen wirkt der weiteren Besiedelung durch parodontal-pathogene Bakterien entgegen (Haffajee et al. 1997, Cugini et al. 2000, Socransky and Haffajee 2005, Socransky et al. 2013). Regelmäßige Recallsitzungen sind essenziell, um den positiven Effekt der nicht-chirurgischen Therapie zu erhalten (Drisko 2001, Socransky and Haffajee 2005, Haffajee et al. 2006). In den ersten drei Monaten nach Therapie kommt es zu besonders ausgeprägter Abnahme subgingivaler Bakterien und deutlicher Verringerung der Sondierungstiefen und der Blutungswerte. Die durchschnittliche Abnahme der Sondierungstiefe nach nicht-chirurgischer Therapie ist dabei abhängig von der initialen Sondierungstiefe (Cobb 1996, 2002, Cugini et al. 2000, Socransky et al. 2013). Sondierungstiefen von bis zu 4 mm sind vereinbar mit einem erfolgreichen Therapieergebnis, solange diese Stellen frei von Blutung auf Sondierung sind. Die Abwesenheit der Blutung auf Sondierung deutet auf das Bestehen parodontaler Gesundheit hin. Erhöhte Sondierungstiefen mit bestehender Blutung auf Sondierung hingegen signalisieren das Risiko einer wiederkehrenden Parodontitis (Lang et al. 1986, 1991, Mombelli 2005, Kinane et al. 2017, Chapple et al. 2018, Chapple 2019).

1.4.2 Einflussfaktoren auf das Therapieergebnis

Das Ergebnis der nicht-chirurgischen Therapie hängt sowohl von der Fähigkeit des Behandelnden, als auch von der Mitarbeit des Patienten ab (Drisko 2001, Kinane et al. 2017). Als einschränkende anatomische Faktoren auf den Effekt der nicht-chirurgischen Therapie werden mehrwurzelige Zähne, Furkationsbefall und tiefe Taschen genannt (Cobb 1996, Cugini et al. 2000, Drisko 2001). Iatrogen entstandene Plaqueretentionsstellen fördern die Plaqueakkumulation und erschweren deren Beseitigung (Drisko 2001). Plaquerückstände nach nicht-chirurgischer Therapie finden sich vor allem interproximal und bei mehrwurzeligen Zähnen (Cobb 2002).

Tabakkonsum wird zu den gefährlichsten Risikofaktoren in der Parodontologie gezählt. Im Vergleich zu Nichtrauchern leiden Raucher unter stärkerem Fortschreiten der Krankheit und häufigerem Zahnverlust (Kinane et al. 2006, 2017, Nociti Jr et al. 2015). Ferner hat die nicht-chirurgische Therapie einen geringeren Effekt auf die Verringerung klinischer und bakterieller Werte (Goodson et al. 2012, Nociti Jr et al. 2015). Als mögliche Ursachen werden gestörte Mikrozirkulation und eingeschränkte Abwehrmechanismen genannt (Biddle et al. 2001, Nociti Jr et al. 2015). Rauchentwöhnung wird als ausschlaggebend für ein erfolgreiches Ergebnis der Behandlung bewertet (Warnakulasuriya et al. 2010, Drisko 2001).

Ein geschlechtsspezifischer Einfluss auf die parodontale Erkrankung und deren Therapie wird in der Literatur kontrovers diskutiert. Eine Ursache für die stärkere Ausprägung

bei Männern wird weniger in genetischen Faktoren, sondern in unterschiedlichem sozialen Verhalten gesehen (Genco and Borgnakke 2013). Der Effekt der professionellen supra- und subgingivalen Reinigung hingegen wird als ähnlich beurteilt (Faddy et al. 2000, Nizam et al. 2014, Türer et al. 2016).

1.5 Biomarker in der Parodontologie

Biomarker sind objektiv messbare Faktoren, die physiologische und pathologische Prozesse darstellen. Sie werden für Diagnose und Prognose einer Krankheit sowie für die Bewertung der Therapiewirkung eingesetzt (European Commission 2010, FDA-NIH 2016, Strimbu and Tavel 2010).

In der Parodontologie werden körpereigene Faktoren in Sulkusflüssigkeit, Speichel und Blut untersucht. Dazu zählen Antikörper, Enzyme, Rezeptoren für pathogene Oberflächenstrukturen, Zytokine und weitere Entzündungsmediatoren (Buduneli 2019, Stathopoulou et al. 2015).

Die Parodontitis und die parodontale Therapie wirken sich auf den gesamten Körper aus. In diesem Zusammenhang wird das Potenzial von im Blut zirkulierenden Entzündungsmediatoren in der Verlaufskontrolle untersucht. Darüber hinaus soll die Untersuchung dieser Faktoren Aufschluss über die Verknüpfung der Parodontitis mit systemischen Erkrankungen bringen. Auch der Einfluss der parodontalen Therapie auf die allgemeine Gesundheit soll untersucht werden (Glas et al. 2008, Davé and Van Dyke 2008, Marcaccini et al. 2009, Türer et al. 2016, Buduneli 2019).

1.5.1 Matrixmetalloproteinase-8

Die Matrixmetalloproteinasen sind eine Gruppe von strukturell ähnlichen, zinkhaltigen Proteinasen. Sie werden in fünf Hauptgruppen eingeteilt: Gelatinasen, Kollagenasen, Stromalysine, Matrilysine und die membrangebundenen MMPs. Die MMPs werden vor allem als Proenzyme freigesetzt und extrazellulär, durch die Abspaltung des Propeptids, aktiviert (Iyer et al. 2012, Lindsey and Zamilpa 2012). Die Familie der MMPs ist durch den Abbau extrazellulärer Matrix maßgeblich an Umbauprozessen im Körper beteiligt (Klein and Bischoff 2011). Ihre endogenen Gegenspieler sind die MMP-Gewebe-Inhibitoren 1-4 (TIMP) (Knäuper et al. 1993, Iyer et al. 2012, Lindsey and Zamilpa 2012). Wird das Gleichgewicht zwischen den MMPs und ihren Gegenspielern gestört, kann Gewebe im Rahmen chronisch entzündlicher Krankheiten verloren gehen (Klein and Bischoff 2011, Iyer et al. 2012). Bei der Parodontitis trägt die gesteigerte Enzymaktivität der Matrixmetalloproteinase-8 (MMP-8) und die Hemmung ihrer Inhibitoren entscheidend zu

dem entzündungsbedingten Attachmentverlust bei (Sorsa et al. 1995, Romanelli et al. 1999, Sorsa et al. 2006, Kiili et al. 2002, Sorsa et al. 2015, Noack et al. 2017). Durch den bakteriellen Reiz aktiviert und in das entzündete Gewebe eingewandert, setzen polymorphkernige neutrophile Granulozyten und andere Immunzellen MMP-8 und MMP-8-aktivierende Produkte frei. Dazu zählen proinflammatorische Zytokine, andere MMPs, Neutrophile Elastasen, Myeloperoxidasen und reaktive Sauerstoffspezien. Ferner aktivieren bakterielle Produkte, wie Proteasen, MMP-8 direkt (Birkedal-Hansen 1993, Romanelli et al. 1999, Wolf et al. 2003, Sorsa et al. 2006, Iyer et al. 2012, Alfakry et al. 2015, Ozcaka et al. 2011, Uitto et al. 2003). MMP-8 spaltet verschiedene Kollagentypen, vor allem aber Kollagen Typ 1 (Klein and Bischoff 2011). Kollagen Typ 1 ist Hauptbestandteil der extrazellulären Matrix des parodontalen Gewebes. Unter anderem besteht das, den Zahn mit dem Alveolarknochen verbindende, Desmodont aus kollagenem Bindegewebe Typ 1 (Sharpey Fasern) und Typ 3 (Steiniger et al. 2010, Konopka et al. 2012).

Wegen der starken Assoziation zu dem entzündungsbedingten Gewebeabbau wird MMP-8 als möglicher Biomarker in der Parodontologie untersucht. Im Zuge dessen wird die Bestimmung von MMP-8 in Sulkusflüssigkeit und Speichel für die Diagnose und die Evaluation der parodontalen Therapie gegenüber dem Einsatz klassischer Diagnostikmittel diskutiert (Meisel and Eickholz 2016, Kinane et al. 2017, Buduneli 2019). Studien zeigen, dass anhand vom MMP-8-Level in Speichel und Sulkusflüssigkeit zwischen Parodontitis- und Gingivitis-Patienten sowie Gesunden unterschieden werden kann (Leppilahti et al. 2014, Ebersole et al. 2015, Noack et al. 2017). Andere Autoren beobachten indes keinen signifikanten Unterschied zwischen Letzteren (Syndergaard et al. 2014). Für die Therapieevaluation wird MMP-8 in Speichel und Sulkusflüssigkeit als möglicher Biomarker bewertet, nachdem signifikant gesunkene Level nach parodontaler Therapie festgestellt wurden (Sexton et al. 2011, Hernández et al. 2010, Marcaccini et al. 2009, Bumm 2018). Neben der Parodontitis wird MMP-8 auch in Zusammenhang mit verschiedenen systemischen Erkrankungen untersucht. Zu diesen zählen kardiovaskuläre Erkrankungen (Lenglet et al. 2013, Alfakry et al. 2015), Diabetes und das metabolische Syndrom (Aquilante et al. 2007, Lauhio et al. 2016). Diese und andere systemische Erkrankungen werden wiederum mit der Parodontitis assoziiert (Linden et al. 2013, Tonetti and Van Dyke 2013, Chapple and Genco 2013, Hobbins et al. 2017). Angesichts möglicher systemischer Wirkungen der Parodontitis wird vermehrt auch die Beziehung von MMP-8 im Blut zu systemischer und oraler Gesundheit untersucht (Marcaccini et al. 2009, Palm et al. 2013, Noack et al. 2017). Teilweise wird eine signifikant erhöhte Konzentration von MMP-8 im Blut bei Parodontitis-Patienten im Vergleich zu Gesunden festgestellt. Auch zeigt sich eine Abnahme der MMP-8 Konzentration nach parodontaler Therapie (Marcaccini et al. 2009, Noack et al. 2017, Türkoğlu et al. 2013).

Als ein Einflussfaktor auf die MMP-8 Konzentration im parodontalen Gewebe wird der Tabakkonsum genannt. So zeigt sich bei Rauchern eine erhöhte MMP-8 Expression im

Vergleich zu Nichtrauchern. Als eine mögliche Ursache wird die gesteigerte Freisetzung durch neutrophile Granulozyten, die Hauptexpressionsquelle für MMP-8, diskutiert. Ferner wird auf den Anstieg von Entzündungsmediatoren als Ursache verwiesen, da diese die MMP-8 Freisetzung und Aktivierung veranlassen (Persson et al. 2003, Liu et al. 2006, Sorsa et al. 2015).

1.5.2 Surfactant Protein-D

Als Bestandteil des Lungensurfactants wurden die hydrophilen Surfactant Proteine A (SP-A) und D (SP-D) sowie die hydrophoben Surfactant Proteine B (SP-B) und C (SP-C) identifiziert. Das, die Lunge auskleidende, oberflächenaktive Surfactant verhindert das Kollabieren der Alveolen, indem es die Oberflächenspannung senkt (Goerke 1998, Weaver and Conkright 2001, Sorensen 2018).

Die Surfactant Proteine A und D gehören zu der Familie der C-Typ Kollektine. Sie übernehmen als lösliche Pattern Recognition Receptors wichtige Funktionen der angeborenen Abwehr. Dazu zählen die Agglutinierung, Opsonierung sowie die Neutralisierung von Pathogenen (Hoppe and Reid 1994, Crouch 1998, McIntosh et al. 1996, Holmskov et al. 2003, Kishore et al. 2006, Hartl and Griese 2006, Ujma et al. 2016, Sorensen et al. 2007, Sorensen 2018). Dabei wurde eine stärkere Agglutinierung durch SP-D als SP-A beobachtet (Crouch 1998, Sorensen et al. 2007). Die Polypeptidketten der beiden Proteine bestehen aus der Kollagen-Domäne und der Kohlenhydrat-Erkennungs-Domäne. Über letztere werden mikrobielle Bestandteile, wie Lipopolysaccharide gram-negativer Bakterien, kalziumabhängig gebunden (Crouch 2000, Holmskov et al. 2003, Sorensen et al. 2007). SP-A und SP-D werden hauptsächlich in der Lunge von Clara-Zellen und Pneumozyten Typ 2 sezerniert. Sie werden jedoch auch extrapulmonal produziert und sind über Blut und verschiedene Schleimhäute im Körper weit verbreitet (Sorensen et al. 2007, Ujma et al. 2016).

Vor allem SP-D steht dabei in vielen Bereichen des Körpers direkt oder indirekt in Kontakt zum externen Milieu (Madsen et al. 2000, Ujma et al. 2016, Sorensen 2018). Bei Untersuchungen der Magenschleimhaut auf Lungensurfactant-ähnliche Regulationsmechanismen wurde SP-D im Gastrointestinaltrakt nachgewiesen (Fisher and Mason 1995), später dann im Speichel und der Gingiva (Bräuer et al. 2012). SP-D interagiert mit humoralen und zellulären Bestandteilen des Immunsystems und unterstützt die Beseitigung von Pathogenen und absterbenden Wirtszellen. Außerdem trägt SP-D zur Regulierung der Reaktion auf potenzielle Allergene bei (Kishore et al. 2006, Nayak et al. 2012).

Aufgrund seiner wichtigen Rolle bei entzündlichen bakteriellen Abwehrprozessen wird SP-D in der Parodontologie als möglicher Biomarker untersucht (Glas et al. 2008). Bräuer et al. (2012) weisen in ihrer Studie das Vorkommen von SP-A bis -D bei Gesunden und

Gingivitis-Patienten in gingivalem Epithel und Speichel nach. Im Vergleich zu gesundem Epithel stellen sie bei Patienten mit Gingivitis höhere Expressionen der Surfactant Proteine im Gewebe fest ([Bräuer et al. 2012](#)). Darüber hinaus beobachten [Schicht et al. \(2014\)](#) mittels ELISA bei Patienten mit parodontaler Entzündung erhöhte Level von SP-A, -C und -D und niedrigere Werte von SP-B im Speichel. Einzig SP-D ist im Speichel der Parodontitis-Patienten im Vergleich zu Gesunden signifikant erhöht. Die Autoren schlussfolgern, dass SP-D Teil der lokalen Immunreaktion bei bakteriellen Infektionen ist.

Im Blut wird die SP-D Konzentration vor allem in Verbindung mit pulmonalen Erkrankungen, aber auch mit kardiovaskulären Erkrankungen sowie mit Fettleibigkeit und Insulinresistenz analysiert ([Sorensen et al. 2007](#), [Sorensen 2018](#), [Hill et al. 2011](#)). Darüber hinaus untersuchen [Glas et al. \(2008\)](#) die SP-D Konzentration im Plasma bei Patienten mit chronischer Parodontitis. Mittels ELISA messen sie eine signifikant erhöhte SP-D Konzentration im Vergleich zu Gesunden. Einflüsse der Ergebnisse durch Geschlecht, Tabakkonsum oder genetische Faktoren werden bei [Glas et al. \(2008\)](#) berücksichtigt, können jedoch nicht bestätigt werden.

Andere Studien beobachten wiederum bei gesunden Studienteilnehmern erhöhte Serum SP-D Level in Zusammenhang mit Rauchen, männlichem Geschlecht und steigendem Alter ([Sorensen et al. 2006](#)). Auch in Verbindung mit Lungenerkrankungen wird bei Rauchern eine erhöhte SP-D Konzentration im Serum festgestellt ([Lomas et al. 2009](#), [Moazed et al. 2016](#)). SP-D wird hauptsächlich in der Lunge produziert. Erhöhte Level im Blut werden vor allem auf eine entzündungsbedingte erhöhte Durchlässigkeit der Blut-Luft-Schranke zurückgeführt. Dadurch wird der Austritt von SP-D aus der Lunge in das Blut ermöglicht ([Sorensen et al. 2006](#), [Lomas et al. 2009](#), [Moazed et al. 2016](#)).

Ziel der Arbeit

Das Ziel der vorliegenden Arbeit war es, den Einfluss der nicht-chirurgischen parodontalen Therapie auf die Konzentration von SP-D und MMP-8 im Blut nachzuweisen sowie einen möglichen Zusammenhang mit klinischen und bakteriellen Parametern zu untersuchen.

Material und Methoden

3.1 Studiendesign und Population

Die Studienpopulation bestand zunächst aus einer definierten Anzahl von Patienten der Poliklinik für Zahnerhaltung und Parodontologie der Ludwig-Maximilians-Universität München. Sollten zu einem späteren Zeitpunkt Patienten nicht mehr erscheinen bzw. nicht mehr an der Studie teilnehmen, wird das in den Ergebnissen berichtet.

Zu den Ausschlusskriterien für die Teilnahme an der Studie zählten das Alter unter 18 bzw. über 65 Jahren, eine bestehende Schwangerschaft sowie folgende gesundheitliche Einschränkungen: angeborene oder erworbene Blutungsübel sowie angeborene oder erworbene Immundefekte, medikamentös induzierte Immunsuppression, maligne hämatologische oder lymphoproliferative Erkrankungen, maligne Tumore, HIV-Infektion, therapiebedürftige Autoimmunerkrankungen sowie eine Erkrankung an Diabetes mellitus, angeborene oder erworbene Herzvitien, Zustand nach Herzklappenersatz, eingeschränkte Leberfunktion, zerebrale Krampfleiden sowie schwere sonstige neurologische oder psychische Erkrankungen, systemische Infektionskrankheiten, angeborene oder erworbene Kollagensynthese und schwere Durchblutungsstörungen der oberen Extremitäten.

Nach Aufklärung über die Parodontitiserkrankung sowie über den Ablauf und das Ziel der Studie gaben die Patienten eine schriftliche Einverständniserklärung für die Studienteilnahme ab. Die Studie wurde durch die Ethikkommission der medizinischen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität München bewilligt (Referenznummer: 025-11).

3.2 Klinik: Parodontalbefund und Therapie

Die Patienten wurden Initial, nach 6 Monaten (1.Recall) und nach 12 Monaten (2.Recall) einbestellt. Zu jedem der drei Zeitpunkte wurden im Zuge der parodontalen Befunderhebung Sondierungstiefe, Blutung auf Sondierung und Plaque-Index dokumentiert. Die Sondierungstiefen wurden mit Hilfe einer Michigan Typ O Parodontalsonde an sechs Stel-

len pro Zahn (mesiobukkal, bukkal, distobukkal, mesiolingual, lingual und distolingual) erhoben. Dabei wurde die Blutung auf Sondierung dokumentiert. Nach Anfärben der Zähne mit einer Plaqueanfärbelösung (Hager&Werken, Duisburg, Deutschland) wurde der Plaque-Index erstellt. Dabei wurden die angefärbten Stellen analog der 6-Punkt-Messung notiert. Nach der Befunderhebung wurden die Teilnehmer in Mundhygiene trainiert und erhielten eine professionelle Zahnreinigung. Bei Sondierungstiefen ≥ 4 mm wurden subgingivales Scaling und Wurzelglättung durchgeführt. Dabei wurden Gracey-Küretten und Schallscaler eingesetzt.

Die Befunderhebung, Verlaufskontrolle und Therapie wurde von Studenten durchgeführt und von den Kursbetreuern kontrolliert.

3.3 Mikrobiologie: Probengewinnung und Analyse

Zu jedem der drei Zeitpunkte (Initial, 1.Recall, 2.Recall) wurde für die Bestimmung von SP-D im Plasma und MMP-8 im Serum venöses Blut von den Studienteilnehmern entnommen. Die Blutproben wurden in zwei 7,5 ml Entnahmeröhrchen mit Ethylendiamintetraessigsäure Tripotassium (Sarstedt, Nürnberg, Deutschland) und in zwei 7,5 ml Entnahmeröhrchen mit Gerinnungsaktivatoren (Sarstedt) aufbewahrt. Die Röhrchen wurden bei 3000 U/min für zehn Minuten in einer Zentrifuge (neoLab Migge, Heidelberg, Deutschland) rotiert und der Überstand entfernt. Anschließend wurden die Proben mit verstellbaren Einkanalpipetten (Eppendorf, Hamburg, Deutschland) und entsprechenden Pipettenspitzen (Biozyme Scientific, Hessisch Oldendorf, Deutschland/ Eppendorf) aufgeteilt: die Plasmaproben in drei 2 ml blauen Einfrierröhrchen (Greiner Bio-one, Frickenhausen, Deutschland) und die Serumproben in zwei 2 ml gelben Einfrierröhrchen (Greiner Bio-one). Blutprobenentnahme und Aufbereitung wurden durch eine medizinisch-technische Assistentin der Poliklinik für Zahnerhaltung und Parodontologie der Ludwig-Maximilians-Universität München durchgeführt.

Für den Nachweis der Bakterien Aa, Fn, Pg, Pi, Tf und Td platzierten Studenten nach Messung der Sondierungstiefen sterile Papierspitzen ISO 40 (VDW, München, Deutschland) bis zum Taschenfundus in die jeweils tiefste Tasche eines jeden Quadranten und beließen sie dort für 10 Sekunden. Die Papierspitzen wurden in 1,5 ml Reagiergefäße (Sarstedt) gegeben, die Proben wurden bei -80°C gelagert.

3.3.1 Quantitativer Nachweis von SP-D im Plasma und MMP-8 im Serum mittels ELISA

Der Enzyme-linked immunoabsorbent Assay (ELISA) ist eine hoch sensitive, immunologische Nachweismethode für die Bestimmung von Antikörpern und Antigenen. Die verschiedenen ELISA-Typen basieren auf der Bildung von Antigen-Antikörper-Komplexen, die über einen der beiden Reaktionspartner an dem Boden der Testgefäße fixiert sind. Die Immunkomplexe sind Enzym-gekoppelt. Nach der Zugabe eines chromogenen Substrats löst dessen enzymatische Umsetzung einen Farbumschlag aus. Eine Stopplösung beendet die Reaktion. Aus der Extinktion der Farbreaktion lässt sich anschließend die Konzentration der Antigene bzw. Antikörper anhand einer Standardreihe aus bekannten Konzentrationen photometrisch berechnen.

Abbildung 1: Kompetitiver ELISA und Sandwich-ELISA

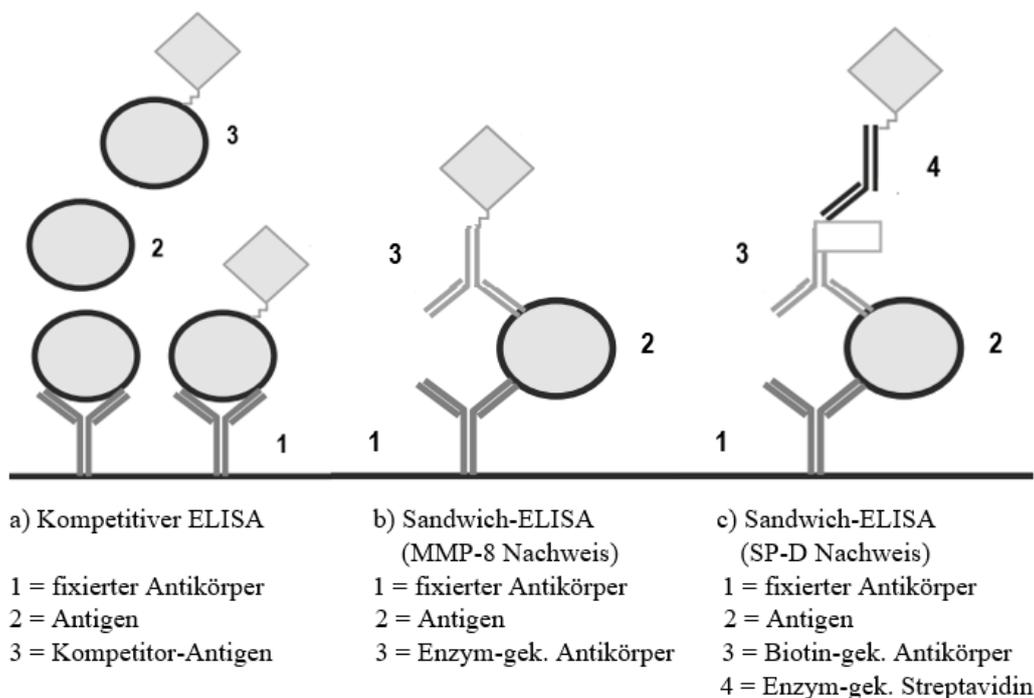


Abb. 1 modifiziert nach [Paulie and Perlmann \(2016\)](#), [Konstantinou \(2017\)](#)

Im Folgenden wird die Bestimmung von Antigenen anhand des kompetitiven ELISA und des Sandwich-ELISA erläutert (siehe Abbildung 1) ([Engvall and Perlmann 1971](#), [Konstantinou 2017](#), [Paulie and Perlmann 2016](#)).

Bei dem kompetitiven ELISA sind spezifische Antikörper an Mikrotitrationsplatten fixiert. Zu diesen werden Proben mit den zu bestimmenden Antigenen gegeben. Dazu werden Enzym-markierte, sogenannte Kompetitor-Antigene hinzugefügt. Diese konkurrieren mit den zu bestimmenden, unmarkierten Antigenen um die Bindung an die fixierten Antikörper. Ungebundene Bestandteile werden durch Waschvorgänge entfernt. Es folgt die

Zugabe des chromogenen Substrats und dessen Umsetzung durch die Enzyme, welche an die Kompetitor-Antigene gebundenen sind. Die Extinktion ist bei dem kompetitiven ELISA umgekehrt proportional zu der Konzentration der nachzuweisenden Antigene. Der kompetitive ELISA eignet sich besonders für die Bestimmung kleinerer Antigene (Töpfer 2018, Paulie and Perlmann 2016).

Mittels des Sandwich-ELISA können Antigene bestimmt werden, die aufgrund ihrer Größe zwei separate antigene Epitope aufweisen. Auch bei dieser Nachweismethode sind spezifische Antikörper an Mikrotitrationsplatten fixiert. Die nachzuweisenden Antigene aus den Proben binden an diese sogenannten Capture-Antikörper. Ungebundene Bestandteile werden nach Inkubation durch Waschvorgänge entfernt. Sekundäre, sogenannte Detection-Antikörper, werden hinzugefügt und binden an die fixierten Immunkomplexe, sodass Antikörper-Antigen-Antikörper-Komplexe entstehen. Die sekundären Antikörper sind dabei direkt Enzym- oder Biotin-gekoppelt. Als Enzyme eignen sich Merrettichperoxidase, alkalische Phosphatase oder β -Galactosidase. Im Falle von Biotin-gekoppelten, sekundären Antikörpern wird in einem zweiten Schritt Enzym-gekoppeltes Streptavidin, mit hoher Affinität zu Biotin, hinzugefügt. Dieses Verfahren dient der Verstärkung der Reaktion. Nach erneuter Inkubation und Waschvorgängen wird das chromogene Substrat hinzugefügt. Dessen Umsetzung durch die Enzyme führt zu dem Farbumschlag. Die Extinktion der Farbreaktion ist bei dem Sandwich-ELISA proportional zu der Konzentration der nachzuweisenden Antigene in den Proben (Engvall and Perlmann 1971, Paulie and Perlmann 2016, Töpfer 2018).

