

Aus der Universitätspoliklinik für Zahnerhaltungskunde und Parodontologie der

Medizinischen Fakultät

an der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg

Direktor: Prof. Dr. H.-G. Schaller

Molekularer Nachweis von parodontopathogenen Markerkeimen in der Synovialflüssigkeit von rheumatisch veränderten Gelenken

Dissertation

zur Erlangung des akademischen Grades

Doktor der Zahnmedizin (Dr. med. dent.)

Vorgelegt

der Medizinischen Fakultät

der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg

von Maximilian Haffner

geboren am 05.08.1981 in Haldensleben

Betreuer: PD Dr. med. dent. S. Reichert

Gutachter:

1. apl. Prof. Dr. Stefan Reichert

2. Priv.-Doz. Dr. Nicole Pischon

3. Prof. Dr. med. dent. habil. Matthias Girndt

27.05.2014

11.06.2015

Referat

Entzündlich rheumatische Erkrankungen weisen in ihrer Ätiologie und Pathogenese Gemeinsamkeiten zur Parodontitis auf. An der Zerstörung körpereigenen Gewebes sind bei beiden Erkrankungen Zytokine und Mediatoren wie IL1, IL6, TNF- α und PGE2 maßgeblich beteiligt (22, 42, 43, 44, 111, 112, 113, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 150, 152, 153, 154). Zahlreiche Studien lassen auf eine Beteiligung parodontopathogener Bakterien bei der Entstehung einer Rheumatoiden Arthritis schließen (5, 16, 17, 28, 132, 129). Die vorliegende Studie hatte zum Ziel, die DNA der parodontopathogenen Bakterien *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Treponema denticola* und *Tanarella forsythia* in der Synovialflüssigkeit rheumatisch veränderter Gelenke im Vergleich zu Kontrollprobanden ohne rheumatische Erkrankung nachzuweisen. Gleichzeitig sollte innerhalb der Testgruppe untersucht werden, ob der Nachweis bakterieller DNA aus oralen und/oder synovialen Proben sowie klinisch-parodontologische Parameter zu aktuellen rheumatologischen Befunden am Gelenk assoziiert waren. Aus der Synovialflüssigkeit von Patienten mit RA (n = 43), Psoriasisarthritis (n = 3), Morbus Bechterew (n = 4) und Monarthritis (n = 1) sowie von 28 lebenden und 86 verstorbenen Kontrollprobanden wurde mittels QiaAmp-Kit (Qiagen, Hilden, Deutschland) bakterielle DNA isoliert. Für den Nachweis bakterieller DNA in der Synovialflüssigkeit wurde eine hochsensitive PCR etabliert mit einem Detektionslimit von 10 DNA-Kopien/ml Synovialflüssigkeit. Subgingivale und orale Plaqueproben wurden gleichzeitig mittels micro-IDent[®]-Test (Hain-Diagnostik, Nehren, Deutschland) ausgewertet. Erfasst wurden weiterhin der klinische Attachmentverlust, der proximale Plaqueindex (API) sowie der prozentuale Anteil von Sites mit Sondierblutung (BOP). Bakterielle DNA aller untersuchten Bakterien konnte in oralen und synovialen Proben der Test- und Kontrollgruppe nachgewiesen werden. Im Vergleich zur Kontrollgruppe ließ sich DNA von *P. gingivalis* signifikant häufiger in synovialen Proben von Patienten mit rheumatischer Erkrankung nachweisen (3,5 % vs. 15,7 %; $p = 0,009$). Auch bei alleiniger Betrachtung der Probanden mit Rheumatoider Arthritis konnte dieses Ergebnis bestätigt werden (3,5 % vs. 16,3 %, $p = 0,010$). Der gleichzeitige Nachweis von *P. gingivalis* sowohl aus oralen als auch aus synovialen Proben gelang häufiger bei Patienten mit rheumatischen Erkrankungen (0,9 % vs. 9,8 %, $p = 0,011$). Die Anzahl fehlender Zähne, der API und die orale Keimbelastung in der Testgruppe korrelierten positiv mit der Anzahl rheumatisch erkrankter Gelenke. Es lässt sich schlussfolgern, dass die DNA parodontopathogener Bakterien in Gelenke gelangen kann. Eine Infektion mit *P. gingivalis* könnte das Risiko für entzündlich-rheumatische Erkrankungen erhöhen. In weiteren Studien ist die biologische Plausibilität der Beziehung Infektion mit *P. gingivalis*/rheumatische Erkrankung zu untersuchen.