In der vorliegenden Arbeit wurden SP-D im Plasma und MMP-8 im Serum anhand des Sandwich-ELISA quantitativ bestimmt. Bei dem Nachweisverfahren von SP-D waren die sekundären Antikörper an Biotin gekoppelt. Ein Konjugat aus Streptavidin und Merrettichperoxidase (HRP) wurde hinzugefügt und band an den Komplex. Bei dem Nachweisverfahren von MMP-8 band sich ein Konjugat aus Antikörpern und der HRP direkt an den Antikörper-Antigen-Komplex. Anschließend erfolgte bei beiden Verfahren die Zugabe des Tetramethylbenzidin (TMB)-Substrats und dessen Umsetzung durch die Peroxidase. Die Reaktionen wurden jeweils durch die Zugabe einer säurehaltigen Stoplösung beendet. Die Reagenzien und Proben wurden nach Auftauen auf Eis bei Raumtemperatur mithilfe verstellbarer Einkanalpipetten (Eppendorf) und Achtkanalpipetten (BRAND, Wertheim, Deutschland) sowie entsprechenden Pipettenspitzen (Biozyme Scientific/Eppendorf), einem Vortexer (Thermo Fisher Scientific, Waltham, US), einem Plattenschüttler (IKA-Werke, Staufen, Deutschland) und einer Zentrifuge (neoLab Migge) verarbeitet. Die Messungen der Extinktion erfolgten in einem Mikrotitrationsplatten-Photometer (Thermo Fisher Scientific, Waltham, US).

3.3.1.1 MMP-8 Nachweis

Für die Bestimmung der MMP-8 Konzentration in den Serumproben wurde das Testkit dentoELISA aMMP-8 (dentagnostics, Jena, Deutschland) verwendet.

- Ansetzen des Waschpuffers: 100 ml Waschpufferkonzentrat (dentagnostics) mit 900ml destilliertem Wasser
- Verdünnung der Proben: 5 µl Probe mit 245 µl Verdünnungspuffer (dentagnostics), anschließend 25 µl der verdünnten Probe mit 225 µl Verdünnungspuffer (dentagnostics)
- Doppelbelegung der 96-Well-Mikrotitrationsplatte (dentagnostics) mit 100 µl der Kalibratoren 5-1 (dentagnostics), des Probenpuffers (dentagnostics), der Positiv-Kontrolle (dentagnostics) und der Proben (siehe Abbildung 2)
- Abdeckung der Platte mit Abklebefolie (dentagnostics) und Inkubation für 60 Minuten bei 37°C
- Fünfmaliges Waschen mit 200 µl Waschpuffer pro Well und Ausklopfen der Platte
- Plattenbelegung mit 100 µl HRP-Konjugat (dentagnostics) pro Well
- Abdeckung der Platte mit Abklebefolie (dentagnostics) und Inkubation für 30 Minuten bei 37°C
- Fünfmaliges Waschen mit 200 µl Waschpuffer pro Well und Ausklopfen der Platte
- Plattenbelegung mit 100 µl TMB-Substrat (dentagnostics) pro Well
- Abdeckung der Platte mit Abklebefolie und Inkubation für 15 Minuten bei Raumtemperatur auf dem Plattenschüttler (IKA-Werke) bei 500 rpm unter Vermeidung von Lichteinwirkung
- Plattenbelegung mit 100 µl Stopplösung (dentagnostics) pro Well
- Messung im Photometer (Thermo Fisher Scientific) bei 450 nm und 620 nm Referenzwelle; Wiederholung der Messung bei einer Messwertabweichung von > 10% innerhalb einer Proben-Doppelbelegung

3.3.1.2 SP-D Nachweis

Für die Bestimmung der humanen SP-D Konzentration in den Plasmaproben wurde das Testkit Human Surfactant Protein D ELISA (BioVendor, Brno, CR) verwendet.

- Ansetzen des Waschpuffers: 100 ml Waschlösungskonzentrat (BioVendor) mit 900ml destilliertem Wasser
- Ansetzen der Qualitätskontrolle High/Low (BioVendor) sowie des Master Standards (BioVendor) nach Herstellerangaben
- Erstellung der Standard-Verdünnungsreihe ausgehend vom Master Standard durch

Abbildung 2: Plattenbelegung: MMP-8 Nachweis

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	Blank	Cal 2	Sample 1	Sample 5	Sample 9	Sample 13	Sample 17	Sample 21	Sample 25	Sample 29	Sample 33	Sample 37
B	Blank	Cal 2	Sample 1	Sample 5	Sample 9	Sample 13	Sample 17	Sample 21	Sample 25	Sample 29	Sample 33	Sample 37
C	Cal 5	Cal 1	Sample 2	Sample 6	Sample 10	Sample 14	Sample 18	Sample 22	Sample 26	Sample 30	Sample 34	Sample 38
D	Cal 5	Cal 1	Sample 2	Sample 6	Sample 10	Sample 14	Sample 18	Sample 22	Sample 26	Sample 30	Sample 34	Sample 38
E	Cal 4	Dil	Sample 3	Sample 7	Sample 11	Sample 15	Sample 19	Sample 23	Sample 27	Sample 31	Sample 35	Sample 39
F	Cal 4	Dil	Sample 3	Sample 7	Sample 11	Sample 15	Sample 19	Sample 23	Sample 27	Sample 31	Sample 35	Sample 39
G	Cal 3	Ctrl	Sample 4	Sample 8	Sample 12	Sample 16	Sample 20	Sample 24	Sample 28	Sample 32	Sample 36	Sample 40
H	Cal 3	Ctrl	Sample 4	Sample 8	Sample 12	Sample 16	Sample 20	Sample 24	Sample 28	Sample 32	Sample 36	Sample 40

Cal=Kalibrator, Dil=Probenpuffer, Ctrl=Positiv-Kontrolle

- die Zugabe von je 300 µl Verdünnungspuffer (BioVendor) in sechs Schritten
- Verdünnung der Proben: 25 µl einer Probe mit 250 µl Verdünnungspuffer (BioVendor)
 - Doppelbelegung der 96-Well-Mikrotitrationsplatte (BioVendor) mit 100 µl des Master Standards und der Verdünnungsreihe sowie mit 100 µl der Qualitätskontrollen und der Proben (siehe Abbildung 3)
 - Inkubation für 120 Minuten bei 23°-27°C auf dem Plattenschüttler (IKA-Werke) bei 300 rpm
 - Fünfmaliges Waschen mit jeweils 350 µl Waschpuffer pro Well und Ausklopfen der Platten
 - Plattenbelegung mit 100 µl Biotin-gekoppelten Antikörpern (BioVendor) pro Well
 - Inkubation für 60 Minuten bei 23°-27°C auf dem Plattenschüttler (IKA-Werke) bei 300 rpm
 - Fünfmaliges Waschen mit 350 µl Waschpuffer pro Well und Ausklopfen der Platten
 - Plattenbelegung mit 100 µl Streptavidin-HRP-Konjugat (BioVendor) pro Well
 - Inkubation für 60 Minuten bei 23°-27°C auf dem Plattenschüttler (IKA-Werke) bei 300 rpm
 - Fünfmaliges Waschen mit jeweils 350 µl Waschpuffer pro Well und Ausklopfen der Platten
 - Plattenbelegung mit 100 µl TMB-Substrat (BioVendor) pro Well
 - Inkubation für 15 Minuten bei 23°-27°C in Ruhe
 - Plattenbelegung mit 100 µl Stopplösung (BioVendor) pro Well
 - Messung im Photometer (Thermo Fisher Scientific) bei 450 nm und 620 nm Referenzwelle; Wiederholung der Messung bei einer Messwertabweichung von > 10% innerhalb einer Proben-Doppelbelegung

Abbildung 3: Plattenbelegung: SP-D Nachweis

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	Blank	Standard 12,5	High Ctrl	Sample 3	Sample 7	Sample 11	Sample 15	Sample 19	Sample 23	Sample 27	Sample 31	Sample 35
B	Blank	Standard 12,5	High Ctrl	Sample 3	Sample 7	Sample 11	Sample 15	Sample 19	Sample 23	Sample 27	Sample 31	Sample 35
C	Standard 100	Standard 6,25	Low Ctrl	Sample 4	Sample 8	Sample 12	Sample 16	Sample 20	Sample 24	Sample 28	Sample 32	Sample 36
D	Standard 100	Standard 6,25	Low Ctrl	Sample 4	Sample 8	Sample 12	Sample 16	Sample 20	Sample 24	Sample 28	Sample 32	Sample 36
E	Standard 50	Standard 3,13	Sample 1	Sample 5	Sample 9	Sample 13	Sample 17	Sample 21	Sample 25	Sample 29	Sample 33	Sample 37
F	Standard 50	Standard 3,13	Sample 1	Sample 5	Sample 9	Sample 13	Sample 17	Sample 21	Sample 25	Sample 29	Sample 33	Sample 37
G	Standard 25	Standard 1,56	Sample 2	Sample 6	Sample 10	Sample 14	Sample 18	Sample 22	Sample 26	Sample 30	Sample 34	Sample 38
H	Standard 25	Standard 1,56	Sample 2	Sample 6	Sample 10	Sample 14	Sample 18	Sample 22	Sample 26	Sample 30	Sample 34	Sample 38

High/Low Ctrl =Qualitätskontrolle High/Low

3.3.2 Qualitativer Nachweis der Bakterien im Sulkusfluid

3.3.2.1 DNA-Isolation

Als erster Schritt wurde aus den Proben die Bakterien-Desoxyribonukleinsäure (DNA) isoliert. Dafür wurde das MagNA Pure LC DNA Isolation Kit 3 (Roche, Penzberg, Deutschland) und MagNA Pure LC Instruments (Roche) verwendet. Das Verfahren basiert darauf, dass bei einer hohen Konzentration chaotroper Salze Silikate spezifisch DNA binden (Mühlhardt 2009). Die Aufreinigung der DNA begann mit der Inkubation der Proben mit einem Puffer, der chaotrope Salze und Proteinkinase K enthielt. Dadurch wurde die Freisetzung der Nukleinsäure erreicht. Anschließend wurden magnetische Glaspartikel (MGP) zu den freien Nukleinsäuren gegeben. Die Nukleinsäuren banden an deren Silikatoberflächen, sodass die DNA-MGP Verbindungen magnetisch extrahiert werden konnten. Waschvorgänge dienten der Entfernung ungebundener Bestandteile. Bei hoher Temperatur lösten sich schließlich die Nukleinsäuren wieder von den Partikeln, welche von der aufgereinigten DNA entfernt wurden. Das Isolationsverfahren wurde gemäß Herstellerangaben folgendermaßen durchgeführt:

- Verdünnung der Proteinkinase K mit 1,2 ml Lösungspuffer (Roche)
- Zugabe von 195 µl Bakterienlysepuffer (Roche) und 30 µl Proteinkinase K (Roche) zu den Papierspitzen
- Inkubation für 10 Minuten bei 65°C und anschließend für 10 Minuten bei 95°C im Wasserbad (Thermo Fisher Scientific)
- Zentrifugieren der Proben für eine Minute bei 10.000 × g (Beckmann Coulter, Brea, US) und Abkühlung der Proben

- Beladen des MagnA Pure Instruments (Roche) nach Herstellerangaben und Start des vollautomatisch ablaufenden Isolationsverfahren
- Lagerung der gereinigten DNA bei -20°C

3.3.2.2 DNA-Amplifikation

In einem zweiten Schritt wurde die Bakterien-DNA mittels Polymerasekettenreaktion (PCR) vervielfältigt. Dafür wurde das Parident-Multiplex-PCR-System (Amplex, Gars am Inn, Deutschland) verwendet. Durch Erhitzen der DNA wurde die Trennung der Doppelstränge erreicht. Es folgte die Primerhybridisierung, bei der hinzugefügte markierte Oligonukleotidprimer am 3'Ende der entstandenen Einzelstränge banden. Hinzugefügte DNA-Polymerasen ließen von den Primern ausgehend komplementäre Stränge in 5'-3' Richtung entstehen. Die PCR wurde gemäß Herstellerangaben folgendermaßen durchgeführt:

- Ansetzen des Mastermix' für Aa, Pg, Fn auf Eis:
 - o 5 µl PCR-Puffer (Amplex)
 - o 1 µl PAF Primer-Mischung (Amplex)
 - o 1 µl Desoxyribonukleotid-triphosphat-Mischung (Amplex)
 - o 36 µl destilliertes Wasser mit 2 µl hitzestabiler UltraStart Tth DNA Polymerase (Amplex)
- Ansetzen des Mastermix' für Tf, Pi, Td auf Eis:
 - o 5 µl PCR-Puffer (Amplex)
 - o 1 µl PMT Primer-Mischung (Amplex)
 - o 1 µl Desoxyribonukleotid-triphosphat-Mischung (Amplex)
 - o 36 µl destilliertes Wasser mit 2 µl hitzestabiler UltraStart Tth DNA Polymerase (Amplex)
- Vermengen von 45 µl des entsprechenden Mastermix' mit 5 µl DNA-Probe in PCR-Tubes und Transferieren in einen Thermocycler (Bio-Rad Laboratories, Hercules, US); als Negativkontrolle dienten 5 µl destilliertes Wasser
- Ablauf des PCR-Programms im Thermocycler (Bio-Rad Laboratories):
 1. Ein Zyklus initiale Denaturierung (94°C für 5 Minuten)
 2. 40 Zyklen Denaturierung, Primerbindung, Elongation (94°C für 25 Sekunden; 58°C für 25 Sekunden; 72°C für 45 Sekunden)
 3. Ein Zyklus finale Elongation (72°C für 3 Minuten)
- Lagerung der PCR-Produkte bei 4°C

3.3.2.3 DNA-Detektion

In einem dritten Schritt wurden die PCR-Produkte mittels Sandwich-ELISA qualitativ bestimmt. Für das Verfahren wurde das Parident Multiplex-PCR-System (Amplex) verwendet. Die PCR-Amplifikate wurden hitzedenaturiert, mit einem Hybridisierungspuffer versetzt und zu immobilisierten, Bakterien-spezifischen Sonden gegeben. Es folgte die Hybridisierung komplementärer Sequenzen. Das Peroxidase-Konjugat band anschließend an die Markierung der Einzelstränge der PCR-Produkte. Die Umsetzung des hinzugefügten Tetramethylbenzidin-Substrats wurde durch die Zugabe der Stopplösung beendet. Die Bestimmung der DNA wurde gemäß Herstellerangaben folgendermaßen durchgeführt:

- Denaturierung der PCR-Produkte für 10 Minuten bei 95°C im Thermocycler (Bio-Rad Laboratories) und Zugabe von 300 µl des auf Eis gekühlten Hybridisierungspuffers (Amplex)
- Plattenbelegung mit 50 µl der vorbereiteten PCR-Amplifikate pro Well
- Inkubation für 30 Minuten bei 50°C
- Dreimaliges Waschen mit 200 µl der auf 50°C vorgewärmten, stringenten Waschlösung (Amplex) pro Well
- Verdünnung des Waschpuffers (Amplex) im Verhältnis 1:20 mit deionisiertem Wasser
- Einmaliges Waschen mit 200 µl Waschpuffer pro Well
- Verdünnung von 1 µl auf Eis gekühltem Peroxidase-Konjugat (Amplex) mit 100 µl Waschpuffer (Amplex)
- Plattenbelegung mit 100 µl des verdünnten Peroxidase-Konjugats pro Well
- Inkubation für 30 Minuten bei Raumtemperatur
- Dreimaliges Waschen mit je 200 µl Waschpuffer (Amplex) pro Well
- Plattenbelegung mit 100 µl TMB-Substrat (Amplex) pro Well
- Inkubation für 30 Minuten bei 37°C unter Vermeidung von Lichteinwirkung
- Plattenbelegung mit 100 µl Stopplösung (Amplex) pro Well
- Messung im Photometer (Thermo Fisher Scientific) bei 450 nm und 620 nm Referenzwelle

3.4 Statistische Auswertung

3.4.1 Definition der Gruppen und Variablen

Zunächst gab es eine Analyse der Veränderungen in der Gesamtpopulation. Es folgte die Analyse innerhalb der Subgruppen und ggf. der Vergleich zwischen den Subgruppen.

Basierend auf den initialen Angaben der Teilnehmer wurde die Gruppe Geschlecht (Frauen / Männer) sowie die Gruppe Raucherstatus (Raucher / Nichtraucher) gebildet. Der Raucherstatus bezog sich auf die aktuellen Gewohnheiten. Ausmaß und früherer Tabakkonsum wurden nicht erhoben. Zudem wurden die Studienteilnehmer anhand der Abnahme der durchschnittlichen Sondierungstiefe um mehr als einen Millimeter von Initial zum 2.Recall aufgeteilt (ST-Abnahme $> 1\text{mm}$ / Keine ST-Abnahme $> 1\text{mm}$).

Die metrischen Variablen (Sondierungstiefe, Blutung auf Sondierung, Plaque-Index, Konzentration von Surfactant Protein-D im Plasma, Konzentration der Matrixmetalloproteinase-8 im Serum) bestanden zum initialen Zeitpunkt und zum 2.Recall. Bei Teilnehmern mit Werten zu beiden Zeitpunkten wurde zusätzlich eine Delta-Variable aus den Werten des 2.Recalls minus den initialen Wert berechnet, welche die Veränderung der Werte (Abnahme bzw. Zunahme) beschreibt.

Zu den nominalen Variablen zählten die oben genannten Gruppen sowie der Bakterienachweis (positiv / negativ) zum initialen Zeitpunkt und zum 2.Recall. Bei Teilnehmern mit Werten zu beiden Zeitpunkten wurde zusätzlich eine Delta-Variable mit vier Subgruppen gebildet: Verbesserung (Initial positiver Nachweis - 2.Recall negativer Nachweis), Verschlechterung (Initial negativer Nachweis - 2.Recall positiver Nachweis), Infektion zu beiden Zeitpunkten (Initial positiver Nachweis - 2.Recall positiver Nachweis), keine Infektion (Initial negativer Nachweis - 2.Recall negativer Nachweis).

3.4.2 Test auf Normalverteilung

Die Normalverteilung der metrischen Variablen wurde mittels des Kolmogorov-Smirnov-Tests zu den jeweiligen Zeitpunkten untersucht. Normalverteilung wurde bei $p > 0,05$ angenommen. Bei Normalverteilung wurden durchschnittliche Werte als Mittelwerte mit Standardabweichung angegeben. Lag keine Normalverteilung vor, wurden die Werte durch den Median mit Interquartilsabstand angegeben.

3.4.3 Test auf signifikante Veränderung von Initial zum 2.Recall

Bei den metrischen Variablen wurde in der Gesamtpopulation und den Subgruppen untersucht, ob die Therapie zu einer statistisch signifikanten Veränderung ($p < 0,05$) von Initial zum 2.Recall führte. Die Auswertung bezog nur Teilnehmer mit Werten zu beiden Zeitpunkten ein. Lag keine Normalverteilung vor wurde der Wilcoxon-Test für verbundene Stichproben verwendet. Bei bestehender Normalverteilung wurde der T-Test für abhängige Stichproben verwendet.

Anhand des χ^2 -Tests wurde der relative Anteil von Patienten mit positivem bzw. negativem Bakteriennachweis zu den beiden Zeitpunkten miteinander verglichen. Bei $p < 0,05$ war der Anteil mit Infektion zwischen den beiden Untersuchungszeitpunkten signifikant gesunken bzw. gestiegen oder aber der Anteil mit gleichem Nachweis zu beiden Zeitpunkten war signifikant größer.

3.4.4 Test auf signifikanten Unterschied zwischen den Subgruppen

Bei den metrischen Variablen wurde untersucht, ob sich die jeweiligen Subgruppen signifikant voneinander unterschieden ($p < 0,05$). Dafür wurden die initialen Werte bzw. die Delta-Variable zwischen den Frauen und Männern sowie zwischen den Nichtrauchern und Rauchern verglichen. Weiterhin wurden die 2.Recall-Werte der Subgruppe ST-Abnahme $> 1\text{mm}$ mit den initialen Werten der Gesamtpopulation auf signifikanten Unterschied untersucht. Lag keine Normalverteilung vor, wurde dafür der Man-Withney-U-Test für unabhängigen Stichproben verwendet. Bei Normalverteilung wurde der T-Test für unabhängige Stichproben verwendet.

Anhand des χ^2 -Tests wurde untersucht, ob eine signifikant unterschiedliche Verteilung von Patienten mit positivem bzw. negativem Bakteriennachweis zwischen den Subgruppen Frauen und Männer bzw. Nichtraucher und Raucher vorlag. Eine Homogenität, im Sinne einer gleichen Verteilung zwischen den Subgruppen, wurde bei $p < 0,05$ abgelehnt.

3.4.5 Zusammenhang zwischen den Variablen

Anhand des Spearman-Rangkorrelationskoeffizienten ρ wurde untersucht, ob Korrelationen zwischen den metrischen Variablen bestanden. Die Korrelation wurde bei $p < 0,05$ angenommen. Bei positivem Rangkorrelationskoeffizient bestand eine gleichsinnige Korrelation, bei negativem Koeffizienten eine gegenläufige Korrelation.

Anhand des Man-Withney-U-Test für unabhängigen Stichproben wurde untersucht, ob

sich die Werte der metrischen Variablen über die Kategorie Bakteriennachweis zum initialen Zeitpunkt signifikant voneinander unterschieden ($p < 0,05$). Anhand des Kruskal-Wallis-Test für unabhängigen Stichproben wurde untersucht, ob sich die Werte der metrischen Variablen über die Delta-Variable Bakteriennachweis voneinander unterschieden. Bei $p < 0,05$ wurde ein signifikanter Unterschied angenommen.

Ergebnisse

4.1 Studienpopulation

Die Studienpopulation bestand zu Beginn des Beobachtungszeitraums aus 149 Patienten. Das durchschnittliche Alter betrug zu diesem Zeitpunkt 51,97 Jahre (SD \pm 9,55), die Altersspanne 19-65 Jahre. Von den 149 Teilnehmern waren 46,3% weiblich und 53,7% männlich. 37,8% betrug der Anteil der Raucher, 62,2% der Anteil der Nichtraucher, von einem Teilnehmer fehlten Informationen über Rauchgewohnheiten. Zum 2.Recall erschienen von den 149 noch 125 Teilnehmer. Der Anteil der Frauen betrug 44,8% und der Männer 55,2%. Der Anteil der Raucher betrug 35,5% und der Nichtraucher 64,5%.

Das durchschnittliche Alter der 24 Drop-Out Teilnehmer, die am 2.Recall nicht mehr teilnahmen, betrug 47,58 Jahre (SD \pm 11,73). Die Gruppe teilte sich in 54,2% weibliche und 45,8% männliche Teilnehmer auf sowie in 50% Raucher bzw. Nichtraucher.

Es fehlten teilweise einzelne Werte bei den verschiedenen Variablen zum initialen Zeitpunkt und / oder zum 2.Recall. (siehe dazu Tabelle 1). Die demografischen Daten der 149 Teilnehmer zum initialen Zeitpunkt und zum 2.Recall werden in der Tabelle 2 dargestellt.

Tabelle 1: Anzahl der Teilnehmer mit gültigen Werten (Anzahl der fehlenden einzelnen Werte + Anzahl Drop-Out zum 2.Recall)

	Anzahl der Teilnehmer mit gültigen und fehlenden Informationen								
	Geschlecht	Raucherstatus	ST	BOP	Plaque	Bakterien	Pi	SP-D	MMP-8
Initial	149	148 (1)	148 (1)	148 (1)	148 (1)	149 (0)	147 (2)	145 (4)	142 (7)
Initial & 2.Recall	125 (0+24)	124 (1+24)	116 (9+24)	115 (10+24)	114 (11+24)	125 (0+24)	120 (5+24)	117 (8+24)	114 (11+24)
ST-Veränderung	116 (0+24)	115 (1+24)	116 (9+24)	115 (10+24)	113 (12+24)	116 (9+24)	111 (14+24)	108 (17+24)	108 (17+24)

Demografische Charakteristika		
	Initial	2.Recall
Alter	51,97 ± 9,55	52,81 ± 8,82
Gesamt	149 (100%)	125 (100%)
Frauen	69 (46,3%)	56 (44,8%)
Männer	80 (53,7%)	69 (55,2%)
Raucher	56 (37,8%)	44 (35,5%)
Nichtraucher	92 (62,2%)	80 (64,5%)
Keine ST-Abnahme > 1mm		99 (85,3%)
ST-Abnahme > 1mm		17 (14,7%)

Tabelle 2: Demografische Charakteristika der Teilnehmer Initial und zum 2.Recall (Daten in Anzahl (%) oder als Mittelwerte ± SD)

4.2 Klinische Parameter

4.2.1 Sondierungstiefe

Die Sondierungstiefe (Median [IQA]) sank signifikant ($p=,000$) in der Gesamtpopulation (-0,31 mm [,69]) und in den einzelnen Subgruppen.

Der Unterschied zwischen den initialen Werten der Frauen (2,80 mm [,89]) zu denen der Männer (2,92 mm [,89]) war nicht signifikant ($p>,05$). Auch die Abnahme der Werte vom Beginn zum 2.Recall unterschied sich zwischen den weiblichen (-,28 mm [,54]) und den männlichen Studienteilnehmern (-,42 mm [,75]) nicht signifikant ($p>,05$). Der Unterschied zwischen den Werten der Nichtraucher (2,73 mm [,74]) zu denen der Raucher (3,30 mm [,86]) war signifikant ($p=,000$). Die Abnahme der Werte von Initial zum 2.Recall unterschied sich zwischen Nichtrauchern (-,26 mm [,67]) und Rauchern (-,36 mm [,71]) hingegen nicht signifikant ($p>,05$). Die Ergebnisse sind in Tabelle 3 und Abbildung 4 dargestellt.

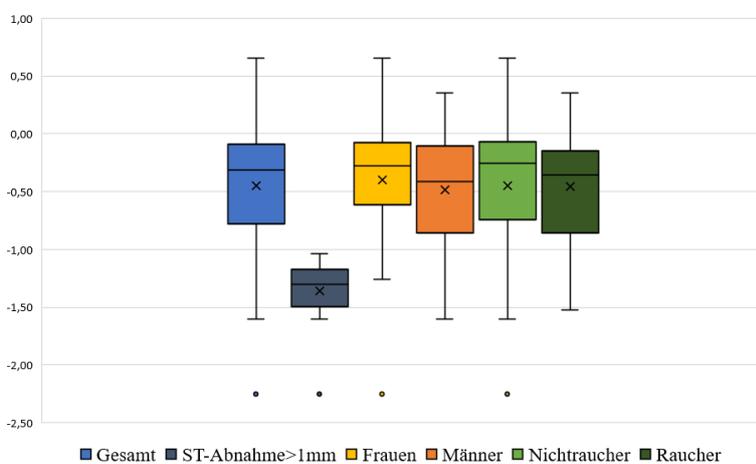


Abbildung 4: Veränderung der Sondierungstiefe (mm) von Initial zum 2.Recall in der Gesamtpopulation und in den Subgruppen

Tabelle 3: Median [IQA] der Sondierungstiefe (mm). Wilcoxon-Test: signifikante Veränderung der Sondierungstiefe von Initial zum 2.Recall

	Sondierungstiefe (mm)			
	Initial	2.Recall	Delta	p-Wert
Gesamt	2,90 (,88)	2,47 (,65)	-,31 (,69)	,000
Frauen	2,80 (,89)	2,4 (,58)	-,28 (,54)	,000
Männer	2,92 (,89)	2,58 (,59)	-,42 (,75)	,000
Nichtraucher	2,73 (,74)	2,34 (,55)	-,26 (,67)	,000
Raucher	3,30 (,86)	2,75 (,85)	-,36 (,71)	,000
Keine ST-Abnahme > 1mm	2,74 (,73)	2,48 (,66)	-,24 (,47)	,000
ST-Abnahme > 1mm	3,83 (,74)	2,35 (,52)	-1,3 (,32)	,000

★ Die Initial- und 2.Recall-Daten berechnen sich aus den Werten, die zum jeweiligen Zeitpunkt vorhanden waren. Die Delta berechnen sich aus den Daten, die zu beiden Zeitpunkten vorhanden waren.

4.2.2 Blutung auf Sondierung

Die Blutung auf Sondierung (Median [IQA]) sank signifikant ($p=,000$) in der Gesamtpopulation ($-0,09$ [,27]) und in den einzelnen Subgruppen.

Der Unterschied zwischen den initialen Werten der Frauen ($0,32$ [,28]) zu denen der Männer ($0,33$ [,25]) war nicht signifikant ($p>,05$). Auch die Abnahme der Werte vom Beginn zum 2.Recall unterschied sich zwischen den weiblichen ($-0,1$ [,29]) und den männlichen Studienteilnehmern ($-0,09$ [,26]) nicht signifikant ($p>,05$). Der Unterschied zwischen den initialen Werten der Nichtraucher ($0,36$ [,27]) zu denen der Raucher ($0,29$ [,24]) war nicht signifikant ($p>,05$). Auch die Abnahme von Initial zum 2.Recall unterschied sich zwischen den Nichtrauchern ($-0,09$ [,26]) und den Rauchern ($-0,09$ [,24]) nicht signifikant ($p>,05$). Der Unterschied der initialen Werte aller Studienteilnehmer ($0,23$ [,27]) zu den 2.Recall-Werten der Subgruppe ST-Abnahme > 1mm ($0,15$ [,19]) war hingegen signifikant ($p=,000$). Die Ergebnisse sind in Tabelle 4 und Abbildung 5 dargestellt.

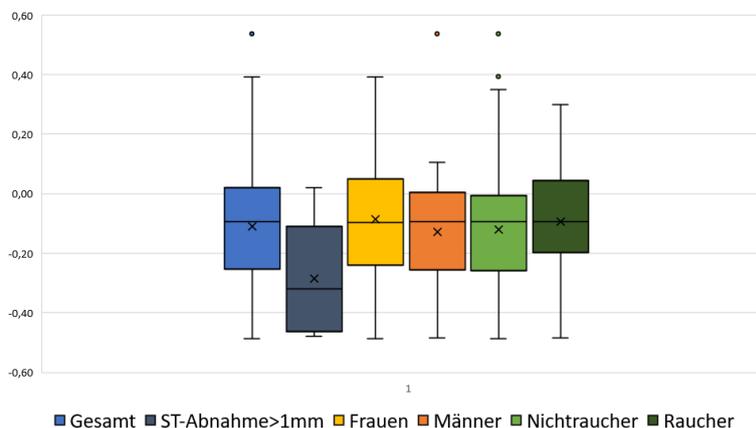


Abbildung 5: Veränderung der Blutung auf Sondierung von Initial zum 2.Recall in der Gesamtpopulation und in den Subgruppen

Tabelle 4: Median [IQA] der Blutung auf Sondierung. Wilcoxon-Test: signifikante Veränderung der Blutung auf Sondierung von Initial zum 2.Recall

Blutung auf Sondierung				
	Initial	2.Recall	Delta	p-Wert
Gesamt	0,32 (,27)	0,23 (,19)	-0,09 (,27)	,000
Frauen	0,32 (,28)	0,25 (,20)	-0,1 (,29)	,009
Männer	0,33 (,25)	0,22 (,18)	-0,09 (,26)	,000
Nichtraucher	0,36 (,27)	0,23 (,2)	-0,09 (,26)	,000
Raucher	0,29 (,24)	0,22 (,19)	-0,09 (,24)	,010
Keine ST-Abnahme > 1mm	0,31 (,23)	0,23 (,18)	-0,08 (,23)	,000
ST-Abnahme > 1mm	0,45 (,40)	0,15 (,19)	-0,32 (,35)	,000

★ Die Initial- und 2.Recall-Daten berechnen sich aus den Werten, die zum jeweiligen Zeitpunkt vorhanden waren. Die Delta berechnen sich aus den Daten, die zu beiden Zeitpunkten vorhanden waren.

4.2.3 Plaque-Index

Der Plaque-Index (Mittelwert \pm SD) sank signifikant ($p=,001$) in der Gesamtpopulation ($-0,08 \pm ,24$). In den einzelnen Subgruppen sank der Plaque-Index nur bei den Männern ($p=,001$) und bei den Nichtrauchern ($p=,004$) signifikant.

Der Unterschied zwischen den initialen Werten der Frauen ($0,45 \pm ,21$) zu denen der Männer ($0,57 \pm ,21$) war signifikant ($p=,001$). Die Abnahme der Werte von Initial zum 2.Recall unterschied sich zwischen den weiblichen ($-0,03 \pm ,21$) und den männlichen Studienteilnehmern ($-0,11 \pm ,25$) hingegen nicht signifikant ($p>,05$). Der Unterschied zwischen den initialen Werten der Nichtraucher ($0,51 \pm ,21$) zu denen der Raucher ($0,52 \pm 0,23$) war nicht signifikant ($p>,05$). Auch die Abnahme der Werte vom Beginn zum 2.Recall unterschied sich zwischen den Nichtrauchern ($-0,08 \pm ,23$) und den Rauchern ($-0,07 \pm ,25$) nicht signifikant ($p>,05$). Gleiches galt für den Unterschied der initialen Werte der Gesamtpopulation ($0,51 \pm ,22$) zu den 2.Recall-Werten der Subgruppe ST-Abnahme > 1mm ($0,46 \pm ,20$) mit $p>,05$. Die Ergebnisse sind in Tabelle 5 und Abbildung 6 dargestellt.

Tabelle 5: Mittelwert \pm SD des Plaque-Index. T-Test für abhängige Stichproben: signifikante Veränderung des Plaque-Index von Initial zum 2.Recall

	Plaque-Index			
	Initial	2.Recall	Delta	p-Wert
Gesamt	0,51 \pm ,22	0,46 \pm ,20	-0,08 \pm ,24	,001
Frauen	0,45 \pm ,21	0,45 \pm ,20	-0,03 \pm ,21	>,05
Männer	0,57 \pm ,21	0,47 \pm ,20	-0,11 \pm ,25	,001
Nichtraucher	0,51 \pm ,21	0,43 \pm ,20	-0,08 \pm ,23	,004
Raucher	0,52 \pm 0,23	0,51 \pm ,20	-0,07 \pm ,25	>,05
Keine ST-Abnahme > 1mm	0,53 \pm ,20	0,45 \pm ,20	-0,08 \pm ,23	,002
ST-Abnahme > 1mm	0,56 \pm ,25	0,46 \pm ,20	-0,10 \pm ,29	>,05

★ Die Initial- und 2.Recall-Daten berechnen sich aus den Werten, die zum jeweiligen Zeitpunkt vorhanden waren. Die Delta berechnen sich aus den Daten, die zu beiden Zeitpunkten vorhanden waren.

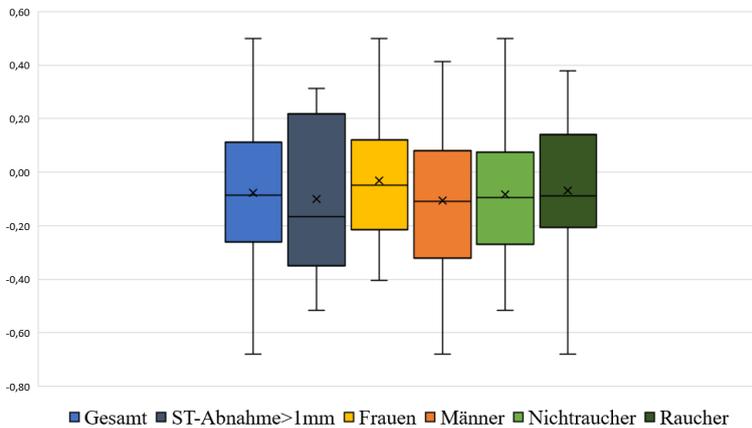


Abbildung 6: Veränderung des Plaque-Index von Initial zum 2.Recall in der Gesamtpopulation und in den Subgruppen

4.3 Bakterien

Bei den Bakterienarten Aa, Pg und Td nahm der Anteil der Infizierten zum 2.Recall geringfügig ab, da der Anteil der anfänglich Infizierten mit negativem Nachweis zum 2.Recall (Verbesserung) etwas größer war als der Anteil der anfänglich Nichtinfizierten mit positivem Nachweis zum 2.Recall (Verschlechterung) (grün zu orange in Abbildung 7). Im Gegensatz dazu stieg bei Fn, Pi und Td der Anteil der Infizierten von Initial zum 2.Recall an. Eine Verschlechterung war hier häufiger als eine Verbesserung zum 2.Recall.

Bei reiner Betrachtung der anfänglich Infizierten, zeigte sich, dass nur bei Aa eine Verbesserung etwas häufiger war als ein erneut positiver Nachweis zum 2.Recall (grün zu hellblau in Abbildung 7). In Bezug auf alle anderen Bakterienarten blieben Infizierte hingegen häufiger infiziert. Bei reiner Betrachtung der anfänglich Nichtinfizierten, zeigte sich, dass außer bei Aa eine Verschlechterung zum 2.Recall häufiger war als ein erneut negativer Nachweis (orange zu dunkelblau in Abbildung 7). Insgesamt war der relative Anteil

von Patienten mit entweder negativem oder positivem Nachweis zu beiden Zeitpunkten bei allen Bakterienarten signifikant größer, als der Anteil von Patienten mit unterschiedlichem Nachweis zu den beiden Zeitpunkten (siehe Tabelle 6 und hellblau/dunkelblau zu orange/grün in Abbildung 7). Einzelheiten werden unter der jeweiligen Bakterienart beschrieben (siehe Tabellen 7; 8; 9; 10; 11; 12).

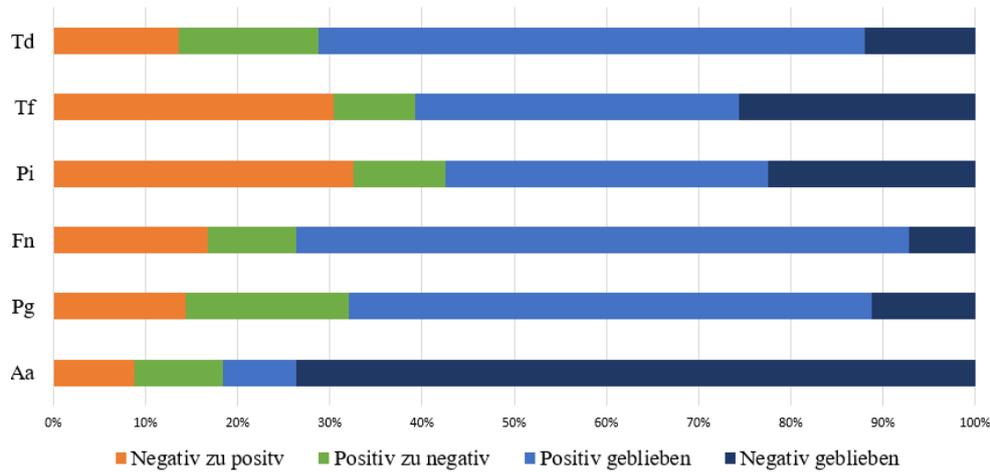


Abbildung 7: Veränderung des Bakteriennachweises von Initial zum 2. Recall

Tabelle 6: Anzahl der Teilnehmer mit positivem bzw. negativem Bakteriennachweis Initial und zum 2. Recall (n/% Gesamtprozentsätze)

	Bakteriennachweis		
	Initial	2. Recall	
		-	+
Aa	-	92 (73,6%)	11 (8,8%)
	+	12 (9,6%)	10 (8%)
Pg	-	14 (11,2%)	18 (14,4%)
	+	22 (17,6%)	71 (56,8%)
Fn	-	9 (7,2%)	21 (16,8%)
	+	12 (9,6%)	83 (66,4%)
Pi	-	27 (22,5%)	39 (32,5%)
	+	12 (10%)	42 (35%)
Tf	-	32 (25,6%)	38 (30,4%)
	+	11 (8,8%)	44 (35,2%)
Td	-	15 (12%)	17 (13,6%)
	+	19 (15,2%)	74 (59,2%)

4.3.1 *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*

Aa wurde bei 17,6% der Patienten zu Beginn nachgewiesen, zum 2.Recall fiel der Anteil der positiv Getesteten auf 16,8%: Eine Verbesserung (9,6%) war etwas häufiger als eine Verschlechterung zum 2.Recall (8,8%) (siehe Abbildung 8 und Tabelle 6).

Von den 22 zu Beginn infizierten Studienteilnehmern war Aa bei 54,5% zum 2.Recall nicht mehr nachweisbar, 46,4% blieben hingegen auch zum 2.Recall infiziert. Von den anfänglich 103 Nichtinfizierten blieb bei 89,3% der Nachweis auch zum 2.Recall negativ (siehe Tabelle 7). Der relative Anteil von Patienten mit entweder negativem oder positivem Nachweis zu beiden Zeitpunkten war signifikant größer ($p=,000$) als der Anteil von Patienten mit unterschiedlichem Nachweis zu den beiden Zeitpunkten. Es bestand keine signifikant unterschiedliche Verteilung von Patienten mit und ohne Infektion in den Gruppen Geschlecht ($p>,05$) und Raucherstatus ($p>,05$).

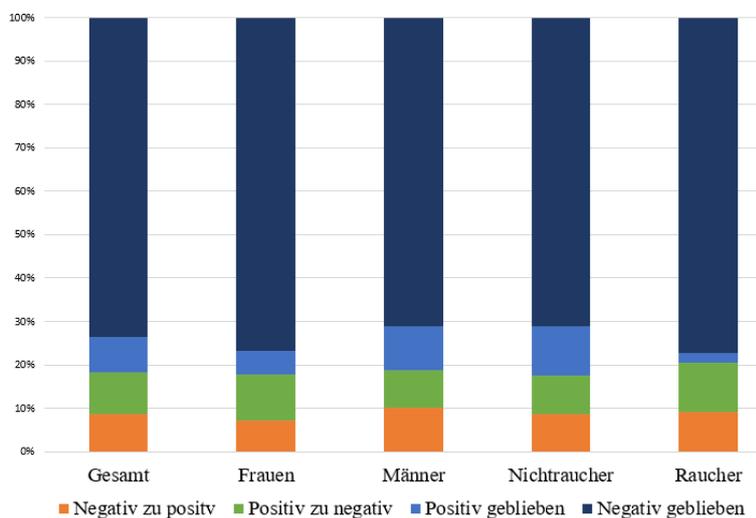


Abbildung 8: Veränderung des *A.actinomycetemcomitans* Nachweises von Initial zum 2.Recall

Tabelle 7: Anzahl der Teilnehmer mit positivem bzw. negativem Bakteriennachweis Initial und zum 2.Recall (n/% Zeilenprozentätze)

Aggregatibacter actinomycetemcomitans			
	Initial	2.Recall	
		-	+
Gesamt	-	92 (89,3%)	11 (10,7%)
	+	12 (54,5%)	10 (45,5%)
Frauen	-	43 (91,5%)	4 (8,5%)
	+	6 (66,7%)	3 (33,3%)
Männer	-	49 (87,5%)	7 (12,5%)
	+	6 (46,2%)	7 (53,8%)
Nichtraucher	-	57 (89,1%)	7 (10,9%)
	+	7 (43,8%)	9 (56,3%)
Raucher	-	34 (89,5%)	4 (10,5%)
	+	5 (83,3%)	1 (16,7%)

4.3.2 Porphyromomas gingivalis

Pg wurde bei 74,4% der Patienten zu Beginn nachgewiesen, zum 2.Recall fiel der Anteil der positiv Getesteten auf 71,2%. Eine Verbesserung (17,6%) war etwas häufiger als eine Verschlechterung zum 2.Recall (14,4%) (siehe Abbildung 9 und Tabelle 6).

Von den 93 zu Beginn Infizierten, war Pg bei 23,7% zum 2.Recall nicht mehr nachweisbar, 76,3% blieben auch zum 2.Recall infiziert. Von den 32 anfänglich Nichtinfizierten blieb bei 43,8% der Nachweis zum 2.Recall negativ (siehe Tabelle 8). Der relative Anteil von Patienten mit entweder negativem oder positivem Nachweis zu beiden Zeitpunkten war signifikant größer ($p=,030$) als der Anteil von Patienten mit unterschiedlichem Nachweis zu den beiden Zeitpunkten. Es bestand keine signifikant unterschiedliche Verteilung von Patienten mit und ohne Infektion zwischen Frauen und Männern ($p>,05$). Signifikant unterschiedlich war die Verteilung abhängig vom Tabakkonsum: Zu Beginn war der Nachweis bei den Nichtrauchern häufiger positiv als bei den Rauchern ($p=,014$) (hellblau/grün in Abbildung 9).

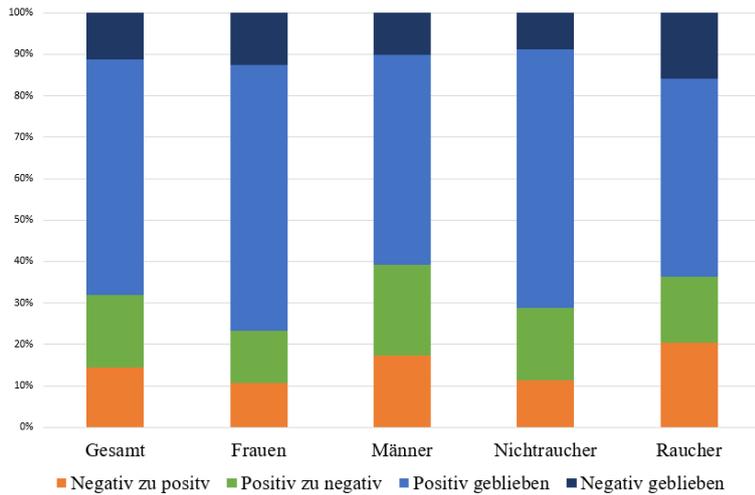


Abbildung 9: Veränderung des P. gingivalis Nachweises von Initial zum 2. Recall

Tabelle 8: Anzahl der Teilnehmer mit positivem bzw. negativem Bakteriennachweis Initial und zum 2. Recall (n/% Zeilenprozentsätze)

Porphyromonas gingivalis			
	Initial	2. Recall	
		-	+
Gesamt	-	14 (43,8%)	18 (56,2%)
	+	22 (23,7%)	71 (76,3%)
Frauen	-	7 (53,8%)	6 (46,2%)
	+	7 (16,3%)	36 (83,7%)
Männer	-	7 (36,8%)	12 (63,2%)
	+	15 (30%)	35 (70%)
Nichtraucher	-	7 (43,8%)	9 (56,3%)
	+	14 (21,9%)	50 (78,1%)
Raucher	-	7 (43,8%)	9 (56,3%)
	+	7 (25%)	21 (75%)

4.3.3 Fusobacterium nucleatum

Fn wurde bei 76% der Patienten zu Beginn nachgewiesen, zum 2. Recall stieg die Anzahl der positiv Getesteten auf 83,2%. Eine Verschlechterung (16,8%) war häufiger als eine Verbesserung (9,6%) (siehe Abbildung 10 und Tabelle 6).

Von den 95 zu Beginn Infizierten, war bei 12,6% Fn zum 2. Recall nicht mehr nachweisbar, 87,4% blieben hingegen auch zum 2. Recall infiziert. Von den 30 anfänglich Nichtinfizierten, blieb der Nachweis bei 30% auch zum 2. Recall negativ (siehe Tabelle 9). Der relative Anteil von Patienten mit entweder negativem oder positivem Nachweis zu beiden Zeitpunkten war signifikant größer ($p=,027$) als der Anteil von Patienten mit unterschied-

lichem Nachweis zu den beiden Zeitpunkten. Es bestand keine signifikant unterschiedliche Verteilung von Patienten mit und ohne Infektion in den Gruppen Geschlecht ($p > ,05$) und Raucherstatus ($p > ,05$).

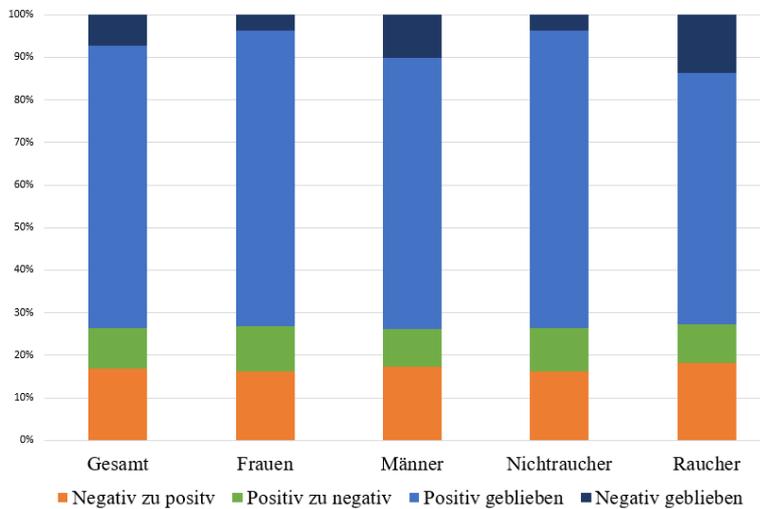


Abbildung 10: Veränderung des F.nucleatum Nachweises von Initial zum 2.Recall

Tabelle 9: Anzahl der Teilnehmer mit positivem bzw. negativem Bakteriennachweis Initial und zum 2.Recall (n/% Zeilenprozentsätze)

Fusobacterium nucleatum			
	Initial	2.Recall	
		-	+
Gesamt	-	9 (30%)	21 (70%)
	+	12 (12,6%)	83 (87,4%)
Frauen	-	2 (18,2%)	9 (81,8%)
	+	6 (13,3%)	39 (86,7%)
Männer	-	7 (36,8%)	12 (63,2%)
	+	6 (12%)	44 (88%)
Nichtraucher	-	3 (18,8%)	13 (81,3%)
	+	8 (12,5%)	56 (87,5%)
Raucher	-	6 (42,9%)	8 (57,1%)
	+	4 (13,3%)	26 (86,7%)

4.3.4 *Prevotella intermedias*

Pi wurde bei 45% der Patienten zu Beginn nachgewiesen, zum 2.Recall stieg die Anzahl der positiv Getesteten auf 67,5%. Eine Verschlechterung (32,5%) war häufiger als eine Verbesserung (10%) (siehe Abbildung 11 und Tabelle 6).

Von den 54 zu Beginn Infizierten, war bei 22,2% Pi zum 2.Recall nicht mehr nachweisbar, 77,8% blieben auch zum 2.Recall infiziert. Von den anfänglich 66 Nichtinfizierten blieb der Nachweis bei 40,9% auch zum 2.Recall negativ (siehe Tabelle 10). Der relative Anteil von Patienten mit entweder negativem oder positivem Nachweis zu beiden Zeitpunkten war signifikant größer ($p=,030$) als der Anteil von Patienten mit unterschiedlichem Nachweis zu den beiden Zeitpunkten. Es bestand keine signifikant unterschiedliche Verteilung von Patienten mit und ohne Infektion in den Gruppen Geschlecht ($p>,05$) und Raucherstatus ($p>,05$).

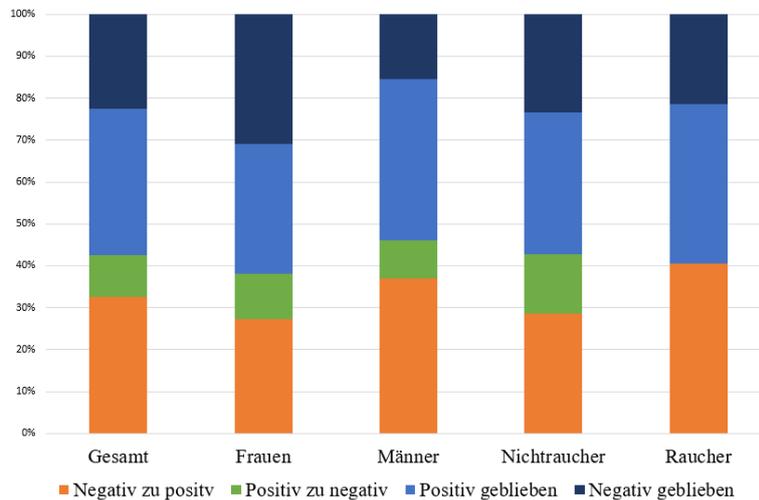


Abbildung 11: Veränderung des *P.intermedias* Nachweises von Initial zum 2.Recall

Tabelle 10: Anzahl der Teilnehmer mit positivem bzw. negativem Bakteriennachweis Initial und zum 2.Recall (n/% Zeilenprozentsätze)

Prevotella intermedia			
	Initial	2.Recall	
		-	+
Gesamt	-	27 (40,9%)	39 (59,1%)
	+	12 (22,2%)	42 (77,8%)
Frauen	-	17 (53,1%)	15 (46,9%)
	+	6 (26,1%)	17 (73,9%)
Männer	-	10 (29,4%)	24 (70,6%)
	+	6 (19,4%)	25 (80,6%)
Nichtraucher	-	18 (45%)	22 (55%)
	+	11 (29,7%)	26 (70,3%)
Raucher	-	9 (34,6%)	17 (65,4%)
	+	0 (0%)	16 (100%)

4.3.5 Tannerella forsythia

Tf wurde bei 44% der Patienten zu Beginn nachgewiesen, zum 2.Recall stieg die Anzahl der positiv Getesteten auf 65,6%. Eine Verschlechterung (30,4%) war häufiger als eine Verbesserung (8,8%) zum 2.Recall (siehe Abbildung 12 und Tabelle 6).