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	1
2	Parodontitis	2
2.1	Epidemiologie der Parodontitis	2
2.2	Ätiologie und Pathogenese der Parodontitis unter besonderer Berücksichtigung parodontaler Leitkeime	2
3	Ätiologie und Pathogenese der entzündlich rheumatischen Erkrankungen unter besonderer Berücksichtigung der Rheumatoiden Arthritis, Psoriasisarthritis und des Morbus Bechterew	9
3.1	Rheumatoide Arthritis	9
3.2	Arthritis psoriatica (Psoriasisarthritis)	16
3.3	Morbus Bechterew (Spondylitis ankylosans).....	16
4	Zusammenhänge zwischen entzündlich-rheumatischen Erkrankungen und Parodontitis	17
5	Zielstellung	24
6	Material und Methode	25
6.1	Auswahl der Probanden.....	25
6.2	Klinisch-rheumatologische Untersuchung und Gewinnung von Synovialflüssigkeit	26
6.3	Zahnärztliche Untersuchung	26
6.4	Intraorale Probenentnahme für die mikrobiologische Untersuchung	28
6.5	Nachweis oraler bakterieller DNA	29
6.6	Nachweis der DNA parodontopathogener Bakterien in der Synovialflüssigkeit	31
6.6.1	Probenentnahme	31
6.6.2	DNA-Isolation aus Synovia mittels QIAamp®DNA Mini Kit.....	32
6.6.3	PCRs zum Nachweis der 5 parodontopathogenen Markerkeime in der Synovia.....	32
6.6.4	PCR-Ansatz und Gelelektrophorese.....	33
6.7	Statistische Methoden	35
7	Ergebnisse	36
7.1	Demografische und klinische Parameter beider Kohorten im Vergleich	36
7.2	Nachweis bakterieller DNA in Mundhöhle und Synovialflüssigkeit.....	38
7.3	Assoziationen von bakteriellem Mund- zum Synovialbefund	41
7.4	Subgruppe der zahnlosen Patienten.....	41
7.5	Assoziationen parodontaler und mikrobiologischer Parameter zur Anzahl rheumatisch betroffener Gelenke innerhalb der Rheumagruppe	43
7.6	Zusammenfassung der Ergebnisse.....	45
8	Diskussion	46
9	Zusammenfassung	53
	Literaturverzeichnis	56
	Anlagen	71
	Thesen	76
	Lebenslauf	
	Selbstständigkeitserklärung	
	Danksagung	

Abkürzungsverzeichnis

A. a.	Aggregatibacter actinomycetemcomitans
ACPA	Anti citrullinated peptid antibody
ACR	American Rheumatism Association
AK	Antikörper
API	Approximaler Plaqueindex
BMI	Body Mass Index
BOP	Bleeding on probing
Bp	Base pairs
C	Komplementfaktor
CAL	Clinical attachment loss
CCP	Cyclic citrullinated peptid
CD	Cluster of differentiation
CI	Confidence Interval
CRP	C-reaktives Protein
DMF/T	Decayed Missing Filled/Tooth
DNA	Desoxyribonukleinsäure
EGF	Epidermal growth factor
HLA	Histokompatibilitätsantigen
Ig	Immunglobulin
IL	Interleukin
LT	Leukotrien
MA	Monarthrit
MB	Morbus Bechterew
MCP	Methyl-akzeptierendes Chemotaxisprotein
MIP	Macrophage inflammatory protein
MMP	Matrixmetalloproteinase
MTX	Methotrexat
OR	Odds ratio
P. g.	Porphyromonas gingivalis
P. i.	Prevotella intermedia
PA	Parodontitis
PAD	Peptidylarginin-Deiminase
PCR	Polymerase Chain Reaction
PD	probing depht
PDGF	Platelet Derived Growth Factor
PG	Prostaglandin
PMN	Polymorphkerniger neutrophiler Granulozyt
PsA	Psoriasisarthritis
RA	Rheumatoide Arthritis
RF	Rheumafaktor
RNA	Ribonukleinsäure
rpm	Revolutions per minute
SD	Standard deviation
T. d.	Treponema denticola
T. f.	Tannerella forsythia
TGF	Transforming growth factor
TNF	Tumornekrosefaktor
vs.	versus