Von den 55 zu Beginn Infizierten, war bei 20% Tf zum 2.Recall nicht mehr nachweisbar, 80% blieben auch zum 2.Recall infiziert. Von den 80 anfänglich Nichtinfizierten blieb der Nachweis bei 45,7% auch zum 2.Recall negativ (siehe Tabelle 11). Der relative Anteil von Patienten mit entweder negativem oder positivem Nachweis zu beiden Zeitpunkten war signifikant größer ($p=,003$) als der Anteil von Patienten mit unterschiedlichem Nachweis zu den beiden Zeitpunkten. Es bestand keine signifikant unterschiedliche Verteilung von Patienten mit und ohne Infektion in den Gruppen Geschlecht ($p>,05$) und Raucherstatus ($p>,05$).

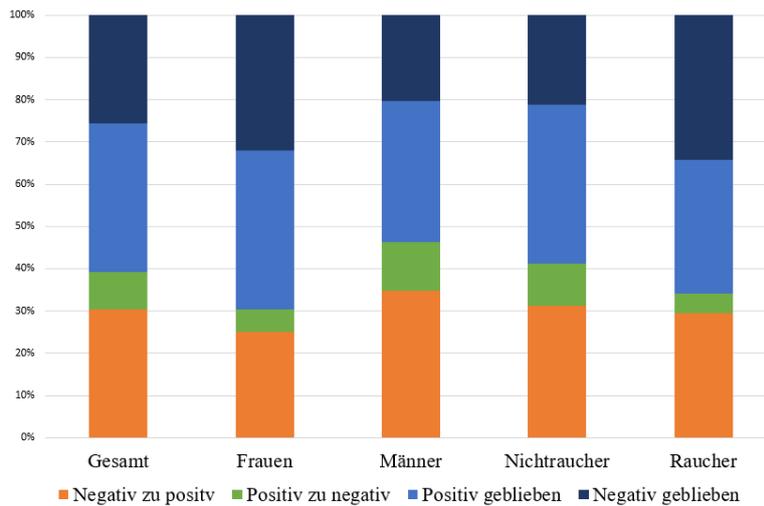


Abbildung 12: Veränderung des T.forsythia Nachweises von Initial zum 2.Recall

Tabelle 11: Anzahl der Teilnehmer mit positivem bzw. negativem Bakteriennachweis Initial und zum 2.Recall (n/% Zeilenprozentätze)

Tannerella forsythia			
	Initial	2.Recall	
		-	+
Gesamt	-	32 (45,7%)	38 (54,3%)
	+	11 (20%)	44 (80%)
Frauen	-	18 (56,3%)	14 (43,8%)
	+	3 (12,5%)	21 (87,5%)
Männer	-	14 (36,8%)	24 (63,2%)
	+	8 (25,8%)	23 (74,2%)
Nichtraucher	-	17 (40,5%)	25 (59,5%)
	+	8 (21,1%)	30 (78,9%)
Raucher	-	15 (53,6%)	13 (46,4%)
	+	2 (12,5%)	14 (87,5%)

4.3.6 Treponema denticola

Td wurde bei 74,4% der Patienten zu Beginn nachgewiesen, zum 2.Recall fiel die Anzahl der positiv Getesteten auf 72,8%. Eine Verbesserung (15,2%) war häufiger als eine Verschlechterung (13,6%) zum 2.Recall (siehe Abbildung 13 und Tabelle 6).

Von den 93 zu Beginn Infizierten, war bei 20,4% Td zum 2.Recall nicht mehr nachweisbar, 79,6% waren auch zum 2.Recall infiziert. Von den 32 anfänglich Nichtinfizierten, blieb der Nachweis bei 46,9% auch zum 2.Recall negativ (siehe Tabelle 12). Der relative Anteil von Patienten mit entweder negativem oder positivem Nachweis zu beiden Zeitpunkten war signifikant größer ($p=,004$) als der Anteil von Patienten mit unterschiedlichem Nachweis

zu den beiden Zeitpunkten. Es bestand keine signifikant unterschiedliche Verteilung von Patienten mit und ohne Infektion in den Gruppen Geschlecht ($p>,05$) und Raucherstatus ($p>,05$).

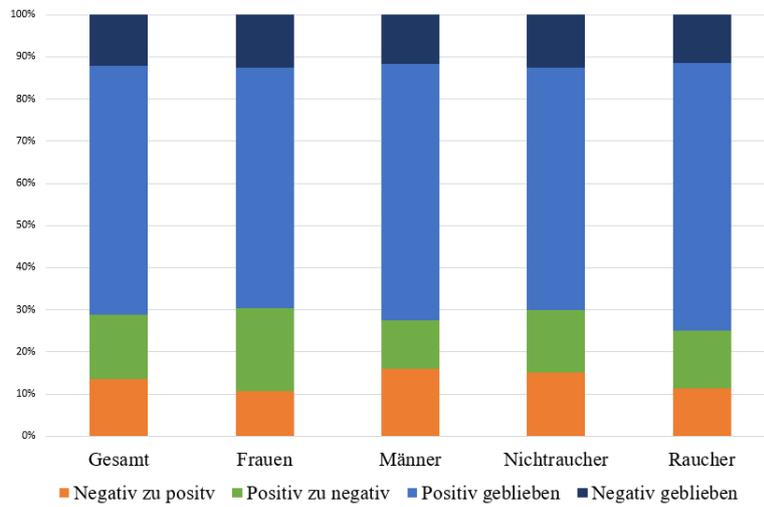


Abbildung 13: Veränderung des *T.denticola* Nachweises von Initial zum 2.Recall

Tabelle 12: Anzahl der Teilnehmer mit positivem bzw. negativem Bakteriennachweis Initial und zum 2.Recall (n/% Zeilenprozensätze)

Treponema denticola			
	Initial	2.Recall	
		-	+
Gesamt	-	15 (46,9%)	17 (53,1%)
	+	19 (20,4%)	74 (79,6%)
Frauen	-	7 (53,8%)	6 (46,2%)
	+	11 (25,6%)	32 (74,4%)
Männer	-	8 (42,1%)	11 (57,9%)
	+	8 (16%)	42 (84%)
Nichtraucher	-	10 (45,5%)	12 (54,5%)
	+	12 (20,7%)	46 (79,3%)
Raucher	-	5 (50%)	5 (50%)
	+	6 (17,6%)	28 (82,4%)

4.4 Matrixmetalloproteinase-8

Die Konzentration der Matrixmetalloproteinase-8 (ng/ml, Median [IQA]) veränderte sich bei Betrachtung der Gesamtpopulation (2,6 [96,43]) nicht signifikant ($p > ,05$) von Initial zum 2.Recall. Gleiches galt für die einzelnen Subgruppen. Der Unterschied zwischen den initialen Werten der Frauen (88,05 [81,25]) zu den initialen Werten der Männer (83,2 [114,82]) war nicht signifikant ($p > ,05$). Auch die Zunahme der MMP-8 Konzentration von Initial zum 2.Recall unterschied sich zwischen den Frauen (2 [96,68]) und den Männern (3,83 [98,51]) nicht signifikant ($p > ,05$). Der Unterschied zwischen den initialen Werten der Nichtraucher (85,29 [83,14]) zu den initialen Werten der Raucher (87,43 [131,21]) war nicht signifikant ($p > ,05$). Die Zunahme der Werte von Initial zum 2.Recall unterschied sich zwischen den Nichtrauchern (2,24 [71,69]) und den Rauchern (14 [156,41]) ebenfalls nicht signifikant ($p > ,05$). Der Unterschied der initialen Werte aller Studienteilnehmer (88,05 [81,25]) zu den 2.Recall-Werten der Subgruppe ST-Abnahme $> 1\text{mm}$ (111,74 [111,33]) war nicht signifikant ($p > ,05$). Die Ergebnisse sind in der Tabelle 13 und der Abbildung 14 dargestellt.

Tabelle 13: Median [IQA] der Matrixmetalloproteinase-8 Konzentration (ng/ml).
Wilcoxon-Test: signifikante Veränderung der Konzentration von Initial zum 2.Recall

Matrixmetalloproteinase-8 (ng/ml)				
	Initial	2.Recall	Delta	p-Wert
Gesamt	85,51 (91,3)	84,93 (82)	2,6 (96,43)	$> ,05$
Frauen	88,05 (81,25)	79,84 (80)	2 (96,68)	$> ,05$
Männer	83,2 (114,82)	91,70 (83,20)	3,83 (98,51)	$> ,05$
Nichtraucher	85,29 (83,14)	79,28 (80,18)	2,24 (71,69)	$> ,05$
Raucher	87,43 (131,21)	96,65 (83,67)	14 (156,41)	$> ,05$
Keine ST-Abnahme $> 1\text{mm}$	85,74 (92,53)	82,25 (82,23)	-1,69 (91,02)	$> ,05$
ST-Abnahme $> 1\text{mm}$	108,1 (72,2)	111,74 (111,33)	14,56 (94,13)	$> ,05$

★ Die Initial- und 2.Recall-Daten berechnen sich aus den Werten, die zum jeweiligen Zeitpunkt vorhanden waren. Die Delta berechnen sich aus den Daten, die zu beiden Zeitpunkten vorhanden waren.

4.5 Surfactant Protein-D

Die Konzentration von Surfactant Protein-D (ng/ml, Median [IQA]) stieg bei Betrachtung der Gesamtpopulation signifikant (22,22 [43]) ($p = ,000$). Signifikant war auch der Anstieg bei den Männern ($p = ,000$), bei den Rauchern ($p = ,000$) und Nichtrauchern ($p = ,008$) sowie

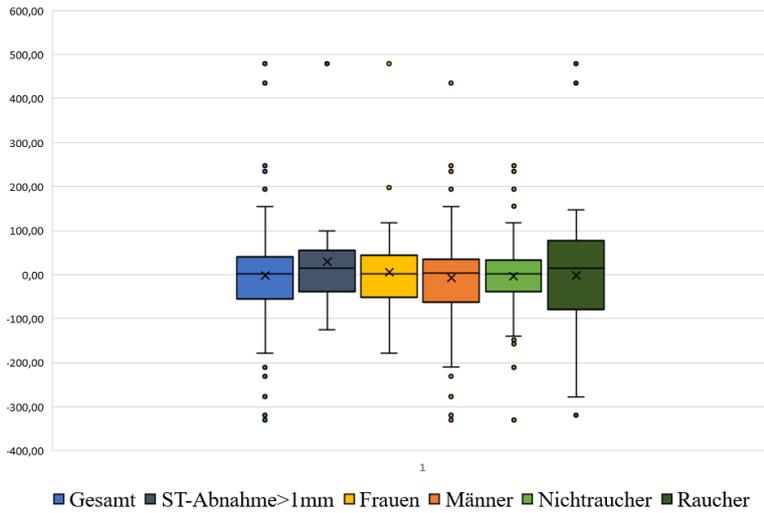


Abbildung 14: Veränderung der Matrixmetalloproteinase-8 Konzentration (ng/ml) von Initial zum 2.Recall in der Gesamtpopulation und in den Subgruppen

in der Subgruppe Keine ST-Abnahme $> 1\text{mm}$ ($p=,000$). Der Unterschied zwischen den initialen Werten der Frauen (130,36 [113,36]) zu denen der Männer (116,73 [90,1]) war nicht signifikant ($p>,05$). Auch die Zunahme der SP-D Konzentration von Initial zum 2.Recall unterschied sich zwischen den weiblichen (19,11 [53]) und den männlichen Studienteilnehmern (26,92 [42]) nicht signifikant ($p>,05$). Der Unterschied zwischen den initialen Werten der Nichtraucher (117,53 [103,83]) zu denen der Raucher (129,29 [104,77]) war nicht signifikant ($p>,05$). Die Zunahme der Werte von Initial zum 2.Recall unterschied sich zwischen den Nichtrauchern (11,26 [50,88]) und den Rauchern (29,47 [36,44]) hingegen signifikant ($p=,037$). Der Unterschied der initialen Werte aller Studienteilnehmer (123,32 [102,51]) zu den 2.Recall-Werten der Subgruppe ST-Abnahme $> 1\text{mm}$ (129,93 [48,24]) war nicht signifikant ($p>,05$). Die Ergebnisse sind in Tabelle 14 und Abbildung 15 dargestellt.

Tabelle 14: Median [IQA] der Surfactant Protein-D Konzentration (ng/ml).

Wilcoxon-Test: signifikante Veränderung der Konzentration von Initial zum 2.Recall

	Surfactant Protein-D (ng/ml)			
	Initial	2.Recall	Delta	p-Wert
Gesamt	123,32 (102,51)	149,70 (93,73)	22,22 (43)	,000
Frauen	130,36 (113,36)	145,47 (91,72)	19,11 (53)	$>,05$
Männer	116,73 (90,1)	155,22 (106,7)	26,92 (42)	,000
Nichtraucher	117,53 (103,83)	144,62 (98,12)	11,26 (50,88)	,008
Raucher	129,29 (104,77)	163,89 (87,2)	29,47 (36,44)	,000
Keine ST-Abnahme $> 1\text{mm}$	120,62 (101,21)	156,88 (104,44)	24,13 (42)	,000
ST-Abnahme $> 1\text{mm}$	93,95 (76,29)	129,93 (48,24)	25,69 (52,2)	$>,05$

★ Die Initial- und 2.Recall-Daten berechnen sich aus den Werten, die zum jeweiligen Zeitpunkt vorhanden waren. Die Delta berechnen sich aus den Daten, die zu beiden Zeitpunkten vorhanden waren.

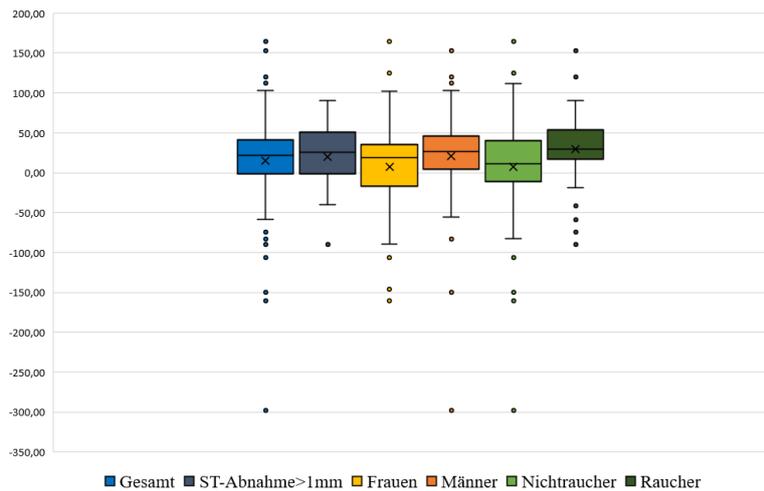


Abbildung 15: Veränderung der Surfactant Protein-D Konzentration (ng/ml) von Initial zum 2.Recall in der Gesamtpopulation und in den Subgruppen

4.6 Korrelation zwischen SP-D, MMP-8 und den klinischen Parametern

Bei den klinischen Variablen, bei SP-D und MMP-8 bestand eine signifikant negative Korrelation zwischen den initialen Werten und den Delta: SP-D ($\rho = -,330$), MMP-8 ($\rho = -,642$), ST ($\rho = -,621$), BOP ($\rho = -,760$), Plaque ($\rho = -,586$). Signifikant positive Korrelationen bestanden zwischen allen drei klinischen Variablen zu Beginn der Studie: ST und BOP ($\rho = ,295$), ST und Plaque ($\rho = ,203$), BOP und Plaque ($\rho = ,292$). Die Delta der Sondierungstiefen korrelierten zudem negativ mit den initialen Blutungswerten ($\rho = -,210$) und positiv mit den Delta ($\rho = ,380$) auf signifikantem Niveau. Die klinischen Variablen korrelierten nicht signifikant mit der Konzentration von SP-D und MMP-8. Auch zwischen SP-D und MMP-8 bestanden keine signifikanten Korrelationen (siehe Abbildung 16).

Abbildung 16: Rangkorrelationstest nach Spearman zwischen den klinischen Parametern und der Konzentration von Surfactant Protein-D und der Matrixmetalloproteinase-8

	SP-D Initial	SP-D Delta	MMP-8 Initial	MMP-8 Delta	ST Initial	ST Delta	BOP Initial	BOP Delta	Plaque Initial	Plaque Delta
SP-D Initial	1,000	-,330**	-,042	-,058	-,059	,137	-,005	,011	-,012	-,091
SP-D Delta	-,330**	1,000	,088	-,140	,174	-,097	-,109	-,012	,119	-,182
MMP-8 Initial	-,042	,088	1,000	-,642**	,067	-,103	-,028	-,016	,101	,029
MMP-8 Delta	-,058	-,140	-,642**	1,000	,034	,006	,130	-,147	,004	,059
ST Initial	-,059	,174	,067	,034	1,000	-,621**	,295**	-,178	,203*	-,100
ST Delta	,137	-,097	-,103	,006	-,621**	1,000	-,210*	,380**	-,105	,134
BOP Initial	-,005	-,109	-,028	,130	,295**	-,210*	1,000	-,760**	,292**	,013
BOP Delta	,011	-,012	-,016	-,147	-,178	,380**	-,760**	1,000	-,181	,154
Plaque Initial	-,012	,119	,101	,004	,203*	-,105	,292**	-,181	1,000	-,586**
Plaque Delta	-,091	-,182	,029	,059	-,100	,134	,013	,154	-,586**	1,000

* Die Korrelation ist auf dem 0,05 Niveau signifikant (zweiseitig)

** Die Korrelation ist auf dem 0,01 Niveau signifikant (zweiseitig)

4.7 Zusammenhänge zwischen SP-D, MMP-8, den klinischen Parametern und dem Bakteriennachweis

Zwischen der MMP-8 Konzentration und dem Bakteriennachweis bestand kein Zusammenhang ($p > ,05$). Zwischen der SP-D Konzentration und dem Bakteriennachweis bestand initial kein Zusammenhang ($p > ,05$). Die Veränderung der SP-D Konzentration von Initial zum 2.Recall war über die Delta-Variable von Fn signifikant ($p = ,018$): In allen Subgruppen (Verschlechterung/Verbesserung/Infektion zu beiden Zeitpunkten/Keine Infektion) nahm die SP-D Konzentration zu, am meisten jedoch in der Subgruppe Verbesserung.

Zwischen der Sondierungstiefe und dem Bakteriennachweis sowie zwischen der Blutung auf Sondierung und dem Bakteriennachweis bestand kein Zusammenhang ($p > ,05$). Bei den Studienteilnehmern, die zum initialen Zeitpunkt mit Aa infiziert waren, waren die Plaque-Werte signifikant höher als bei den Nichtinfizierten ($p = ,037$). Die Veränderung der Plaque-Werte war über die Delta-Variable von Aa signifikant ($p = ,003$): Zwar sanken die Plaque-Werte in allen vier Subgruppen, bei anfänglicher Infektion sanken die Werte jedoch stärker. Am deutlichsten war die Abnahme bei den Studienteilnehmern mit einer Infektion zu beiden Zeitpunkten (siehe Tabelle 15).

Tabelle 15: Mann-Whitney-U-Test: Vergleich von SP-D, MMP-8, ST, BOP und Plaque über die Kategorie Bakteriennachweis zum initialen Zeitpunkt. Kruskal-Wallis-Test: Vergleich der Delta-Variablen SP-D, MMP-8, ST, BOP und Plaque über die Kategorie Bakteriennachweis

		Klinik, Proteine und Bakteriennachweis					
		Aa	Pg	Fn	Pi	Tf	Td
SP-D	Initial	>,05	>,05	>,05	>,05	>,05	>,05
	Delta	>,05	>,05	,018	>,05	>,05	>,05
MMP-8	Initial	>,05	>,05	>,05	>,05	>,05	>,05
	Delta	>,05	>,05	>,05	>,05	>,05	>,05
ST	Initial	>,05	>,05	>,05	>,05	>,05	>,05
	Delta	>,05	>,05	>,05	>,05	>,05	>,05
BOP	Initial	>,05	>,05	>,05	>,05	>,05	>,05
	Delta	>,05	>,05	>,05	>,05	>,05	>,05
Plaque	Initial	,037	>,05	>,05	>,05	>,05	>,05
	Delta	,003	>,05	>,05	>,05	>,05	>,05

Diskussion

5.1 Diskussion der Methoden

5.1.1 Zeitraum der Studie

Auf den Bedarf an Langzeitstudien über potenzielle Biomarker im Gesamtorganismus unter parodontaler Therapie wird in zahlreichen Studien hingewiesen ([Loos 2005](#), [Paraskevas et al. 2008](#), [Marcaccini et al. 2009](#), [Duarte et al. 2010](#), [Demmer et al. 2013](#), [Türer et al. 2016](#), [Tonetti et al. 2018](#), [Buduneli 2019](#)). Abhängig vom Zeitpunkt der Erhebung klinischer und bakterieller Parameter sowie potenzieller Biomarker nach parodontaler Therapie werden unterschiedliche Werte beobachtet ([Haffajee et al. 1997](#), [Cugini et al. 2000](#), [Drisko 2001](#), [D’Aiuto et al. 2005](#), [Mombelli 2005](#), [D’Aiuto et al. 2006, 2013](#), [Goodson et al. 2012](#), [Socransky et al. 2013](#)). Insgesamt ist deshalb hervorzuheben, dass in dieser Studie eine große Studienpopulation auf klinische und bakterielle Parameter sowie potenzielle Biomarker über den langen Zeitraum von 12 Monaten untersucht wurden ([Marcaccini et al. 2009](#), [Ozcaka et al. 2011](#), [Zekeridou et al. 2019](#), [Türer et al. 2016](#), [Marcaccini et al. 2009](#)).

5.1.2 Wahl der Studienpopulation

Aufgrund der engen Beziehung zwischen der Parodontitis und systemischen Entzündungsprozessen wird der Effekt der parodontalen Therapie auf potenzielle Biomarker bei Patienten untersucht, die nicht nur an Parodontitis, sondern auch an verschiedenen Allgemeinerkrankungen leiden ([Demmer et al. 2013](#), [Türkoğlu et al. 2013](#), [Offenbacher et al. 2009](#), [Chapple and Genco 2013](#)). Um ausschließlich den Einfluss der Parodontitis und der parodontalen Therapie auf die Veränderung der Konzentration von MMP-8 und SP-D im Blut zu beleuchten, wurden Patienten mit relevanten systemischen Erkrankungen von der vorliegenden Studie ausgeschlossen.

Ergänzend zu den neu erarbeiteten Klassifizierungsmethoden schlagen [Tonetti et al. \(2018\)](#) vor, nur für eine bestimmte Patientengruppe Biomarker für die Diagnose und Verlaufskon-

trolle anzuwenden. Die Autoren beziehen sich dabei auf Patienten mit hoher Anfälligkeit für schwere Verläufe, geringem Therapieeffekt und anhaltendem Ungleichgewicht im Biofilm. Der moderate Erkrankungsstatus in der vorliegenden Studie mag ein Grund dafür sein, dass sich der klinisch erfolgreiche Therapieeffekt nicht an der Konzentration von SP-D und MMP-8 ablesen ließ.

5.1.3 Wahl der Therapieform und Durchführung der Studie im Studentenkurs

In der vorliegenden Studie wurde ausschließlich die nicht-chirurgische Therapie angewendet. Diese gilt gemeinhin als Goldstandard und ihre Effektivität in Bezug auf klinische und mikrobiologische Parameter wird in der Literatur ausführlich beschrieben (Cobb 1996, 2002, Cugini et al. 2000). Zwar wurde nach chirurgischer Therapie bei besonders tiefen Taschen eine größere Abnahme der Sondierungstiefen beobachtet, jedoch zeigen Langzeituntersuchungen, dass dieser Unterschied nicht von Dauer ist. Darüber hinaus ist zu beachten, dass die chirurgische Therapie in flacheren Taschen zu einem vermehrten klinischen Attachmentverlust führt, sodass sich die nicht-chirurgische Therapie im Vergleich zu der chirurgischen Therapie besonders für die vorliegende Studienpopulation mit moderater Ausprägung der Parodontitis eignet (Haffajee et al. 1997, Heitz-Mayfield et al. 2002, Hang and Douglass 2002).

In Bezug auf die Therapiewahl zeigen Untersuchungen, dass der Effekt der nicht-chirurgischen Therapie auf die systemische Konzentration potenzieller Biomarker teilweise ausbleibt oder geringer ist als bei parodontaler Therapie mit ergänzenden Maßnahmen wie der Antibiotikagabe (D’Aiuto et al. 2005, 2006, Paraskevas et al. 2008, Demmer et al. 2013). Ob die Antibiotikagabe einen therapeutischen Mehrwert hat, hängt allerdings von der klinischen und röntgenologischen Ausprägung der Parodontitis unter Berücksichtigung der Anamnese ab. Eine Empfehlung allein auf Basis erhöhter Entzündungswerte im Blut besteht nicht. Inzwischen wird die adjuvante antimikrobielle Therapie nur noch bei raschen Verläufen, wie etwa bei jungen Erwachsenen mit Stadium III oder IV, empfohlen. Bei leichtem bis moderatem Schweregrad der Parodontitis wird, vor allem in Anbetracht des Risikos einer Resistenzbildung, die Gabe nicht empfohlen (Flemmig et al. 1998, Ehmke et al. 2005, Jockel-Schneider 2018, Sanz et al. 2020).

Die vorliegende Studie wurde im Studentenkurs durchgeführt. Die Effektivität der nicht-chirurgischen Therapie hängt in großem Maße von dem Behandelnden ab. Das bezieht sich sowohl auf die Durchführung der mechanischen Reinigung als auch auf die Fähigkeit, den Patienten zur Mitarbeit zu motivieren (Drisko 2001, Kinane et al. 2017). Ähnlich wie in anderen Studien beschrieben, wurde eine hohe Qualitätssicherung erreicht, indem sämtliche Messungen und die Therapiedurchführung im Studentenkurs durch kalibrierte

Zahnärzte kontrolliert sowie bei Bedarf korrigiert wurden ([Saxen and Asikainen 1993](#), [Flemmig et al. 1998](#), [Ehmke et al. 2005](#)).

5.1.4 Vergleich zwischen Sulkusflüssigkeit und Blut

In der vorliegenden Studie wurde die Bestimmung der Konzentration von MMP-8 und SP-D im Blut durchgeführt. Diese Proteine können ebenso in der Sulkusflüssigkeit bestimmt werden. Die Entnahme von Blut ist dabei invasiver als die Entnahme von Sulkusflüssigkeit. Ein Vorteil systemischer Marker ist jedoch die größere Unabhängigkeit von lokalen (intraoralen) Faktoren (z. B. Speichelfluss) bzw. die einfachere und besser reproduzierbare Probengewinnung gegenüber der Sulkusflüssigkeit. Zwar beinhaltet die Sulkusflüssigkeit taschenspezifische Informationen, die Bestimmung der Marker im Blut berücksichtigt jedoch den allgemeinmedizinischen Einfluss der Parodontitis und ihrer Therapie ([Griffiths 2003](#), [Stathopoulou et al. 2015](#), [Türer et al. 2016](#), [Zekeridou et al. 2019](#)).

5.1.5 Analyseverfahren von MMP-8

Für die Bestimmung von MMP-8 im Serum wurde das Testkit dentoELISA aMMP-8 (dentognostics) eingesetzt. Alternativ zur MMP-8 Bestimmung mittels ELISA ([Liu et al. 2006](#), [Marcaccini et al. 2009](#)) wird der Time-resolved immunofluorometric assay (IFMA) verwendet ([Ozcaka et al. 2011](#), [Palm et al. 2013](#), [Nizam et al. 2014](#), [Lauhio et al. 2016](#), [Noack et al. 2017](#)). In der Literatur werden abhängig von der Wahl dieser beiden Methoden unterschiedliche Ergebnisse beschrieben. So können [Ozcaka et al. \(2011\)](#), [Nizam et al. \(2014\)](#) keine signifikanten Unterschiede hinsichtlich der MMP-8 Konzentration im Blut zwischen parodontaler Erkrankung und Gesundheit mittels IFMA-Analyse nachweisen. [Türkoğlu et al. \(2013\)](#), [Noack et al. \(2017\)](#) hingegen stellen durch IFMA-Analyse bei Parodontitis-Patienten signifikant höhere Werte fest. [Marcaccini et al. \(2009\)](#) beobachten auch mittels ELISA signifikante Unterschiede der MMP-8 Konzentration zwischen Gesunden und Parodontitis-Patienten. Bei der Anwendung von ELISA in der Studie von [Türkoğlu et al. \(2013\)](#) zeigt sich indes kein signifikanter Unterschied zwischen der Kontrollgruppe und den Parodontitis-Patienten. Als Grund dafür nennen die Autoren die Verwendung unterschiedlicher Antikörper bei den Testmethoden IFMA und ELISA. Zu beachten ist, dass sich die Autoren dabei auf den Amersham ELISA-Test beziehen. Im Gegensatz zu diesem bestimmen der dentoELISA-Test und der IFMA-Test anhand monoklonaler Antikörper MMP-8 mit äußerst hoher Genauigkeit ([Sorsa et al. 2009, 2010](#)). Dies unterstreicht auch die besondere Eignung des dentoELISA-Tests für die vorliegende Studie. Neben der Diskussion um die verschiedenen Analysemethoden, wird auf deren

Anwendung in Serum und Plasma eingegangen (Emingil et al. 2008, Tuomainen et al. 2008, Jung and Lein 2008, Sorsa et al. 2010, Türkoğlu et al. 2013). In der vorliegenden Studie wurde bei der Serumanalyse kein Therapieeffekt auf die MMP-8 Konzentration festgestellt. Marcaccini et al. (2009) hingegen beobachten eine deutliche Abnahme der Konzentration im Plasma. Da während des Gerinnungsprozesses die Freisetzung von Matrixmetalloproteinasen aus Leukozyten zu einer erhöhten Konzentration führen kann, wird die Verwendung von Serum als Analysemedium jedoch teilweise kritisch beurteilt (Zucker et al. 1999, Gerlach et al. 2005, Jung and Lein 2008). Andere Studien verweisen allerdings auf den Nachweis positiver Korrelationen zwischen den Messergebnissen in Serum und Plasma und bewerten beide Medien als geeignet für die MMP-8 Bestimmung (Emingil et al. 2008, Tuomainen et al. 2008, Sorsa et al. 2010).

5.1.6 Analyseverfahren von SP-D

Für die Bestimmung von SP-D im Plasma wurde das Testkit Human Surfactant Protein D ELISA (BioVendor) eingesetzt. Es handelt sich dabei, wie bei dem Nachweis für MMP-8, um einen Sandwich-ELISA. Dieser hochempfindliche, immunologische Test gilt als verlässliches Verfahren für den Nachweis von SP-D. In der Regel werden dafür zwei monoklonale Antikörper verwendet. Andere ELISA-Tests unterscheiden sich von diesem durch die Verwendung polyklonaler Antikörper und verschiedener Standards. Darin wird wiederum eine mögliche Ursache für unterschiedliche Ergebnisse von Studien über die SP-D Konzentration bei gesunden Probanden gesehen. Positive Korrelationen zwischen den Messergebnissen der am stärksten voneinander abweichenden Tests weisen jedoch darauf hin, dass ähnliche SP-D Formen detektiert werden (Engvall and Perlmann 1971, Inoue et al. 1994, Honda et al. 1996, Nagae et al. 1997, Takahashi et al. 2001, Leth-Larsen et al. 2003, Hartl and Griese 2006, Sorensen et al. 2007). Anhand dieser Studie wird allerdings deutlich, dass insgesamt der Vergleich mit anderen Studienergebnissen durch das Fehlen einheitlicher Methoden (wie bei Probenentnahme, Probenauswertung und klinischen Diagnostikkriterien) erschwert wird (Buduneli 2019).

5.1.7 Probenentnahme und Analyse der Bakterien

In dieser Studie wurde der bakterielle Abstrich aus dem gingivalen Sulkus bzw. der parodontalen Tasche über das Einführen von Papierspitzen in diese gewonnen. Die Probenentnahme wurde von Studenten durchgeführt, die Schritt für Schritt durch ein schriftliches Protokoll angeleitet wurden. Eine weitere Möglichkeit zur Probengewinnung ist die Kürettage der Taschen (Guentsch et al. 2011, Jervøe-Storm et al. 2007b). Bei einem Vergleich

der beiden Methoden kommen Studien zu dem Ergebnis, dass in Bezug auf die Menge, die Entnahme der subgingivalen Plaque durch Papierspitzen der Kürettage unterlegen ist. Die Wahl der Methode hat jedoch keinen nennenswerten Einfluss auf die Zusammensetzung der Proben (Renvert et al. 1992, Jervøe-Storm et al. 2007b). Zu den Vorteilen der Entnahme durch Papierspitzen werden ihre einfache, schnelle und vor allem atraumatische Handhabung gezählt (Guentsch et al. 2011, Griffiths 2003). Die Analyse der Proben wurde mittels Polymerasekettenreaktion (PCR) durchgeführt. Diese Methode ist schnell und einfach in der Anwendung. Zudem eignet sie sich für den Nachweis einer Spezies auch bei geringer Anzahl vorhandener Bakterien (Rams et al. 1996, Socransky and Haffajee 2005).

5.2 Diskussion der Ergebnisse

5.2.1 Klinische Ergebnisse

5.2.1.1 Erfolgreicher Therapieeffekt

Für die Bewertung einer parodontalen Therapie wurden klinische Grenzwerte definiert. Die erfolgreiche parodontale Therapie sollte Sondierungstiefen unter vier Millimeter und eine Blutung auf Sondierung unter 10% zum Ergebnis haben (Chapple et al. 2018). Daneben wenden Studien verschiedene weitere Bewertungskriterien an. Häufig liegt dabei der Fokus auf einer statistisch signifikanten Abnahme der klinischen Parameter. In Frage gestellt wird allerdings, ob statistisch signifikante Abnahmen auch ausreichend klinisch relevant sind. Deswegen wird vorgeschlagen, vor Therapiebeginn eine Mindestabnahme der klinischen Befunde festzulegen. Die Abnahme der Sondierungstiefe sollte dabei mindestens einen, idealerweise zwei Millimeter betragen. Diese Überlegung basiert darauf, dass die Messung der Sondierungstiefe Schwankungen um ca. einen Millimeter unterliegt (Fowler et al. 1982, Mombelli 2005, Greenstein and Lamster 2000).

In der Auswertung der vorliegenden Studie wurde sowohl auf statistisch signifikante als auch auf klinisch relevante Abnahmen eingegangen. Unter Therapie sanken die durchschnittlichen Werte aller klinischen Parameter in der Gesamtpopulation signifikant. Der positive klinische Effekt der nicht-chirurgischen Therapie deckt sich mit anderen Studien (Cobb 1996, Haffajee et al. 1997, Cobb 2002, Cugini et al. 2000, Drisko 2001, Mombelli 2005, Kinane et al. 2017, Socransky et al. 2013, Türer et al. 2016). Zudem wurde in der vorliegenden Studie bei etwa 15% aller Studienteilnehmer eine Abnahme der Sondierungstiefe von mehr als einem Millimeter beobachtet. In dieser Studienteilnehmergruppe zeigte sich darüber hinaus, dass die Blutungswerte des zweiten Recalls zu den Initialwerten der

Gesamtpopulation signifikant gesunken waren (siehe Tabellen 3; 4). Die enge Korrelation zwischen der Blutung auf Sondierung und der Sondierungstiefe zeigte sich auch in der Gesamtpopulation. Sie bestand zwischen den Anfangswerten und den Veränderungen der beiden Variablen. Bei den Plaquewerten und Sondierungstiefen bestand ein Zusammenhang nur zwischen den Anfangswerten. Bei allen drei Variablen zeigte sich ferner, dass ein höherer Anfangswert mit einer stärkeren Abnahme einherging (siehe Abbildung 16). Diese Beziehung wird besonders in Bezug auf die Sondierungstiefe auch in anderen Studien festgestellt (Cobb 1996, 2002, Drisko 2001, Cugini et al. 2000).

5.2.1.2 Sondierungstiefe

Die Sondierungstiefe sank zwischen Therapiebeginn und 2.Recall signifikant in der Gesamtpopulation und in allen Subgruppen. Der Median der Anfangssondierungstiefe betrug in der vorliegenden Studie 2,9 mm und verringerte sich um 0,31 mm (siehe Tabelle 3). Im Vergleich zu den in der Literatur beschriebenen Ergebnissen kann die Studie hinsichtlich der Sondierungstiefe als besonders effektiv bewertet werden. Nach Cobb (1996) sinken Taschen mit geringer Sondierungstiefe (1-3 mm) um etwa 0,03 mm nach einer reinen nicht-chirurgischen Therapie. Ebenso zeigt der Vergleich mit Cobb (1996), dass es sich in der vorliegenden Studie um eine nur leicht ausgeprägte parodontale Erkrankung handelt. Zusätzlich ist bezüglich des Recallintervalls von sechs Monaten die deutliche Abnahme der Sondierungstiefe in der vorliegenden Studie hervorzuheben. Andere Studien beobachteten die größten klinischen Veränderungen in den ersten drei Monaten nach Therapie (Cugini et al. 2000, Cobb 2002).

In der Literatur wird Tabakkonsum als ein Hauptrisikofaktor für schwere Krankheitsverläufe und geringen Therapieeffekt bewertet (Bergström and Preber 1994, Drisko 2001, Biddle et al. 2001, Goodson et al. 2012, Nociti Jr et al. 2015). Dies kann auch die vorliegende Studie bestätigen. Die Sondierungstiefe bei den Rauchern war vor Therapie signifikant höher als bei den Nichtrauchern. Wie bei Goodson et al. (2012) führte die Therapie zwar zu einer Abnahme der Werte. Im Vergleich zu den Nichtrauchern zeigte sich jedoch bei den Rauchern nicht, dass höhere Anfangswerte mit einer stärkeren Abnahme einhergehen. Trotz höherer Anfangswerte bestand in Bezug auf die Abnahme der Sondierungstiefe zwischen den beiden Gruppen kein signifikanter Unterschied.

Der Vergleich von Männern und Frauen zeigte, dass Männer anfänglich zu höheren Sondierungstiefen tendierten. In Bezug auf den Plaque-Index hatten Frauen im Vergleich zu allen anderen Gruppen mit 45% den niedrigsten Wert. Im Vergleich zu den Männern war dieser Unterschied signifikant. Auch Genco and Borgnakke (2013) thematisieren in ihrer Übersichtsarbeit das Geschlecht als Einflussfaktor: Männer leiden häufiger und an schwereren Ausprägungen parodontaler Erkrankung als Frauen. Dabei liegt der Grund

dafür weniger in genetischen Faktoren als vielmehr in einem unterschiedlichen sozialen Verhalten ([Genco and Borgnakke 2013](#)). Der Therapieeffekt auf alle klinischen Parameter war zwischen männlichen und weiblichen Studienteilnehmern hingegen nicht signifikant unterschiedlich. Damit stimmen die Ergebnisse wiederum mit folgenden Studien überein: [Faddy et al. \(2000\)](#) stellen bezüglich der Veränderung klinischer Parameter nach regelmäßiger Zahnpflege durch Fachpersonal keinen Unterschied zwischen den Geschlechtern fest. [Nizam et al. \(2014\)](#), [Türer et al. \(2016\)](#) beobachten nach nicht-chirurgischer Therapie ebenfalls keine geschlechtsspezifischen Unterschiede.

5.2.1.3 Blutung auf Sondierung

Die Blutung auf Sondierung sank zwischen Therapiebeginn und 2.Recall in der Gesamtpopulation und in allen Subgruppen signifikant (siehe Tabelle 4). Die Abnahme der Blutungswerte nach nicht-chirurgischer Therapie decken sich mit Beobachtungen in anderen Studien. Gemäß [Cobb \(2002\)](#) senkt die nicht-chirurgische Therapie die Blutung auf Sondierung bzw. hält sie auf niedrigem Niveau. Auch [Haffajee et al. \(1997\)](#), [Cugini et al. \(2000\)](#) beschreiben nach nicht-chirurgischer Therapie die prozentuale Abnahme blutender Stellen. Dabei entspricht ein Index kleiner 10% gemäß [Chapple et al. \(2018\)](#) einer Ausheilung. Daneben wird in Studien teilweise ein Index von unter 15% als Zielwert nach Therapie genannt ([Wolf et al. 2003](#), [Mombelli et al. 2000](#)). In der vorliegenden Studienpopulation konnte zum 2.Recall bei 27% ein Blutungswert von 0-15% festgestellt werden. In der Subgruppe mit durchschnittlicher Abnahme der Sondierungstiefe von mehr als einem Millimeter lag der Median zum 2.Recall bei etwa 15%.

Die Abwesenheit parodontaler Entzündung wird in der Literatur als Zeichen für stabile parodontale Verhältnisse in der Zukunft interpretiert. Die Blutung auf Sondierung dient als Indikator parodontaler Entzündung. Allerdings gilt sie als anfällig für falsch positive Untersuchungswerte, da ein zu hoher Kraftaufwand leicht Gewebeerletzungen zum Ergebnis haben kann. Die hohe Wertigkeit der Blutung auf Sondierung als negativer Vorhersagewert wird indes betont ([Lang et al. 1991, 1990](#), [Mombelli 2005](#), [Kinane et al. 2017](#), [Tonetti et al. 2018](#), [Chapple et al. 2018](#)).

Bei Tabakkonsum werden trotz bestehender Parodontitis geringe Blutungswerte beobachtet. In Studien wird beschrieben, dass Tabakkonsum zu einer verminderten Vaskularisation des parodontalen Gewebes führen kann und dadurch Entzündungszeichen wie die Blutung auf Sondierung abnehmen. Als Ursachen dafür gelten unter anderem eine Nikotin induzierte Vasokonstriktion und eine erhöhte Keratinisierung des Gewebes ([Biddle et al. 2001](#), [Bergström and Boström 2001](#), [Nociti Jr et al. 2015](#), [Kinane et al. 2017](#)). Auch in der vorliegenden Studie wiesen Raucher initial niedrigere Blutungswerte als Nichtraucher vor. Nach Therapie kam es sowohl bei den Rauchern als auch bei den Nichtrauchern zu

einer signifikanten Abnahme der Werte. Ähnlich wie bei [Pucher et al. \(1997\)](#), [Kaldahl et al. \(1996\)](#), unterschieden sich die Gruppen dabei nicht in Bezug auf die Abnahme der Blutung auf Sondierung. In der Studie von [Kaldahl et al. \(1996\)](#) tendierten Patienten mit hohem Zigarettenkonsum allerdings zu einem geringer ausgeprägtem Therapieeffekt. [Heasman et al. \(2006\)](#) betonen in diesem Zusammenhang, dass sich Rauchen zwar unumstritten negativ auf das parodontale Gewebe auswirkt, ein positiver Effekt der nicht-chirurgischen Therapie jedoch auch in dieser Gruppe, wenn auch eingeschränkt, erreicht werden kann. Zu diesem Ergebnis kommt auch die Studie von [Preber and Bergström \(1986\)](#). Das Ausmaß des Tabakkonsums zum initialen Zeitpunkt und zum 2.Recall wurde in der vorliegenden Studie nicht erhoben. Aufgrund des ausführlich beschriebenen, positiven Effekts der Rauchentwöhnung ([Grossi et al. 1994](#), [Delima et al. 2010](#), [Nociti Jr et al. 2015](#)), lässt der geringe Unterschied zwischen den Gruppen allerdings darauf schließen, dass der Tabakkonsum der Studienteilnehmer zu Beginn gering war und/oder im Laufe der Studie verringert oder ganz beendet wurde.

5.2.1.4 Plaque-Index

Unter Therapie sanken die durchschnittlichen Plaque-Werte in allen Subgruppen (siehe Tabelle 5). [Wolf et al. \(2003\)](#) nennen einen Plaque-Index von 70% als Beispiel für einen hohen Anfangswert und Werte kleiner 20% als deutliche Verbesserung nach Therapie. In der Langzeitstudie von [Haffajee et al. \(1997\)](#) wird bei durchschnittlicher Sondierungstiefe von 3,3 mm ein Plaque-Index von 66 % festgestellt. Die durchschnittlichen Anfangswerte der vorliegenden Studie lagen bei 51%. Die Höhe des Plaque-Index der Studienpopulation kann somit als eher moderat bezeichnet werden. Die Abnahme des Plaque-Index drei Monate nach Therapie ist in der Studie von [Haffajee et al. \(1997\)](#) nicht signifikant. Dagegen nahmen in der vorliegenden Studie die Werte in der Gesamtpopulation signifikant ab. Den bei [Lange \(1981\)](#) als optimale Mundhygiene genannten Wert von kleiner gleich 25% wurde allerdings in keiner der Gruppen erreicht. Plaque-Werte gelten als gutes Indiz für die Mitarbeit des Patienten. Eine wichtige Aufgabe der Nachsorgetermine ist das Aufzeigen von Schwachstellen und Training des Patienten in der Mundhygiene sowie die Remotivierung ([Wolf et al. 2003](#), [Drisko 2001](#)). Ein engeres Nachsorgeintervall, wie es in manchen Studien beschrieben wird ([Lindhe et al. 1984](#), [Drisko 2001](#), [Kinane et al. 2017](#)), hätte möglicherweise eine höhere Mitarbeit erzielt.

In der vorliegenden Studie führte die nicht-chirurgische Therapie in der Gruppe der Raucher zu keiner signifikanten Abnahme der Plaque-Werte. Tabakkonsum gilt allgemein als unabhängiger Risikofaktor für parodontale Erkrankungen. In Zusammenhang damit beschreiben Studien auch häufig eine geringere Mundhygiene und daraus resultierende erhöhte Plaque-Werte ([Bergström and Preber 1994](#), [Kaldahl et al. 1996](#), [Tonetti 1998](#),

Genco and Borgnakke 2013).

5.2.2 Bakteriennachweis

Insgesamt konnte in der vorliegenden Studie kein signifikanter Effekt der nicht-chirurgischen Therapie auf das Ergebnis des Bakteriennachweises beobachtet werden. Vergleicht man zunächst die Verteilung der Infizierten zu Beginn der Studie mit der zum 2.Recall, zeigt sich bei Aa, Pg und Td eine leichte Abnahme der Infektionen. Dies liegt daran, dass hier eine Verbesserung zum 2.Recall etwas häufiger war als eine Verschlechterung. Bei Fn, Tf und Pi hingegen stieg der Anteil der Infizierten zum 2.Recall an. Betrachtet man nun die Entwicklung der anfänglich Infizierten, wird deutlich, dass die Therapie bei der Mehrheit der Studienteilnehmer mit initial positivem Nachweis zu keiner Verringerung der Bakterienlast unter die Nachweisgrenze (im Sinne einer Elimination) führte. Der Großteil der anfänglich infizierten Studienteilnehmer blieb dies auch zum 2.Recall. Nur bei den Studienteilnehmern mit anfangs positivem Nachweis für Aa war eine Abnahme etwas häufiger als ein erneut positiver Nachweis. Allerdings war hier sowohl die Gruppe der anfänglich Infizierten als auch der Anteil der Infizierten mit negativem Nachweis zum 2.Recall im Vergleich zur Gesamtpopulation relativ klein (siehe Tabellen 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12).

Als ein Grund für die Schwierigkeit parodontalpathogene Bakterien zu entfernen, kann die Invasionsfähigkeit einiger Arten genannt werden. Indem sie in das parodontale Gewebe eindringen, entgehen sie der subgingivalen nicht-chirurgischen Reinigung. Ferner werden tiefe Taschen, Wurzelzement oder andere Bereiche in der Mundhöhle als Reservoir genannt (Cobb 2002, Johansson and Dahlén 2018, Fine et al. 2006). Auch das längere Recallintervall von teilweise mehr als sechs Monaten könnte dazu geführt haben, dass dem Wiederanstiegen der Bakterien nach Therapie nicht ausreichend entgegengewirkt wurde, denn der Effekt der nicht-chirurgischen Therapie ist vorübergehend. Die Erhaltungsphase dient dem langfristigen Sicherstellen einer bakteriellen Flora, die im Einklang mit dem gesunden Parodont steht (Drisko 2001, Cugini et al. 2000, Chaves et al. 2001, Socransky and Haffajee 2005, Haffajee et al. 2006).

In der vorliegenden Studie hatte das Geschlecht keinen signifikanten Einfluss auf die Bakterienzusammensetzung vor und nach nicht-chirurgische Therapie. Abhängig vom Tabakkonsum lag eine signifikant unterschiedliche Verteilung der Infektionen nur bei Pg vor: Nichtraucher waren zu Beginn der Studie häufiger infiziert als Raucher. Nach Therapie bestand dieser Unterschied indes nicht mehr (siehe Abbildung 9). Bei Pi zeigte sich zudem, dass es in der Gruppe der Raucher zu keiner Abnahme der Infektionen kam (siehe Abbildung 11). Auf die geringere Abnahme parodontalpathogener Bakterien bei Rauchern wird auch in den Studien von Haffajee et al. (1997), Cugini et al. (2000) hingewiesen. Die von Nociti Jr et al. (2015) beschriebene erhöhte Bakterienlast bei Rauchern, konnte aufgrund

der qualitativen Auswertung der Daten wiederum nicht untersucht werden.

Eine Beziehung zwischen dem Bakteriennachweis und den klinischen Daten ließ sich nur bei Aa beobachten. In Studien wird die Anwesenheit von Aa besonders mit aggressiven Krankheitsverläufen assoziiert (Socransky et al. 1998, Socransky and Haffajee 2002, Haffajee and Socransky 2006, Fine et al. 2006). Die geringe Anzahl von Studienteilnehmern, bei denen Aa zum initialen Zeitpunkt detektiert wurde, ist vereinbar mit der leichten klinischen Ausprägung der Erkrankung vor Therapie. Außerdem hatten Studienteilnehmer, bei denen Aa nachgewiesen wurde, initial höhere Plaque-Werte als jene ohne Vorkommen der Spezies (siehe Tabelle 15). Die in der Literatur beschriebene Assoziation zwischen fortdauernder Anwesenheit parodontalpathogener Bakterien und fortschreitender parodontaler Destruktion sowie Entzündung kann die vorliegende Studie in Bezug auf die restlichen untersuchten Bakterienarten hingegen nicht bestätigen (Socransky and Haffajee 1992, 2002, Rams et al. 1996, Mombelli et al. 2000, Cobb 2002, van Winkelhoff and Winkel 2005). Sondierungstiefe und Blutungswerte sanken nicht nur insgesamt sondern auch in der Gruppe der Studienteilnehmer mit Infektion zu beiden Untersuchungszeitpunkten. Einen signifikanten Unterschied bzgl. der Veränderung der Sondierungstiefe und der Blutungswerte abhängig vom Bakterienvorkommen bestand zudem nicht (siehe Tabelle 15). Grundsätzlich scheint der alleinige Nachweis parodontalpathogener Bakterien nicht ausreichen, um zwischen parodontal Gesunden, Parodontitis-Patienten und Therapierten zu unterscheiden. Die Anwesenheit dieser Bakterien wird sowohl bei Parodontitis-Patienten als auch bei Gesunden beobachtet. Allerdings werden parodontalpathogene Bakterien bei Parodontitis-Patienten häufiger und mit einem größeren Anteil festgestellt (Ximenez-Fyvie et al. 2000, Socransky and Haffajee 2005). Ausschlaggebend für einen positiven klinischen Effekt scheint folglich nicht die Eliminierung einzelner Bakterienarten zu sein, sondern die Wiederherstellung des Gleichgewichts der bakteriellen Zusammensetzung (Rams et al. 1996, Haffajee et al. 1997, Tanner et al. 1998, Wolf et al. 2003, Cugini et al. 2000, Cobb 2002, Haffajee et al. 2006, Socransky et al. 2013, Hagenfeld et al. 2018). Deshalb sollten quantitative Veränderungen über ein möglichst großes Spektrum nach nicht-chirurgischer Therapie in zukünftigen Untersuchungen berücksichtigt werden. Darüber hinaus sollte auch auf die verschiedenen Subtypen einer Art eingegangen werden, da diese sich teils gravierend in ihrer Virulenz und Krankheitsassoziation unterscheiden (Wolf et al. 2003, Fine et al. 2006).

5.2.3 Biomarker in der Parodontologie

Parodontitis wird nicht länger als rein lokales Phänomen betrachtet. Sie wird mit verschiedenen Allgemeinerkrankungen in Beziehung gesetzt (Chapple and Genco 2013, Tonetti and Van Dyke 2013, Linden et al. 2013, Hasturk and Kantarci 2015, Hobbins et al. 2017,

Dannewitz et al. 2019). Dabei werden Entzündungsmediatoren als mögliches Bindeglied untersucht (Davé and Van Dyke 2008, Buduneli 2019). Wie genau die parodontale Entzündung mit erhöhten Werten systemischer Entzündungsmediatoren und mit Allgemeinerkrankungen zusammenhängt, ist unklar. Als mögliche Quelle werden lokal produzierte proinflammatorische Mediatoren angesehen, die direkt in das System übergehen. Auch wird die Verteilung von parodontalpathogenen Bakterien und deren Bestandteilen (wie den Lipopolysacchariden) über Mikroulzerationen im parodontalen Gewebe als Ursache für die erhöhten Entzündungswerte erwogen (Loos 2005, D’Aiuto et al. 2005, Davé and Van Dyke 2008, Palm et al. 2013, Schenkein and Loos 2013).

Aufgrund dieser möglichen Verknüpfungen wird in der Parodontologie der Einsatz von Entzündungsmediatoren im Blut für diagnostische Zwecke diskutiert (Stathopoulou et al. 2015, Buduneli 2019). Gängige diagnostische Parameter wie Sondierungstiefe und Blutung auf Sondierung stehen in der Kritik, arbeitsintensiv zu sein und subjektiven Schwankungen zu unterliegen. Auch wird kritisiert, dass die Bewertung des Parodontiums anhand der klinischen Diagnostikmittel auf vergangene Vorgänge beruht und deren Aussagekraft über die aktuelle Aktivität, den zukünftigen Verlauf der Erkrankung und den Therapieeffekt gering ist (Mombelli 2005, Stathopoulou et al. 2015, Kinane et al. 2017, Tonetti et al. 2018, Buduneli 2019). Im Zuge dessen untersucht man, ob anhand der Werte der Entzündungsmediatoren im Blut zwischen parodontaler Erkrankung und Gesundheit unterschieden werden kann. Darüber hinaus wird analysiert, ob sich die parodontale Therapie in der Veränderung der Konzentration widerspiegelt und ob Entzündungsmediatoren als Biomarker in der Verlaufskontrolle eingesetzt werden können (Glas et al. 2008, Marcaccini et al. 2009, Stathopoulou et al. 2015, Tonetti et al. 2018, Marcaccini et al. 2009, D’Aiuto et al. 2005, 2006, Duarte et al. 2010, Türer et al. 2016, Morozumi et al. 2018). Letzteres ist auch der Schwerpunkt der vorliegenden Studie.

5.2.3.1 Matrixmetalloproteinase-8

12 Monate nach erfolgreicher nicht-chirurgischer Therapie veränderte sich die MMP-8 Konzentration weder in der Gesamtpopulation noch in den einzelnen Subgruppen signifikant. Mit dem Ergebnis der Langzeitstudie von Marcaccini et al. (2009) stimmt die vorliegende Studie somit nur in Bezug auf die signifikante Verbesserung der klinischen Parameter überein. Zusätzlich beobachteten Marcaccini et al. (2009) signifikant höhere MMP-8 Werte bei Parodontitis-Patienten im Vergleich zu Gesunden und eine Konzentrationsabnahme von MMP-8 im Plasma um 35%, drei Monate nach nicht-chirurgischer Therapie. Als mögliche Ursache für die erhöhte MMP-8 Konzentration im Plasma nennen Marcaccini et al. (2009) die Entzündungsreaktion im parodontalen Gewebe. Auch Noack et al. (2017) vermuten, dass lokal produziertes MMP-8 in das System übertritt und so zu

der signifikant höheren MMP-8 Konzentration bei Parodontitis-Patienten führt. Zudem korreliert in dieser Studie die MMP-8 Konzentration mit der Schwere der parodontalen Destruktion. Im Vergleich zu der MMP-8 Konzentration bei [Noack et al. \(2017\)](#) sind sowohl der initiale Median als auch der Mittelwert in der vorliegenden Studie niedriger. Auch die durchschnittlichen Werte der klinischen Parameter liegen bei den genannten Studien teils über denen der vorliegenden Studie. Dass es in der vorliegenden Studie zu keiner Abnahme der MMP-8 Konzentration kam, kann somit an der schwächeren Ausprägung der Parodontitis und daraus resultierender zu geringer MMP-8 Konzentration liegen. Zwar konnte in unserer Studie kein Zusammenhang zwischen klinischer Ausprägung und MMP-8 Konzentration festgestellt werden. Die bestehende Korrelation zwischen der Höhe der Anfangskonzentration mit der Stärke ihrer Abnahme unterstützt jedoch die These, dass die Werte erst dann sichtbar abnehmen, wenn sie zu Beginn ausreichend hoch sind (siehe Tabelle 16). Der eindeutige Zusammenhang zwischen parodontaler Erkrankung und systemischer Konzentration ist allerdings nicht gesichert. In den Studien von [Ozcaka et al. \(2011\)](#), [Nizam et al. \(2014\)](#) sind bei Patienten mit starker Parodontiserkrankung die MMP-8 Level im Serum nicht signifikant höher als bei Gesunden. In Zukunft ist zu klären, inwiefern parodontale Erkrankung und MMP-8 Konzentration im Blut zusammenhängen, und ob sich Unterschiede sowohl zwischen Gesunden und Parodontitis-Patienten als auch zwischen Parodontitis-Patienten und Therapierten ggf. erst bei deutlich erhöhten Anfangslevel zeigen.

Ein weiterer Erklärungsansatz für den Anstieg von Entzündungsmediatoren bei Parodontitis-Patienten ist die Verteilung parodontalpathogener Bakterien und deren Bestandteile durch die parodontale Tasche im gesamten Körper ([Noack et al. 2017](#), [Loos 2005](#), [Fine et al. 2006](#), [Hobbins et al. 2017](#)). Bakterielle Bestandteile wie die Lipopolysaccharide fördern die Freisetzung und Aktivierung von MMP-8 ([Alfakry et al. 2015](#), [Uitto et al. 2003](#), [Guan et al. 2009](#)). In der Studie von [Noack et al. \(2017\)](#) wird eine Tendenz der Korrelation zwischen bakteriellen Parametern und MMP-8 Level im Blut genannt. Im Vergleich zu [Noack et al. \(2017\)](#) wurden in der vorliegenden Studie bei Parodontitis-Patienten von Anfang an weniger Bakterien nachgewiesen. Außerdem blieb der Großteil der Patienten mit bakterieller Infektion zu Beginn der Beobachtung, wie bereits beschrieben, auch zum 2.Recall positiv. Daraus kann geschlussfolgert werden, dass erstens der zum initialen Zeitpunkt geringere Anteil von Bakterien in Verbindung mit geringeren systemischen MMP-8 Werten steht. Zweitens, dass ein Zusammenhang besteht zwischen der fehlenden bakteriellen Veränderung und dem Ausbleiben einer Abnahme der MMP-8 Werte zum 2.Recall. Dagegen spricht allerdings, dass sich die MMP-8 Konzentration nicht abhängig von einem positiven bzw. negativen Bakteriennachweis unterschieden (siehe Tabelle 15).

Weitere Faktoren, die die MMP-8 Level beeinflusst haben könnten, sind der Zeitpunkt der Nachsorgeterapien sowie der Tabakkonsum. Ähnlich wie in anderen Studien ([Cobb 2002](#), [Cugini et al. 2000](#), [Socransky and Haffajee 2002](#)) erhebt [Marcaccini et al. \(2009\)](#)

drei Monate nach nicht-chirurgischer Therapie erneut klinische und mikrobiologische Daten. In der vorliegenden Studie hingegen wurden initiale Werte mit Werten 12 Monate nach nicht-chirurgischer Therapie verglichen. Sowohl bakterielle als auch klinische Werte könnten zu diesem Zeitpunkt bereits wieder angestiegen sein (Chaves et al. 2001, Haffajee et al. 2006, 1997). Dieses Wiederanstiegen vermag eine Begründung für die gleichbleibende MMP-8 Konzentration sein.

In der Studie von Marcaccini et al. (2009) werden aktuelle und ehemalige Raucher nicht miteinbezogen. Darin ließe sich eine weitere Erklärung für die gleich gebliebenen Werte in der vorliegenden Studie finden. Wie auch bei Liu et al. (2006), Ozcaka et al. (2011) konnten zwar in der vorliegenden Studie keine signifikanten Unterschiede zwischen parodontal kranken Rauchern und Nichtrauchern im Serum festgestellt werden, allerdings tendierten Raucher zu höheren Werten. Ohne Einbeziehen parodontaler Erkrankung beobachteten auch Lauhio et al. (2016) bei systemisch gesunden Rauchern signifikant höhere MMP-8 Level im Serum. Während weitere Langzeitstudien zum Einfluss von Rauchen auf das systemische MMP-8 Level fehlen, wird der Einfluss auf MMP-8 in lokalen Medien in verschiedenen Langzeitstudien untersucht. Sowohl nach nicht-chirurgischer Therapie (Mäntylä et al. 2007) als auch nach parodontaler chirurgischer Therapie (Persson et al. 2003) sinken nur bei Nichtrauchern die MMP-8 Level im GCF signifikant. Persson et al. (2003) vermuten, dass angesichts der gleich gebliebenen MMP-8 Level der Raucher, die Therapie bei ihnen weniger effektiv ist und sich dies, wie auch bei Mäntylä et al. (2007), sowohl klinisch als auch mikrobiologisch darstellt.

Insgesamt zeigen die Ergebnisse der vorliegenden Studie, dass sich die MMP-8 Konzentration im Blut für die Evaluation der nicht-chirurgischen Therapie weniger eignet. Möglicherweise würde die Erhebung von Daten nach einem kürzeren Recallintervall und bei einer Studienpopulation mit einem ausgeprägteren Schweregrad der Parodontitis zu einem anderen Ergebnis kommen. Zudem könnten quantitative mikrobiologische Daten in zukünftigen Studien mehr Aufschluss über den Zusammenhang zwischen der MMP-8 Konzentration im Blut und den Bakterien bringen.

Bei der Diagnose und Verlaufskontrolle der Parodontitis mittels systemischer Konzentration potenzieller Biomarker muss immer berücksichtigt werden, dass diese unter dem Einfluss unterschiedlichster Vorgänge bzw. Erkrankungen im Organismus stehen und sich gegenseitig beeinflussen. In diesem Zusammenhang ist zu betonen, dass die parodontale Entzündung, als mögliche Quelle für erhöhte systemische Entzündungslevel, ein besonderer Risikofaktor für das Bestehen allgemeiner, schwerwiegender Erkrankungen ist. Die frühzeitige Diagnose und adäquate Therapie spielt somit auch für die allgemeine Gesundheit eine herausragende Rolle (Klein and Bischoff 2011, Yildirim et al. 2012, Lenglet et al. 2013, Palm et al. 2013, Aquilante et al. 2007, Palm et al. 2013, Türkoğlu et al. 2013, Alfakry et al. 2015, Lauhio et al. 2016, Dannewitz et al. 2019). Ein Nachteil der gängigen klinischen Diagnostikmittel ist, dass sie auf bereits bestehenden parodontalen Schä-

den beruhen (Haffajee et al. 1983, Stathopoulou et al. 2015, Mombelli 2005). Aufgrund des Zusammenhangs zwischen systemischer MMP-8 Konzentration und der Parodontitis (Marcaccini et al. 2009, Türkoğlu et al. 2013, Palm et al. 2013, Noack et al. 2017) könnte MMP-8 als Screening-Methode bei allgemeinmedizinischen Kontrollen eingesetzt werden. Andere Studien schlagen das bereits bezüglich der Einsatzmöglichkeiten von MMP-8-Tests in lokalen Medien und in Kombination mit anderen potenziellen Biomarkern vor (Borujeni et al. 2015). Die Vorteile einer engen Zusammenarbeit von allgemeiner Medizin und Zahnmedizin für die Gesundheit der Gesellschaft, betont ein erst kürzlich veröffentlichter Bericht im Auftrag der European Federation of Periodontology (Bishop et al. 2021).

5.2.3.2 Surfactant Protein-D

Die SP-D Konzentration ist 12 Monate nach erfolgreicher nicht-chirurgischer Therapie teils signifikant gestiegen. Ein Vergleich der SP-D Konzentration nach Therapie ist aufgrund fehlender weiterer Langzeitstudien nicht möglich. Jedoch können die Anfangswerte der vorliegenden Studie den Ergebnissen der Studie von Glas et al. (2008) gegenübergestellt werden. Da beide Studien das gleiche Nachweisverfahren im Plasma verwenden, ist ein Vergleich der Konzentration gut möglich. In der Studie von Glas et al. (2008) wird bei Parodontitis-Patienten eine signifikant höhere SP-D Konzentration im Vergleich zu Gesunden festgestellt. Ebenso war die SP-D Konzentration der Parodontitis-Patienten in der vorliegenden Studie höher als die der Gesunden bei Glas et al. (2008). Vergleicht man aber die Konzentrationen der Parodontitis-Patienten, wird deutlich, dass die initiale SP-D Konzentration in der vorliegenden Studie höher und auch die Spannweite deutlich größer ist als in der Parodontitis-Gruppe von Glas et al. (2008). Unterschiede in der Ausprägung der parodontalen Erkrankung zwischen den Studienpopulationen könnten eine Erklärung dafür sein. Die klinischen Kriterien für die Aufnahme als Parodontitis-Patient bei Glas et al. (2008) weisen zwar nicht darauf hin, ein genauer Vergleich der klinischen und bakteriellen Parameter zwischen den Studien ist allerdings nicht möglich, da hierzu in der Studie von Glas et al. (2008) die einzelnen Werte fehlen. Mögliche entzündliche Prozesse, als zusätzliche Ursache für die SP-D Expression, gelten indes in beiden Studien als Ausschlusskriterien.

Signifikant erhöhte Konzentrationen von SP-D im Vergleich zu Gesunden werden vor allem bei Lungenerkrankungen beobachtet (Honda et al. 1996, Takahashi et al. 2001, Leth-Larsen et al. 2003, Hartl and Griese 2006). Dabei geben Takahashi et al. (2001) zu bedenken, dass erhöhte Werte auch über die Expression der Proteine im Gastrointestinaltrakt beeinflusst werden können. Diesen Ansatz verfolgen auch Glas et al. (2008) bei der Untersuchung der erhöhten SP-D Konzentration im Blut von Parodontitis-Patienten.

Die genauen Ursachen für eine erhöhte SP-D Konzentration bei Parodontitis ist nicht

vollständig geklärt. Als eine generelle Erklärung wird die krankheitsbedingt gesteigerte Durchlässigkeit von Geweben angegeben, durch die SP-D vermehrt in den Blutkreislauf eintreten kann. Als Hauptursache wird dabei die erhöhte Durchlässigkeit von Lungengewebe genannt. Jedoch werden auch arterielle Gefäßwände als Quelle für die gesteigerte Konzentration im System untersucht (Sorensen et al. 2006, Sorensen 2018). Darüber hinaus beobachten Bräuer et al. (2012), Schicht et al. (2014) eine signifikant erhöhte SP-D Konzentration bei parodontaler Erkrankung in der Mundhöhle. Ähnlich wie bei MMP-8 bereits beschrieben, könnte somit auch lokal produziertes SP-D zu den erhöhten Level beitragen, indem sie über die parodontale Läsion in den Organismus eintreten (Loos 2005). Möglich ist außerdem auch, dass Pathogene und deren Bestandteile in den Blutkreislauf eindringen und zu einem Anstieg der systemischen SP-D Level beitragen. Ein Anstieg beruht dabei eventuell auf der Interaktion von SP-D, als Pattern Recognition Receptor, mit pathogenassoziierten molekularen Mustern wie den Lipopolysacchariden (Glas et al. 2008, Kishore et al. 2006, Hartl and Griese 2006, Jia et al. 2019). Angesichts dieser Funktion von SP-D betonen Glas et al. (2008) die Relevanz des Proteins bei der Forschung nach Biomarkern in der Parodontologie. Auch Schicht et al. (2014) vermuten die Ursache für den SP-D Anstieg in lokalen Medien in der parodontalen Entzündung, die durch parodontale Pathogene getriggert wird. Der in der vorliegenden Studie teils signifikante Anstieg der Konzentration zum 2.Recall würde folglich auf eine fortschreitende parodontale Entzündung und einen Anstieg der parodontalpathogenen Bakterien hinweisen.

Die signifikante Verbesserung der klinischen Parameter 12 Monate nach Therapie widerspricht jedoch dieser Überlegung. Auch bestehen keine Korrelationen zwischen klinischen Parametern und der Konzentration von SP-D (siehe Tabelle 16). Die geringe initiale SP-D Konzentration in der Subgruppe mit durchschnittlicher Sondierungstiefenabnahme von mehr als einem Millimeter könnte allerdings darauf hinweisen, dass eine niedrige Anfangskonzentration ein klinisch besonders effektives Therapieergebnis erwarten lässt. Im Vergleich zu den Anfangswerten der Gesamtpopulation stieg ferner die Konzentration innerhalb dieser Subgruppe zum 2.Recall nur leicht an (siehe Tabelle 14). Es wäre lohnenswert, in zukünftigen Studien darauf zu achten, wie sich systemische Level bei Studienteilnehmern mit einem besonders ausgeprägten klinischen Therapieeffekt verändern. Auch sollte die Beziehung zwischen lokal produziertem und systemischem SP-D weiter untersucht werden, um den Einfluss parodontaler Entzündung auf SP-D und deren Beitrag zu systemischen Werten zu bestätigen.

Zum 2.Recall bestand bei einem Großteil der Studienteilnehmer ein positiver Bakterienachweis (siehe Abbildung 7). Die SP-D Konzentration hatte zu diesem Zeitpunkt zugenommen. Dies könnte ein Hinweis auf die Interaktion zwischen SP-D und den parodontalpathogenen Bakterien sein. Ein statistischer Zusammenhang zwischen der Zunahme von SP-D und einem positivem Bakteriennachweis zum 2.Recall konnte allerdings nicht nachgewiesen werden (siehe Tabelle 15).

In Bezug auf mögliche Einflussfaktoren auf die SP-D Konzentration erscheint besonders der Tabakkonsum interessant, da ein starker Zusammenhang zwischen erhöhten SP-D Level im Blut und bestehenden Lungenerkrankungen existiert. Steigende SP-D Level werden ohne Einbeziehen parodontaler Gesundheit bei Rauchern im Vergleich zu Nichtrauchern beobachtet (Sorensen et al. 2006, Lomas et al. 2009, Moazed et al. 2016). Auch die vorliegende Studie konnte die enge Beziehung zwischen Rauchen und SP-D nachweisen: Vor Therapiebeginn zeigten Raucher tendenziell höhere Werte als Nichtraucher, zum 2.Recall war der Anstieg der Konzentration bei den Rauchern signifikant höher als bei den Nichtrauchern. Sorensen et al. (2006), Lomas et al. (2009), Moazed et al. (2016) führen Tabakkonsum als Ursache für Entzündungen und die daraus resultierende Durchlässigkeit der Lungenwand an. Darüber hinaus wird erwogen, ob Rauchen den Rückstrom von SP-D in die Lunge verhindert. Da in der Literatur Rauchen als sehr wichtiger Einflussfaktor betrachtet wird, sollten in zukünftigen Studien der Tabakkonsum zu mehreren Zeitpunkten quantitativ ermittelt werden und auch frühere Rauchgewohnheiten berücksichtigt werden (Sorensen et al. 2006). Hinsichtlich geschlechtsspezifischer Unterschiede beobachten Sorensen et al. (2006) erhöhte Werte bei gesunden männlichen Studienteilnehmern im Vergleich zu weiblichen Studienteilnehmern. In der vorliegenden Studie waren zwar vor Therapie die Werte der weiblichen Studienteilnehmer höher als die der männlichen, jedoch stiegen sie signifikant nur bei den Männern an. Glas et al. (2008) hingegen beobachten keinen geschlechtsspezifischen Unterschied der SP-D Konzentration. In der Literatur wird darüber hinaus der genetische Einfluss auf die SP-D Konzentration im Blut und deren Assoziation zu entzündlichen Erkrankungen betont (Sorensen et al. 2006, Glas et al. 2008, Sorensen 2018).

In der vorliegenden Studie sollte untersucht werden, ob ein Unterschied der SP-D Konzentration bei Parodontitis-Patienten vor und nach Therapie besteht. Es zeigte sich jedoch, dass der Vergleich zwischen Erkrankten und Therapierten nicht dem aus der Literatur bekannten Verhältnis zwischen Erkrankten und Gesunden entspricht. Der gemessene Anstieg der Konzentration nach Therapie stellt die Wertigkeit von SP-D im Blut als Parameter für die Verlaufskontrolle in Frage. Erhöhte systemische Level könnten allerdings auf die Veranlagung für parodontale Erkrankungen hinweisen. Solch ein Zusammenhang zwischen Disposition und systemischen SP-D Level würde auch erklären, warum der Unterschied zwischen Parodontitis-Patienten und Gesunden wie bei Glas et al. (2008) nachgewiesen werden konnte, jedoch nicht zwischen Patienten vor und nach Therapie.

Zusammenfassung

In der Literatur wird die Wertigkeit der gängigen Parameter für die Diagnose und Verlaufskontrolle der Parodontitis teilweise kritisch diskutiert und nach weiteren Methoden geforscht. Im Zuge dessen werden unter anderem Zytokine, Enzyme und Rezeptoren in Blut, Speichel und gingivaler Sulkusflüssigkeit analysiert, um diese als objektive, schnell und einfach umsetzbare Biomarker in der Parodontologie einzusetzen. Die Analyse von potenziellen Biomarkern im Blut berücksichtigt dabei die möglichen systemischen Wirkungen der Parodontitis und der parodontalen Therapie.

Das Ziel der vorliegenden Arbeit war es zu untersuchen, ob die nicht-chirurgische parodontale Therapie zu Konzentrationsveränderungen von SP-D und MMP-8 führt.

Bei 149 Patienten der Poliklinik für Zahnerhaltung und Parodontologie der LMU mit einer Parodontitis wurden im Studentenkurs vor Therapiebeginn (Initial) die klinischen Parameter Sondierungstiefe, Blutung auf Sondierung und Plaque-Index erhoben sowie Sulkusflüssigkeit und Blutproben entnommen. Es folgte die nicht-chirurgische parodontale Therapie. Nach sechs Monaten (1.Recall) und 12 Monaten (2.Recall) wurden die Messung, die Probenentnahme und die supra- bzw subgingivale Reinigung wiederholt. Die SP-D Konzentration im Plasma und die MMP-8 Konzentration im Serum zum initialen Zeitpunkt und zum 2.Recall wurden anhand der quantitativen ELISA-Methode analysiert. In der Sulkusflüssigkeit wurden die Bakterien Aa, Pg, Fn, Pi, Tf und Td mittels PCR qualitativ bestimmt.

12 Monate nach nicht-chirurgischer Therapie verbesserten sich die klinischen Parameter signifikant. Der Bakteriennachweis der meisten Studienteilnehmer hatte sich zum 2.Recall nicht verändert. Die Konzentration von SP-D stieg in der Gesamtpopulation signifikant an, auf die Konzentration der MMP-8 zeigte die Therapie keinen signifikanten Einfluss. Zwischen den Konzentrationen von SP-D, MMP-8 und den klinischen und bakteriellen Parametern konnte kein eindeutiger Zusammenhang beobachtet werden. Rauchen beeinflusste die Werte der klinischen Parameter und der SP-D Konzentration unter Therapie. Die Ergebnisse der vorliegenden Studie zeigen, dass SP-D und MMP-8 im Blut als Parameter für die Verlaufskontrolle der Parodontitis nicht geeignet sind. Ziel zukünftiger Langzeitstudien über SP-D und MMP-8 im Blut kann somit primär die weitere Untersuchung der Beziehung zwischen oraler und systemischer Gesundheit sein.

Abkürzungsverzeichnis

- Aa** *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*
- BOP** Blutung auf Sondierung, Bleeding on probing
- ELISA** Enzyme-linked immunoabsorbant assay
- Fn** *Fusobacterium nucleatum*
- GCF** Sulkusflüssigkeit, Gingival crevicular fluid
- IFMA** Time-resolved immunofluorometric assays
- LPS** Lipopolysaccharide
- MMP** Matrixmetalloproteinase
- MMP-8** Matrixmetalloproteinase-8
- PAMP** Pathogen assoziierte Muster, Pathogen associated molecular pattern
- Pg** *Porphyromonas gingivalis*
- PI** Plaque-Index
- Pi** *Prevotella intermedia*
- PRR** Pathogene Muster erkennenden Rezeptoren, Pathogen recognition receptors
- SRP** Scaling und Wurzelglättung, Scaling and rootplanning
- SP** Surfactant Protein
- SP-D** Surfactant Protein-D
- Tf** *Tannerella forsythia*
- Td** *Treponema denticola*

Abbildungsverzeichnis

1	Kompetitiver ELISA und Sandwich-ELISA	16
2	Plattenbelegung: MMP-8 Nachweis	19
3	Plattenbelegung: SP-D Nachweis	20
4	Veränderung der Sondierungstiefe (mm) von Initial zum 2.Recall in der Gesamtpopulation und in den Subgruppen	27
5	Veränderung der Blutung auf Sondierung von Initial zum 2.Recall in der Gesamtpopulation und in den Subgruppen	28
6	Veränderung des Plaque-Index von Initial zum 2.Recall in der Gesamtpopulation und in den Subgruppen	30
7	Veränderung des Bakteriennachweises von Initial zum 2.Recall	31
8	Veränderung des A.actinomycetemcomitans Nachweises von Initial zum 2.Recall	32
9	Veränderung des P.gingivalis Nachweises von Initial zum 2.Recall	34
10	Veränderung des F.nucleatum Nachweises von Initial zum 2.Recall	35
11	Veränderung des P.intermedias Nachweises von Initial zum 2.Recall	36
12	Veränderung des T.forsythia Nachweises von Initial zum 2.Recall	38
13	Veränderung des T.denticola Nachweises von Initial zum 2.Recall	39
14	Veränderung der Matrixmetalloproteinase-8 Konzentration (ng/ml) von Initial zum 2.Recall in der Gesamtpopulation und in den Subgruppen	41

15	Veränderung der Surfactant Protein-D Konzentration (ng/ml) von Initial zum 2.Recall in der Gesamtpopulation und in den Subgruppen	42
16	Rangkorrelationstest nach Spearman zwischen den klinischen Parametern und der Konzentration von Surfactant Protein-D und der Matrixmetalloproteinase-8	42

Tabellenverzeichnis

1	Anzahl der Teilnehmer mit gültigen Werten (Anzahl der fehlenden einzelnen Werte + Anzahl Drop-Out zum 2.Recall)	26
2	Demografische Charakteristika der Teilnehmer Initial und zum 2.Recall (Daten in Anzahl (%) oder als Mittelwerte \pm SD)	27
3	Median [IQA] der Sondierungstiefe (mm). Wilcoxon-Test: signifikante Veränderung der Sondierungstiefe von Initial zum 2.Recall	28
4	Median [IQA] der Blutung auf Sondierung. Wilcoxon-Test: signifikante Veränderung der Blutung auf Sondierung von Initial zum 2.Recall	29
5	Mittelwert \pm SD des Plaque-Index. T-Test für abhängige Stichproben: signifikante Veränderung des Plaque-Index von Initial zum 2.Recall	30
6	Anzahl der Teilnehmer mit positivem bzw. negativem Bakteriennachweis Initial und zum 2.Recall (n/% Gesamtprozentsätze)	31
7	Anzahl der Teilnehmer mit positivem bzw. negativem Bakteriennachweis Initial und zum 2.Recall (n/% Zeilenprozentsätze)	33
8	Anzahl der Teilnehmer mit positivem bzw. negativem Bakteriennachweis Initial und zum 2.Recall (n/% Zeilenprozentsätze)	34
9	Anzahl der Teilnehmer mit positivem bzw. negativem Bakteriennachweis Initial und zum 2.Recall (n/% Zeilenprozentsätze)	35
10	Anzahl der Teilnehmer mit positivem bzw. negativem Bakteriennachweis Initial und zum 2.Recall (n/% Zeilenprozentsätze)	37
11	Anzahl der Teilnehmer mit positivem bzw. negativem Bakteriennachweis Initial und zum 2.Recall (n/% Zeilenprozentsätze)	38

12	Anzahl der Teilnehmer mit positivem bzw. negativem Bakteriennachweis Initial und zum 2.Recall (n/% Zeilenprozentätze)	39
13	Median [IQA] der Matrixmetalloproteinase-8 Konzentration (ng/ml). Wilcoxon-Test: signifikante Veränderung der Konzentration von Initial zum 2.Recall .	40
14	Median [IQA] der Surfactant Protein-D Konzentration (ng/ml). Wilcoxon-Test: signifikante Veränderung der Konzentration von Initial zum 2.Recall .	41
15	Mann-Withney-U-Test: Vergleich von SP-D, MMP-8, ST, BOP und Plaque über die Kategorie Bakteriennachweis zum initialen Zeitpunkt. Kruskal-Wallis-Test: Vergleich der Delta-Variablen SP-D, MMP-8, ST, BOP und Plaque über die Kategorie Bakteriennachweis	43

Literaturverzeichnis

- Alfakry, H., E. Malle, C. Koyani, P. Pussinen, and T. Sorsa (2015, 11). Neutrophil proteolytic activation cascades: A possible mechanistic link between chronic periodontitis and coronary heart disease. *Innate immunity* 22.
- Aquilante, C., A. Beitelshes, and I. Zineh (2007, 05). Correlates of serum matrix metalloproteinase-8 (mmp-8) concentrations in nondiabetic subjects without cardiovascular disease. *Clinica chimica acta; international journal of clinical chemistry* 379, 48–52.
- Armitage, G. (1999, 12). Development of a classification system for periodontal diseases and conditions. *Northwest dentistry* 79, 31–5.
- Becker, W., B. Becker, and L. Berg (1984, 10). Periodontal treatment without maintenance: A retrospective study in 44 patients. *Journal of periodontology* 55, 505–9.
- Beikler, T., K. H.-F. T. (2005, 12). Mikrobiologische diagnostik in der parodontitistherapie; gemeinsame stellungnahme der deutschen gesellschaft für parodontologie (dgp) und der deutschen gesellschaft für zahn-, mund- und kieferkrankheiten (dgzmk). *Deutsche Zahnärztliche Zeitung*, 660–662.
- Bergström, J. and L. Boström (2001, 08). Tobacco smoking and periodontal hemorrhagic responsiveness. *Journal of clinical periodontology* 28, 680–5.
- Bergström, J. and H. Preber (1994, 05). Tobacco use as a risk factor. *Journal of periodontology* 65, 545–550.
- Biddle, A., R. Palmer, R. Wilson, and T. Watts (2001, 09). Comparison of the validity of periodontal probing measurements in smokers and non-smokers. *Journal of clinical periodontology* 28, 806–12.
- Birkedal-Hansen, H. (1993, 06). Role of matrix metalloproteinases in human periodontal diseases*. *Journal of periodontology* 64, 474–84.
- Bishop, C., T. Economist, and I. Unit (2021, 4). Time to take gum disease seriously: The societal and economic impact of periodontitis. *The Economist*.
- Borujeni, S., M. Mayer, and P. Eickholz (2015, 04). Activated matrix metalloproteinase-8 in saliva as diagnostic test for periodontal disease? a case-control study. *Medical microbiology and immunology* 204.
- Bräuer, L., M. Schicht, C. Stengl, F. Heinemann, W. Götz, M. Scholz, and F. Paulsen (2012, 02). Detection of surfactant proteins a, b, c, and d in human gingiva and saliva. *Biomedizinische Technik. Biomedical engineering* 57, 59–64.
- Buduneli, N. (2019, 01). Biomarkers in saliva and serum samples for periodontal disease and interactions with systemic health. *Current Oral Health Reports* 6.

- Bumm, C. V. (2018, Oktober). Prostaglandin e2 und matrixmetalloproteinase-8 in der gingivalen sulkusfluessigkeit von patienten nach einer nicht-chirurgischen therapie der chronischen parodontitis. *Ludwig-Maximilians-Universitaet Muenchen*, 10.5282/edoc.22987.
- Chapple, I. (2019, 3). 01. periodontal health and gingivitis. guidance for clinicians. *European Federation of Periodontology*.
- Chapple, I. and R. Genco (2013, 04). Diabetes and periodontal diseases: Consensus report of the joint efp/aap workshop on periodontitis and systemic diseases. *Journal of periodontology* 84, S106–12.
- Chapple, I., B. Mealey, T. Van Dyke, P. Bartold, H. Dommisch, P. Eickholz, M. Geisinger, R. Genco, M. Glogauer, M. Goldstein, P. Holmstrup, G. Johnson, Y. Kapila, N. Lang, J. Meyle, S. Murakami, J. Plemons, G. Romito, and H. Yoshie (2018, 06). Periodontal health and gingival diseases and conditions on an intact and a reduced periodontium: Consensus report of workgroup 1 of the 2017 world workshop on the classification of periodontal and peri-implant diseases and conditions. *Journal of Periodontology* 89, S74–S84.
- Chapple, I., F. Weijden, C. Dörfer, D. Herrera, L. Shapira, D. Polak, P. Madianos, A. Louropoulou, E. Machtei, N. Donos, H. Greenwell, A. Winkelhoff, B. Kuru, N. Arweiler, W. Teughels, M. Aimetti, A. Molina, E. Montero, and F. Graziani (2015, 01). Primary prevention of periodontitis: Managing gingivitis. *Journal of Clinical Periodontology* 42.
- Chaves, E., M. Jeffcoat, C. Ryerson, and B. Snyder (2001, 01). Persistent bacterial colonization of porphyromonas gingivalis, prevotella intermedia, and actinobacillus actinomycetemcomitans in periodontitis and its association with alveolar bone loss after 6 months of therapy. *Journal of clinical periodontology* 27, 897–903.
- Cionca, N., C. Giannopoulou, G. Ugolotti, and A. Mombelli (2010, 01). Microbiologic testing and outcomes of full-mouth scaling and root planing with or without amoxicillin/metronidazole in chronic periodontitis. *Journal of periodontology* 81, 15–23.
- Cobb, C. (2002, 06). Clinical significance of non-surgical periodontal therapy: An evidence-based perspective of scaling and root planing. *Journal of clinical periodontology* 29 Suppl 2, 6–16.
- Cobb, C. M. (1996). Non-surgical pocket therapy: Mechanical. *Annals of Periodontology* 1(1), 443–490.
- Crouch, E. (1998, 09). Collectins and pulmonary host defense. *American journal of respiratory cell and molecular biology* 19, 177–201.
- Crouch, E. (2000, 02). Surfactant protein-d and pulmonary host defense. *Respiratory research* 1, 93–108.
- Cugini, M., A. Haffajee, C. Smith, R. Kent, and S. Socransky (2000, 01). The effect of scaling and root planing on the clinical and microbiological parameters of periodontal diseases: 12-month results. *Journal of clinical periodontology* 27, 30–6.
- Dahlén, G., A. Basic, and J. Bylund (2019, 08). Importance of virulence factors for the persistence of oral bacteria in the inflamed gingival crevice and in the pathogenesis of periodontal disease. *Journal of Clinical Medicine* 8, 1339.
- D’Aiuto, F., L. Nibali, M. Parkar, J. Suvan, and M. Tonetti (2005, 04). Short-term effects of intensive periodontal therapy on serum inflammatory markers and cholesterol. *Journal of dental research* 84, 269–73.

- D’Aiuto, F., M. Orlandi, and J. Gunsolley (2013, 04). Evidence that periodontal treatment improves biomarkers and cvd outcomes. *Journal of periodontology* 84, S85–S105.
- D’Aiuto, F., M. Parkar, L. Nibali, J. Suvan, J. Lessem, and M. Tonetti (2006, 06). Periodontal infections cause changes in traditional and novel cardiovascular risk factors: Results from a randomized controlled clinical trial. *American heart journal* 151, 977–84.
- Dannewitz, B., C. Sommerer, P. Stölzel, S. Baid-Agrawal, J. Nadal, B. Bärthlein, C. Wanner, K.-U. Eckardt, M. Zeier, U. Schlagenhaut, V. Krane, and Y. Jockel-Schneider (2019, 10). Status of periodontal health in german patients suffering from chronic kidney disease - data from gckd study. *Journal of Clinical Periodontology* 47.
- Darveau, R. (2010, 07). Periodontitis: A polymicrobial disruption of host homeostasis. *Nature reviews. Microbiology* 8, 481–90.
- Davé, S. and T. Van Dyke (2008, 04). The link between periodontal disease and cardiovascular disease is probably inflammation. *Oral diseases* 14, 95–101.
- Delima, S., R. McBride, P. Preshaw, P. Heasman, and P. Kumar (2010, 07). Response of subgingival bacteria to smoking cessation. *Journal of clinical microbiology* 48, 2344–9.
- Demmer, R., L. Trinquart, A. Zuk, B. Fu, J. Blomkvist, B. Michalowicz, P. Ravaut, and M. Desvarieux (2013, 10). The influence of anti-infective periodontal treatment on c-reactive protein: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *PloS one* 8, e77441.
- Drisko, C. (2001, 02). Nonsurgical periodontal therapy. *Periodontology 2000* 25, 77–88.
- Duarte, P., M. Rocha, E. Sampaio, M. Mestnik, M. Feres, L. Figueiredo, M. Bastos, and M. Faveri (2010, 03). Serum levels of cytokines in subjects with generalized chronic and aggressive periodontitis before and after non-surgical periodontal therapy: A pilot study. *Journal of periodontology* 81, 1056–63.
- Ebersole, J., R. Nagarajan, D. Akers, and C. Miller (2015, 09). Targeted salivary biomarkers for discrimination of periodontal health and disease(s). *Frontiers in cellular and infection microbiology* 5, 62.
- Ehmke, B., A. Moter, T. Beikler, E. Milian, and T. Flemmig (2005, 05). Adjunctive antimicrobial therapy of periodontitis: Long-term effects on disease progression and oral colonization. *Journal of periodontology* 76, 749–59.
- Eley, B. M. and S. W. Cox (2003). Proteolytic and hydrolytic enzymes from putative periodontal pathogens: characterization, molecular genetics, effects on host defenses and tissues and detection in gingival crevice fluid. *Periodontology 2000* 31(1), 105–124.
- Emingil, G., B. Afacan, T. Tervahartiala, H. Töz, G. Atilla, and T. Sorsa (2008, 11). By mistakes we learn: Determination of matrix metalloproteinase-8 and tissue inhibitor of matrix metalloproteinase-1 in serum yields doubtful results. *Journal of clinical periodontology* 35, 1087–8.
- Engvall, E. and P. Perlmann (1971, 10). Enzyme-linked immunosorbent assay (elisa). quantitative assay of immunoglobulin g. *Immunochemistry* 8, 871–4.
- European Commission, D. R. B. (2010, 06). Stratification biomarkers in personalised medicine. *European Commission Health Research*.

- Faddy, M., M. Cullinan, J. Palmer, B. Westerman, and G. Seymour (2000, 03). Ante-dependence modeling in a longitudinal study of periodontal disease: The effect of age, gender, and smoking status. *Journal of periodontology* 71, 454–9.
- FDA-NIH, B. W. G. (2016, 04). Best (biomarkers, endpoints, and other tools) resource. *Silver Spring (MD): Food and Drug Administration (US); 2016-. Co-published by National Institutes of Health (US), Bethesda (MD)*.
- Fine, D., J. Kaplan, S. Kachlany, and H. Schreiner (2006, 01). How we got attached to actinobacillus actinomycetemcomitans: A model for infectious diseases. *Period-Ontol 2006*, 114–157.
- Fischman, S. (1986, 06). Current status of plaque indices. *Journal of clinical periodontology* 13, 371–4, 379.
- Fisher, J. and R. Mason (1995, 02). Fisher jh, mason reexpression of pulmonary surfactant protein d in rat gastric mucosa. *am j respir cell mol biol* 12:13-18. *American journal of respiratory cell and molecular biology* 12, 13–8.
- Flemmig, T., E. Milian, H. Karch, and B. Klaiber (1998, 05). Differential clinical treatment outcome after systemic metronidazole and amoxicillin in patients harboring actinobacillus actinomycetemcomitans and/or porphyromonas gingivalis. *Journal of clinical periodontology* 25, 380–7.
- Folwaczny, M. and R. Hickel (2003). Biofilm – problem oder perspektive? *Deutsche Zahnärztliche Zeitschrift* 12, 648–659.
- Fowler, C., S. Garrett, M. Crigger, and J. Egelberg (1982, 10). Histologic probe position in treated and untreated periodontal tissues. *Journal of Clinical Periodontology* 9, 373 – 385.
- Genco, R. and W. Borgnakke (2013, 06). Risk factors for periodontal disease. *Periodontology 2000* 62, 59–94.
- Gerlach, R., J. Uzuelli, C. Souza-Tarla, and J. Tanus-Santos (2005, 10). Effect of anticoagulants on plasma matrix metalloproteinase (mmp)-2 and mmp-9 activities. *Analytical biochemistry* 344, 147–9.
- Geurs, N., V. Iacono, J. Krayner, B. Mealey, D. Paquette, B. Pearson, P. Rosen, R. Sabatini, and M. Schweinebraten (2015, 07). American academy of periodontology task force report on the update to the 1999 classification of periodontal diseases and conditions. *Journal of Periodontology* 86, 835–838.
- Glas, J., V. Beynon, B. Bachstein, J. Steckenbiller, V. Manolis, A. Euba, B. Müller-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(1), 21–28.
- Gmür, R., J. Strub, and B. Guggenheim (1989, 04). Prevalence of bacteroides forsythus and bacteroides gingivalis in subgingival plaque of prosthodontically treated patients on short recall. *Journal of periodontal research* 24, 113–20.
- Goerke, J. (1998, 12). Pulmonary surfactant: functions and molecular composition. *biochimica et biophysica acta* 1408:79-89. *Biochimica et biophysica acta* 1408, 79–89.

- Goodson, J., A. Haffajee, S. Socransky, R. Kent, R. Teles, H. Hasturk, A. Bogren, T. Van Dyke, J. Wennstrom, and J. Lindhe (2012, 02). Control of periodontal infections: a randomized controlled trial i. the primary outcome attachment gain and pocket depth reduction at treated sites. *Journal of clinical periodontology* 39, 526–36.
- Graetz, C., K. Fawzy El-Sayed, S. Sälzer, and C. Dörfer (2018, 12). S3-leitlinie. häusliches mechanisches biofilmmangement in der prävention und therapie der gingivitis. *Arbeitsgemeinschaft der Wissenschaftlichen Medizinischen Fachgesellschaften (AWMF)-Ständige Kommission Leitlinien. AWMF-Registernummer: 083-022*.
- Graves, D., Y. Jiang, and C. Genco (2000). Periodontal disease: bacterial virulence factors, host response and impact on systemic health. *Curr Opin Infect Dis.* 13, 227–232.
- Greenstein, G. and I. Lamster (2000, 05). Efficacy of periodontal therapy: Statistical versus clinical significance. *Journal of periodontology* 71, 657–62.
- Griffiths, G. (2003, 02). Formation, collection and significance of gingival crevice fluid. *Periodontology 2000* 31, 32–42.
- Grossi, S., J. Zambon, A. Ho, G. Koch, R. Dunford, E. Machtei, O. Norderyd, and R. Genco (1994, 04). Assessment of risk for periodontal disease. i. risk indicators for attachment loss. *Journal of periodontology* 65, 260–7.
- Guan, S.-M., L. Shu, S.-M. Fu, B. Liu, X.-L. Xu, and J.-Z. Wu (2009, 09). Prevotella intermedia upregulates mmp-1 and mmp-8 expression in human periodontal ligament cells. *FEMS microbiology letters* 299, 214–22.
- Guentsch, A., M. Kramesberger, A. Sroka, W. Pfister, J. Potempa, and S. Eick (2011, 07). Comparison of gingival crevicular fluid sampling methods in patients with severe chronic periodontitis. *Journal of periodontology* 82, 1051–60.
- Haffajee, A., M. Cugini, S. Dibart, C. Smith, R. Kent, and S. Socransky (1997, 05). The effect of srp on the clinical and microbiological parameters of periodontal disease. *Journal of clinical periodontology* 24, 324–34.
- Haffajee, A. and S. Socransky (2006, 02). Introduction to microbial aspects of periodontal biofilm communities, development and treatment. *Periodontology 2000* 42, 7–12.
- Haffajee, A., S. Socransky, and J. Goodson (1983, 06). Clinical parameters as predictors of destructive periodontal disease activity j. *Journal of clinical periodontology* 10, 257–65.
- Haffajee, A., R. Teles, and S. Socransky (2006, 02). The effect of periodontal therapy on the composition of the subgingival microbiota. *Periodontology 2000* 42, 219–58.
- Hagenfeld, D., R. Koch, S. Jünemann, K. Prior, I. Harks, P. Eickholz, T. Hoffmann, T.-S. Kim, T. Kocher, J. Meyle, D. Kaner, U. Schlagenhaut, B. Ehmke, and D. Harmsen (2018, 04). Do we treat our patients or rather periodontal microbes with adjunctive antibiotics in periodontal therapy? a 16s rdna microbial community analysis. *PloS one* 13, e0195534.
- Hajishengallis, G. (2014, 12). Periodontitis: From microbial immune subversion to systemic inflammation. *Nature reviews. Immunology* 15, 30–44.
- Hajishengallis, G., R. Darveau, and M. Curtis (2012, 09). The keystone pathogen hypothesis. *Nature reviews. Microbiology* 10, 717–25.

- Hang, L. and C. Douglass (2002, 12). Meta-analysis of the effect of scaling and root planing, surgical treatment and antibiotic therapies on periodontal probing depth and attachment loss. *Journal of clinical periodontology* 29, 975–86.
- Hartl, D. and M. Griese (2006, 06). Surfactant protein d in human lung diseases. *European Journal of Clinical Investigation* 36, 423 – 435.
- Hasturk, H. and A. Kantarci (2015, 10). Activation and resolution of periodontal inflammation and its systemic impact. *Periodontology 2000* 69.
- Heasman, L., F. Stacey, P. Preshaw, G. McCracken, S. Hepburn, and P. Heasman (2006, 05). The effect of smoking on periodontal treatment response: A review of clinical evidence. *Journal of clinical periodontology* 33, 241–53.
- Heitz-Mayfield, L., L. Trombelli, F. Heitz, I. Needleman, and D. Moles (2002, 12). A systematic review of the effect of surgical debridement vs non-surgical debridement for the treatment of chronic periodontitis. *Journal of clinical periodontology* 29 Suppl 3, 92–102; discussion 160.
- Hernández, M., J. Gamonal, T. Tervahartiala, P. Mäntylä, O. Rivera, A. Dezerega, N. Dutzan, and T. Sorsa (2010, 11). Associations between matrix metalloproteinase-8 and -14 and myeloperoxidase in gingival crevicular fluid from subjects with progressive chronic periodontitis: A longitudinal study. *Journal of periodontology* 81, 1644–52.
- Hill, J., C. Heslop, S. P. Man, J. Frohlich, J. E. Connett, N. R. Anthonisen, R. A. Wise, D. P. Tashkin, and D. D. Sin (2011, 06). Circulating surfactant protein-D and the risk of cardiovascular morbidity and mortality. *European Heart Journal* 32, 1918–1925.
- Hobbins, S., I. Chapple, E. Sapey, and R. Stockley (2017, 05). Is periodontitis a comorbidity of copd or can associations be explained by shared risk factors/behaviors? *International Journal of Chronic Obstructive Pulmonary Disease Volume 12*, 1339–1349.
- Holmskov, U., S. Thiel, and J. Jensenius (2003, 02). Collectins and ficolins: Humoral lectins of the innate immune defense. *Annual review of immunology* 21, 547–78.
- Holt, S., L. Kesavalu, S. Walker, and C. Genco (1999, 07). Virulence factors of porphyromonas gingivalis. *Periodontology 2000* 20, 168–238.
- Honda, Y., Y. Kuroki, E. Matsuura, H. Nagae, H. Takahashi, T. Akino, and S. Abe (1996, 01). Pulmonary surfactant protein d in sera and bronchoalveolar lavage fluids. *American journal of respiratory and critical care medicine* 152, 1860–6.
- Hoppe, H. and K. Reid (1994, 08). Collectins—soluble proteins containing collagenous regions and lectin domains—their roles in innate immunity. *Protein Science* 3, 1143 – 1158.
- Inoue, T., E. Matsuura, A. Nagata, Y. Ogasawara, A. Hattori, Y. Kuroki, S. Fujimoto, and T. Akino (1994, 08). Enzyme-linked immunosorbent assay for human pulmonary surfactant d. *Journal of immunological methods* 173, 157–64.
- Ishihara, K. (2010, 10). Virulence factors of treponema denticola. *Periodontology 2000* 54, 117–35.
- Iyer, R., N. Patterson, G. Fields, and M. Lindsey (2012, 08). The history of matrix metalloproteinases: Milestones, myths, and misperceptions. *American journal of physiology. Heart and circulatory physiology* 303, H919–30.

- Jervøe-Storm, P.-M., H. Alahdab, M. Koltzsch, R. Fimmers, and S. Jepsen (2007a, 06). Comparison of curet and paper point sampling of subgingival bacteria as analyzed by real-time polymerase chain reaction. *Journal of periodontology* 78, 909–17.
- Jervøe-Storm, P.-M., H. Alahdab, M. Koltzsch, R. Fimmers, and S. Jepsen (2007b, 06). Comparison of curet and paper point sampling of subgingival bacteria as analyzed by real-time polymerase chain reaction. *Journal of periodontology* 78, 909–17.
- Jia, L., N. Han, J. Du, L. Guo, Z. Luo, and Y. Liu (2019, 07). Pathogenesis of important virulence factors of porphyromonas gingivalis via toll-like receptors. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology* 9.
- Jockel-Schneider, Yvonne, P.-B. E. B. S. U. (2018, 11). S3-leitlinien. adjuvante systemische antibiotikagabe bei subgingivaler instrumentierung im rahmen der systemischen parodontitistherapie. *Arbeitsgemeinschaft der Wissenschaftlichen Medizinischen Fachgesellschaften (AWMF)-Ständige Kommission Leitlinien. AWMF-Registernummer: 083-029*.
- Johansson, A. and G. Dahlén (2018, 01). *Bacterial Virulence Factors that Contribute to Periodontal Pathogenesis*, pp. 31–49.
- Jordan, R., C. Bodechtel, K. Hertrampf, T. Hoffmann, T. Kocher, I. Nitschke, U. Schiffner, H. Stark, S. Zimmer, and W. Micheelis (2014, 12). The fifth german oral health study (fünfte deutsche mundgesundheitsstudie, dms v) – rationale, design, and methods. *BMC oral health* 14, 161.
- Jung, K. and M. Lein (2008, 12). By mistakes we learn: Determination of matrix metalloproteinase-8 and tissue inhibitor of matrix metalloproteinase-1 in serum yields doubtful results. *Journal of clinical periodontology* 36, 34–5; author reply 36.
- Kaldahl, W., G. Johnson, K. Patil, and K. Kalkwarf (1996, 07). Levels of cigarette consumption and response to periodontal therapy. *Journal of periodontology* 67, 675–81.
- Kebschull, Moritz, H. L.-J. H. (2019, 10). S3-leitlinien. subgingivale instrumentierung. *Arbeitsgemeinschaft der Wissenschaftlichen Medizinischen Fachgesellschaften (AWMF)-Ständige Kommission Leitlinien. AWMF-Registernummer: 083-030*.
- Kiili, M., S. Cox, H. Chen, J. Wahlgren, P. Maisi, B. Eley, T. Salo, T. Sorsa, and H. Chen (2002, 03). Collagenase-2 (mmp-8) and collagenase-3 (mmp-13) in adult periodontitis: Molecular forms and levels in gingival crevicular fluid and immunolocalisation in gingival tissue. *Journal of clinical periodontology* 29, 224–32.
- Kinane, D., M. Peterson, and P. Stathopoulou (2006, 02). Environmental and other modifying factors of the periodontal disease. *Periodontology 2000* 40, 107–19.
- Kinane, D., P. Stathopoulou, and P. Papapanou (2017, 06). Periodontal diseases. *Nature Reviews Disease Primers* 3, 17038.
- Kishore, U., T. Greenhough, P. Waters, A. Shrive, R. Ghai, M. Kamran, A. Bernal, K. Reid, T. Madan, and T. Chakraborty (2006, 04). Surfactant proteins sp-a and sp-d: Structure, function and receptors. *Molecular immunology* 43, 1293–315.
- Klein, T. and R. Bischoff (2011, 07). Physiology and pathophysiology of matrix metalloproteases. *Amino acids* 41, 271–90.

- Knäuper, V., A. Osthues, Y. DeClerck, K. Langley, J. Bläser, and H. Tschesche (1993, 06). Fragmentation of polymorphonuclear leucocyte collagenase. *The Biochemical journal* 291 (Pt 3), 847–54.
- Koch, R. (1932, 03). Die Ätiologie der tuberkulose. *Berliner Klinischen Wochenschrift* 19.
- Kolenbrander, P., R. Palmer, A. Rickard, N. Jakubovics, N. Chalmers, and P. Diaz (2006, 02). Bacterial interactions and successions during plaque development. *Periodontology* 2000 42, 47–79.
- Konopka, u., A. Pietrzak, and E. Brzezinska-Blaszczyk (2012, 04). Effect of scaling and root planing on interleukin-1 β , interleukin-8 and mmp-8 levels in gingival crevicular fluid from chronic periodontitis patients. *Journal of periodontal research* 47, 681–8.
- Konstantinou, G. (2017, 03). Enzyme-linked immunosorbent assay (elisa). *Methods in Molecular Biology* 1592, 79–94.
- Lang, N., R. Adler, A. Joss, and S. Nyman (1990, 12). Absence of bleeding on probing. an indicator of periodontal stability. *Journal of clinical periodontology* 17, 714–21.
- Lang, N., A. Joss, T. Orsanic, F. Gusberti, and B. Siegrist (1986, 08). Bleeding on probing-a predictor for the progression of periodontal disease. *Journal of clinical periodontology* 13, 590–6.
- Lang, N. P., S. Nyman, C. Senn, and A. Joss (1991). Bleeding on probing as it relates to probing pressure and gingival health. *Journal of Clinical Periodontology* 18(4), 257–261.
- Lange, D. E. (1981). Parodontologie in der täglichen praxis, quintessenz bibliothek. pp. 442.
- Lauhio, A., E. Färkkilä, K. Pietiläinen, P. Åström, A. Winkelmann, T. Tervahartiala, E. Pirilä, A. Rissanen, J. Kaprio, T. Sorsa, and T. Salo (2016, 06). Association of mmp-8 with obesity, smoking and insulin resistance. *European Journal of Clinical Investigation* 46.
- Lenglet, S., F. Mach, and F. Montecucco (2013, 01). Role of matrix metalloproteinase-8 in atherosclerosis. *Mediators of inflammation* 2013, 659282.
- Leppilahti, J. M., P. A. Hernández-Ríos, J. A. Gamonal, T. Tervahartiala, R. Brignardello-Petersen, P. Mantyla, T. Sorsa, and M. Hernández (2014). Matrix metalloproteinases and myeloperoxidase in gingival crevicular fluid provide site-specific diagnostic value for chronic periodontitis. *Journal of Clinical Periodontology* 41, 348–356.
- Leth-Larsen, R., C. Nordenbaek, I. Tornoe, V. Moeller, A. Schlosser, C. Koch, B. Teisner, P. Juncker, and U. Holmskov (2003, 08). Surfactant protein d (sp-d) serum levels in patients with community-acquired pneumonia. *Clinical immunology (Orlando, Fla.)* 108, 29–37.
- Linden, G., M. Herzberg, M. Bartold, M. Glick, M. Herzberg, F. Hughes, P. Holmstrup, G. Linden, A. Mariotti, M. Quirynen, F. Scannapieco, A. J. van Winkelhoff, and A. Ortiz-Vigón (2013, 04). Periodontitis and systemic diseases: A record of discussions of working group 4 of the joint efp/aap workshop on periodontitis and systemic diseases. *Journal of clinical periodontology* 40 Suppl 14, S20–3.
- Lindhe, J., E. Westfelt, S. Nyman, S. Socransky, and A. Haffajee (1984, 09). Long-term effect of surgical non-surgical treatment of periodontal. *Journal of clinical periodontology* 11, 448–58.

- Lindsey, M. and R. Zamilpa (2012, 02). Temporal and spatial expression of matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases following myocardial infarction. *Cardiovascular therapeutics* 30, 31–41.
- Liu, K.-Z., A. Hynes, A. Man, A. Alsagheer, D. Singer, and D. Scott (2006, 08). Increased local matrix metalloproteinase-8 expression in the periodontal connective tissues of smokers with periodontal disease. *Biochimica et biophysica acta* 1762, 775–80.
- Lomas, D., E. Silverman, L. Edwards, N. Locantore, B. Miller, D. Horstman, and R. Tal-Singer (2009, 04). Serum surfactant protein d is steroid sensitive and associated with exacerbations of copd. *The European respiratory journal : official journal of the European Society for Clinical Respiratory Physiology* 34, 95–102.
- Loos, B. (2005, 12). Loos, b. g. systemic markers of inflammation in periodontitis. j. periodontol. 76, 2106-2115. *Journal of periodontology* 76, 2106–15.
- Madsen, J., A. Kliem, I. Tornoe, K. Skjodt, C. Koch, and U. Holmskov (2000, 07). Localization of lung surfactant protein d on mucosal surfaces in human tissues. *Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)* 164, 5866–70.
- Marcaccini, A., C. Meschiari, C. Sorgi, M. Pereira Saraiva, A. Souza, L. H. Faccioli, J. Tanus-Santos, A. Novaes-Jr, and R. Gerlach (2009, 05). Circulating interleukin-6 and high-sensitivity c-reactive protein decrease after periodontal therapy in otherwise healthy subjects. *Journal of periodontology* 80, 594–602.
- Marcaccini, A., C. Meschiari, L. Zuardi, T. Sousa, M. Taba, Jr, J. Teofilo, A. Jacob-Ferreira, J. Tanus-Santos, A. Novaes-Jr, and R. Gerlach (2009, 12). Gingival crevicular fluid levels of mmp-8, mmp-9, timp-2, and mpo decrease after periodontal therapy. *Journal of Clinical Periodontology* 37, 180 – 190.
- Marcaccini, A., A. Novaes-Jr, C. Meschiari, S. Scombatti de Souza, D. Palioto, C. Sorgi, L. H. Faccioli, J. Tanus-Santos, and R. Gerlach (2009, 09). Circulating matrix metalloproteinase-8 (mmp-8) and mmp-9 are increased in chronic periodontal disease and decrease after non-surgical periodontal therapy. *Clinica chimica acta, international journal of clinical chemistry* 409, 117–22.
- Marthaler, T. (1986, 05). Discussion: Current status of indices of plaque. *Journal of Clinical Periodontology* 13, 379–380.
- McIntosh, J., A. Swyers, J. Fisher, and J. Wright (1996, 11). Surfactant proteins a and d increase in response to intratracheal lipopolysaccharide. *American journal of respiratory cell and molecular biology* 15, 509–19.
- Meisel, P. and P. Eickholz (2016, 02). Parodontitis-diagnostik mit dem entzündungsmarker mmp-8. *Deutsche Gesellschaft für Parodontologie (DG PARO), Deutsche Gesellschaft für Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde (DGZMK)*.
- Müllhardt, C. (2009, 01). Der experimentator: Molekularbiologie/ genomics. *Springer Nature*.
- Mäntylä, P., M. Stenman, D. Kinane, T. Salo, K. Suomalainen, S. Tikanoja, and T. Sorsa (2007, 01). Monitoring periodontal disease status in smokers and non-smokers using a gingival crevicular fluid matrix metalloproteinase-8 (mmp-8) specific chair-side test. *Journal of periodontal research* 41, 503–12.

- Moazed, F., E. Burnham, B. Vandivier, C. O’Kane, M. Shyamsundar, U. Hamid, J. Abbott, D. Thickett, M. Matthay, D. McAuley, and C. Calfee (2016, 02). Cigarette smokers have exaggerated alveolar barrier disruption in response to lipopolysaccharide inhalation. *Thorax* 71.
- Mombelli, A. (2005, 02). Clinical parameters: Biological validity and clinical utility. *Periodontology 2000* 39, 30–9.
- Mombelli, A., N. Cionca, A. Almaghlouth, F. Décaillet, D. Courvoisier, and C. Giannopoulou (2013, 06). Are there specific benefits of amoxicillin plus metronidazole in aggregatibacter actinomycetemcomitans-associated periodontitis? double-masked, randomized clinical trial of efficacy and safety. *Journal of periodontology* 84, 715–24.
- Mombelli, A., B. Schmid, A. Rutar, and N. Lang (2000, 02). Persistence patterns of porphyromonas gingivalis, prevotella intermedia/ nigrescens, and actinobacillus actinomycetemcomitans after mechanical therapy of periodontal disease. *Journal of periodontology* 71, 14–21.
- Moore, W. and L. Moore (1994, 07). The bacteria of periodontal disease. *Periodontology 2000* 5, 66–77.
- Morozumi, T., A. Yashima, K. Gomi, Y. Ujiie, Y. Izumi, T. Akizuki, K. Mizutani, H. Takamatsu, M. Minabe, S. Miyauchi, T. Yoshino, M. Tanaka, Y. Tanaka, T. Hokari, and H. Yoshie (2018, 03). Increased systemic levels of inflammatory mediators following one-stage full-mouth scaling and root planing. *Journal of Periodontal Research* 53.
- Nagae, H., H. Takahashi, Y. Kuroki, Y. Honda, A. Nagata, Y. Ogasawara, S. Abe, and T. Akino (1997, October). Enzyme-linked immunosorbent assay using f(ab)₂ fragment for the detection of human pulmonary surfactant protein d in sera. *Clinica chimica acta; international journal of clinical chemistry* 266(2), 157–171.
- Nayak, A., E. Dodagatta-Marri, A. Tsolaki, and U. Kishore (2012, 06). An insight into the diverse roles of surfactant proteins, sp-a and sp-d in innate and adaptive immunity. *Frontiers in immunology* 3, 131.
- Nizam, N., P. Meric Gumus, J. Pitkänen, T. Tervahartiala, T. Sorsa, and N. Buduneli (2014, 05). Serum and salivary matrix metalloproteinases, neutrophil elastase, myeloperoxidase in patients with chronic or aggressive periodontitis. *Inflammation* 37.
- Noack, B., T. Kipping, T. Tervahartiala, T. Sorsa, T. Hoffmann, and K. Lorenz (2017, 03). Association between serum and oral matrix metalloproteinase-8 levels and periodontal health status. *Journal of periodontal research* 52.
- Nociti Jr, F. H., M. Z. Casati, and P. M. Duarte (2015). Current perspective of the impact of smoking on the progression and treatment of periodontitis. *Periodontology 2000* 67(1), 187–210.
- Offenbacher, S., J. Beck, K. Moss, L. Mendoza, D. Paquette, D. Barrow, D. Couper, D. Stewart, K. Falkner, S. Graham, S. Grossi, J. Gunsolley, T. Madden, G. Maupomé, M. Trevisan, T. Van Dyke, and R. Genco (2009, 02). Results from the periodontitis and vascular events (pave) study: A pilot multicentered, randomized, controlled trial to study effects of periodontal therapy in a secondary prevention model of cardiovascular disease. *Journal of periodontology* 80, 190–201.
- Ozcaka, O., N. Biçakci, P. Pussinen, T. Sorsa, T. Köse, and N. Buduneli (2011, 01). Smoking and matrix metalloproteinases, neutrophil elastase and myeloperoxidase in chronic periodontitis. *Oral diseases* 17, 68–76.

- Page, R. (1999, 11). Milestones in periodontal research and the remaining critical issues. *Journal of periodontal research* 34, 331–9.
- Palm, F., L. Lahdentausta, T. Sorsa, T. Tervahartiala, P. Gokel, F. Buggle, A. Safer, H. Becher, A. Grau, and P. Pussinen (2013, 09). Biomarkers of periodontitis and inflammation in ischemic stroke: A case-control study. *Innate immunity* 20.
- Papapanou, P. N., M. Sanz, N. Buduneli, T. Dietrich, M. Feres, D. H. Fine, T. F. Flemmig, R. Garcia, W. V. Giannobile, F. Graziani, H. Greenwell, D. Herrera, R. T. Kao, M. Kerschull, D. F. Kinane, K. L. Kirkwood, T. Kocher, K. S. Kornman, P. S. Kumar, B. G. Loos, E. Machtei, H. Meng, A. Mombelli, I. Needleman, S. Offenbacher, G. J. Seymour, R. Teles, and M. S. Tonetti (2018). Periodontitis: Consensus report of workgroup 2 of the 2017 world workshop on the classification of periodontal and peri-implant diseases and conditions. *Journal of Clinical Periodontology* 45(S20), S162–S170.
- Paraskevas, S., J. Huizinga, and B. Loos (2008, 04). A systemic review and meta-analyses on c-reactive protein in relation to periodontitis. *Journal of clinical periodontology* 35, 277–90.
- Paulie, S. and H. Perlmann (2016, 01). *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*, pp. 1–5.
- Persson, L., J. Bergström, and A. Gustafsson (2003, 11). Effect of tobacco smoking on neutrophil activity following periodontal surgery. *Journal of periodontology* 74, 1475–82.
- Pihlstrom, B., B. S Michalowicz, and N. Johnson (2005, 12). The periodontal diseases. *Lancet* 366, 1809–20.
- Preber, H. and J. Bergström (1986, 05). Effect of non-surgical treatment on gingival bleeding in smokers and non-smokers. *Acta odontologica Scandinavica* 44, 85–9.
- Pucher, J., O. Shibley, A. Dentino, and S. Ciancio (1997, 09). Results of limited initial periodontal therapy in smokers and non-smokers. *Journal of periodontology* 68, 851–6.
- Rams, T., M. Listgarten, and J. Slots (1996, 05). Utility of 5 major putative periodontal pathogens and selected clinical parameters to predict periodontal breakdown in patients on maintenance care. *Journal of clinical periodontology* 23, 346–54.
- Renvert, S., M. Wikström, M. Helmersson, G. Dahlén, and N. Claffey (1992, 11). Comparative study of subgingival microbiological sampling techniques. *Journal of periodontology* 63, 797–801.
- Romanelli, R., S. Mancini, C. Laschinger, C. Overall, J. Sodek, and C. McCulloch (1999, 05). Activation of neutrophil collagenase in periodontitis. *Infection and immunity* 67, 2319–26.
- Sanz, M. (2015, 01). Effect of professional mechanical plaque removal on secondary prevention of periodontitis and the complications of gingival and periodontal preventive measures. *Journal of Clinical Periodontology* 42.
- Sanz, M., D. Herrera, M. Kerschull, I. Chapple, S. Jepsen, T. Beglundh, A. Sculean, M. Tonetti, T. consultants, and N. Lambert (2020, 05). Treatment of stage i-iii periodontitis-the efp s3 level clinical practice guideline. *Journal of Clinical Periodontology* 47 Suppl 22.
- Saxen, L. and S. Asikainen (1993, 04). Metronidazole in the treatment of localized juvenile periodontitis. *Journal of clinical periodontology* 20, 166–71.
- Schenkein, H. and B. Loos (2013, 04). Inflammatory mechanisms linking periodontal diseases to cardiovascular diseases. *Journal of clinical periodontology* 40 Suppl 14, S51–69.

- Schicht, M., C. Stengl, S. Sel, F. Heinemann, W. Götz, A. Petschelt, M. Pelka, M. Scholz, F. Rausch, F. Paulsen, and L. Bräuer (2014, 06). The distribution of human surfactant proteins within the oral cavity and their role during infectious diseases of the gingiva. *Annals of anatomy = Anatomischer Anzeiger: official organ of the Anatomische Gesellschaft*.
- Sela, M. (2001, 02). Role of treponema denticola in periodontal diseases. *Critical reviews in oral biology and medicine : an official publication of the American Association of Oral Biologists* 12, 399–413.
- Sexton, W., Y. Lin, R. Kryscio, D. Dawson, J. Ebersole, and C. Miller (2011, 05). Salivary biomarkers of periodontal disease in response to treatment. *Journal of clinical periodontology* 38, 434–441.
- Sharma, A. (2010, 10). Virulence mechanisms of tannerella forsythia. *Periodontology 2000* 54, 106–116.
- Socransky, S. and A. Haffajee (1992, 05). The bacterial etiology of destructive periodontal disease: Current concepts*. *Journal of periodontology* 63, 322–331.
- Socransky, S. and A. Haffajee (2002, 02). Dental biofilms: Difficult therapeutic targets. *Periodontology 2000* 28, 12–55.
- Socransky, S., A. Haffajee, M. Cugini, C. Smith, and K. Jr (1998, 02). Microbial complexes in subgingival plaque. *J. Clin. Periodontol.* 25, 366–376.
- Socransky, S., A. Haffajee, R. Teles, J. Wennstrom, J. Lindhe, A. Bogren, H. Hasturk, T. Van Dyke, W. Xiaoshan, and J. Goodson (2013, 04). Effect of periodontal therapy on the subgingival microbiota over a 2-year monitoring period. i. overall effect and kinetics of change. *Journal of clinical periodontology* 40.
- Socransky, S. S. and A. D. Haffajee (2005). Periodontal microbial ecology. *Periodontology 2000* 38(1), 135–187.
- Sorensen, G. (2018, 01). Surfactant protein d in respiratory and non-respiratory diseases. *Ugeskrift for Laeger* 179, 1685–1686.
- Sorensen, G., J. Hjelmberg, K. Kyvik, M. Fenger, A. Høj, C. Bendixen, T. Sørensen, and U. Holmskov (2006, 06). Genetic and environmental influences of surfactant protein d serum levels. *American journal of physiology. Lung cellular and molecular physiology* 290, L1010–7.
- Sorensen, G., S. Husby, and U. Holmskov (2007, 02). Surfactant protein a and surfactant protein d variation in pulmonary disease. *Immunobiology* 212, 381–416.
- Sorsa, T., Y. Ding, T. Ingman, T. Salo, U. Westerlund, M. Haapasalo, H. Tschesche, and Y. Kontinen (1995, 10). Cellular source, activation and inhibition of dental plaque collagenase. *Journal of clinical periodontology* 22, 709–717.
- Sorsa, T., U. Gursoy, S. Nwhator, M. Hernández, T. Tervahartiala, J. Leppilahti, M. Gursoy, E. Könönen, G. Emingil, P. Pussinen, and P. Mäntylä (2015, 02). Analysis of matrix metalloproteinases in gingival crevicular fluid (gcf), mouthrinse and saliva for monitoring periodontal diseases. *Periodontology 2000* 70.
- Sorsa, T., M. Hernández, J. Leppilahti, S. Munjal, L. Netuschil, and P. Mäntylä (2009, 08). Detection of gcf mmp-8 levels with different laboratory and chair-side methods. *Oral diseases* 16, 39–45.

- Sorsa, T., T. Tervahartiala, J. Leppilähti, M. Hernández, J. Gamonal, A. Tuomainen, A. Lauhio, P. Pussinen, and P. Mäntylä (2010, 10). Collagenase-2 (mmp-8) as a point-of-care biomarker in periodontitis and cardiovascular diseases. therapeutic response to non-antimicrobial properties of tetracyclines. *Pharmacological research : the official journal of the Italian Pharmacological Society* 63, 108–113.
- Sorsa, T., L. Tjäderhane, Y. Konttinen, A. Lauhio, T. Salo, H.-M. Lee, L. Golub, D. Brown, and P. Mäntylä (2006, 02). Matrix metalloproteinases: Contribution to pathogenesis, diagnosis and treatment of periodontal inflammation. *Annals of medicine* 38, 306–21.
- Stathopoulou, P., N. Buduneli, and D. Kinane (2015, 10). Systemic biomarkers for periodontitis. *Current Oral Health Reports* 2.
- Steiniger, B., H. Schwarzbach, and V. Stachniss (2010). Mikroskopische anatomie der zähne und des parodonts. *Thieme, Stuttgart*, 64.
- Strimbu, K. and J. Tavel (2010, 11). What are biomarkers? *Current opinion in HIV and AIDS* 5, 463–6.
- Syndergaard, B., M. Al-Sabbagh, R. Kryscio, J. Xi, X. Ding, J. Ebersole, and C. Miller (2014, 02). Salivary biomarkers associated with gingivitis and response to therapy. *Journal of periodontology* 85.
- Takahashi, H., Y. Imai, T. Fujishima, M. Shiratori, S. Murakami, H. Chiba, H. Kon, Y. Kuroki, and S. Abe (2001, 03). Diagnostic significance of surfactant proteins a and d in sera from patients with radiation pneumonitis. *The European respiratory journal : official journal of the European Society for Clinical Respiratory Physiology* 17, 481–7.
- Tanner, A. and J. IZARD (2006, 02). Tannerella forsythia, a periodontal pathogen entering the genomic era. *Periodontology 2000* 42, 88–113.
- Tanner, A., M. Maiden, P. Macuch, L. Murray, and R. Kent (1998, 02). Microbiota of health, gingivitis, and initial periodontitis. *Journal of clinical periodontology* 25, 85–98.
- Tonetti, M. (1998, 08). Cigarette smoking and periodontal diseases: Etiology and management of disease. *Annals of periodontology / the American Academy of Periodontology* 3, 88–101.
- Tonetti, M., H. Greenwell, and K. Kornman (2018, 06). Staging and grading of periodontitis: Framework and proposal of a new classification and case definition. *Journal of Periodontology* 89, S159–S172.
- Tonetti, M. and T. Van Dyke (2013, 04). Periodontitis and atherosclerotic cardiovascular disease: Consensus report of the joint efp/aap workshop on periodontitis and systemic diseases. *Journal of periodontology* 84, S24–9.
- Töpfer, G. (2018, 01). Enzyme-linked immunosorbent assay. *Lexikon der Medizinischen Laboratoriumsdiagnostik*, 1–2.
- Türer, C., D. Durmuş, U. Ballı, and B. Güven (2016, 12). Effect of non-surgical periodontal treatment on gingival crevicular fluid and serum endocan, vascular endothelial growth factor- α , and tumor necrosis factor- α levels. *Journal of periodontology* 88, 1–13.
- Türkoğlu, O., N. Barış, T. Tervahartiala, O. Senarslan, T. Sorsa, and G. Atilla (2013, 11). Evaluation of systemic levels of neutrophilic enzymes in hypertensive patients with chronic periodontitis. *Journal of periodontology* 85.

- Tuomainen, A., K. Nyyssonen, T. Tervahartiala, T. Sorsa, and P. Pussinen (2008, 02). Matrix metalloproteinase-8 and tissue inhibitor of metalloproteinase-1 in serum do not reflect the analytes circulating in blood. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology* 28, e17–e17.
- Uitto, V.-J., C. Overall, and C. McCulloch (2003, 02). Proteolytic host enzymes in gingival crevice fluid. *Periodontology 2000* 31, 77–104.
- Ujma, S., W. Horsnell, A. Katz, H. Clark, and G. Schäfer (2016, 10). Non-pulmonary immune functions of surfactant proteins a and d. *Journal of innate immunity* 9.
- van Winkelhoff, A. J. and E. Winkel (2005, 02). Microbiological diagnostics in periodontics: Biological significance and clinical validity. *Periodontology 2000* 39, 40–52.
- Warnakulasuriya, S., T. Dietrich, M. M. Bornstein, E. C. Peidr , P. M. Preshaw, C. Walter, J. L. Wennstr m, and J. Bergstr m (2010). Oral health risks of tobacco use and effects of cessation. *International Dental Journal* 60(1), 7–30.
- Weaver, T. and J. Conkright (2001, 02). Functions of surfactant proteins b and c. *Annual review of physiology* 63, 555–78.
- Wolf, H. F., E. M. Rateitschak, and K. H. Rateitschak (2003). Farbatlanten der Zahnmedizin; bd.1. *Thieme, Stuttgart*, 532.
- Ximenez-Fyvie, L. A., A. Haffajee, and S. Socransky (2000, 09). Comparison of the microbiota of supra- and subgingival plaque in health and periodontitis. *Journal of clinical periodontology* 27, 648–57.
- Yildirim, E., I. Kormi, O. Basoglu, A. G rg n, B. Kaval, T. Sorsa, and N. Buduneli (2012, 09). Periodontal health and serum, saliva matrix metalloproteinases in patients with mild chronic obstructive pulmonary disease. *Journal of periodontal research* 48.
- Yucel Lindberg, T. and T. B ge (2013, 08). Inflammatory mediators in the pathogenesis of periodontitis. *Expert reviews in molecular medicine* 15, e7.
- Zekeridou, A., A. Mombelli, J. Cancela, D. Courvoisier, and C. Giannopoulou (2019, 01). Systemic inflammatory burden and local inflammation in periodontitis: What is the link between inflammatory biomarkers in serum and gingival crevicular fluid? *Clinical and Experimental Dental Research* 5.
- Zucker, H. M., C. C., H. Zarrabi, H. AN, M. L, B. D, G. Nicolson, and M. S (1999, 10). Measurement of matrix metallo-proteinases (mmps) and tissue inhibitors of metalloproteinases (timp) in blood and tissues: clinical and experimental applications. *Annals of the New York Academy of Sciences* 878, 212–227.

Danksagung

Mein herzlicher Dank gilt Herrn Prof. Dr. Dr. Matthias Folwaczny und Frau Dr. Christina Ern für ihre freundliche Betreuung sowie der besonderen Möglichkeit an der Poliklinik für Zahnerhaltung und Parodontologie der Ludwig-Maximilians-Universität München zu promovieren. Bei Brigitte Hackl und Dr. Till Hennessen möchte ich mich für die hilfreiche Unterstützung im Labor und bei Computerfragen bedanken. Mein Dank gilt außerdem Dr. Regina Haußmann und natürlich immer meiner Familie und meinen Freunden.



LUDWIG-
MAXIMILIANS-
UNIVERSITÄT
MÜNCHEN

Promotionsbüro
Medizinische Fakultät



Eidesstattliche Versicherung

Klusmann, Lina Sophia

Name, Vorname

Ich erkläre hiermit an Eides statt,

dass ich die vorliegende Dissertation mit dem Titel

Untersuchung der systemischen Expression von Surfactant Protein-D und Matrixmetalloproteinase 8 nach nicht-chirurgischer Therapie der Parodontitis

selbstständig verfasst, mich außer der angegebenen keiner weiteren Hilfsmittel bedient und alle Erkenntnisse, die aus dem Schrifttum ganz oder annähernd übernommen sind, als solche kenntlich gemacht und nach ihrer Herkunft unter Bezeichnung der Fundstelle einzeln nachgewiesen habe.

Ich erkläre des Weiteren, dass die hier vorgelegte Dissertation nicht in gleicher oder in ähnlicher Form bei einer anderen Stelle zur Erlangung eines akademischen Grades eingereicht wurde.

München, 24.07.2022

Ort, Datum

Lina Sophia Klusmann

Unterschrift Doktorandin bzw. Doktorand