1 Einleitung

In jüngerer Zeit erschienen wiederholt Studien bezüglich des Zusammenhangs zwischen Parodontitis und Allgemeinerkrankungen (1, 2). So wurden z. B. Assoziationen zur Koronaren Herzkrankheit (3) und zum Diabetes mellitus (4) beschrieben. Viele Publikationen deuten außerdem auf einen Zusammenhang von Parodontitis und entzündlich rheumatischen Erkrankungen hin (5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24). So konnten Mercado und Mitarbeiter eine signifikant höhere Prävalenz der Rheumatoiden Arthritis (RA) bei Probanden mit Parodontitis (3,65 %) im Vergleich zu Probanden ohne Parodontitis (0,66 %) nachweisen (15). Im umgekehrten Fall erwies sich auch die Parodontitisprävalenz bei an RA Erkrankten höher im Vergleich zur Normalbevölkerung (10, 24). Des Weiteren teilen rheumatische Erkrankungen und Parodontitis gemeinsame Risikofaktoren wie Alter, Geschlecht, Nikotin- und Alkoholkonsum und möglicherweise eine gemeinsame genetische Konstellation (25, 26, 27). Neben epidemiologischen Zusammenhängen existieren auch Anhaltspunkte für kausale biologische Zusammenhänge zwischen RA und Parodontitis. Es wurden vermehrt spezifische Antikörper gegen parodontopathogene Bakterien im Blut und in der Synovialflüssigkeit von Patienten mit RA im Vergleich zu Kontrollprobanden nachgewiesen (17, 24, 28). Ihr Nachweis war mit einem schwereren Verlauf sowohl der RA und auch Parodontitis assoziiert.

Das Parodontopathogen *P. gingivalis* ist das bisher einzige bekannte Bakterium, das über ein Enzym, die sogenannte Peptidylarginin-Deiminase, verfügt, mit dem sowohl bakterieneigene als auch Wirtspeptide citrulliniert werden können. Die Autoimmunreaktion gegen citrullinierte Peptide ist aller Wahrscheinlichkeit nach ein wichtiger Bestandteil in der Pathogenese der RA (29).

Die Oberfläche parodontopathogener Bakterien weist darüber hinaus Epitopgemeinschaften zu humanem IgG auf. Möglicherweise kann dies die Bildung des autoantigenen IgM-Rheumafaktors (RF) initiieren. Bei Patienten mit schwerer Parodontitis wurden im Vergleich zu Probanden ohne Parodontitis erhöhte serologische Werte für RF nachgewiesen (30).

Klinische Studien wiesen nach, dass eine Parodontistherapie bei Patienten mit RA auch das rheumatische Outcome verbessern konnte (5, 11, 20). Darüber hinaus scheinen Patienten mit RA, die nicht zufriedenstellend auf die Standardtherapie mit nicht steroidalen Antirheumatika und Basistherapeutika ansprachen, von der Gabe systemischer Antibiotika zu profitieren (31, 32, 33).

Trotz einer großen Anzahl von Untersuchungen kann der Zusammenhang von RA und Parodontitis noch nicht als gesichert gelten. Insbesondere die Frage, ob parodontale Bakterien selbst in Gelenke gelangen und diese schädigen können, war zu Beginn dieser Studie noch unbeantwortet.

In der vorliegenden Studie sollte deshalb zunächst geprüft werden, ob die DNA oraler parodontopathogener Bakterien in die Synovialflüssigkeit gelangen kann und ob dies bei Rheumapatienten häufiger der Fall ist als bei Probanden ohne rheumatische Erkrankung. Dazu war die Entwicklung eines hochsensitiven Verfahrens zum Nachweis bakterieller DNA in der Synovialflüssigkeit notwendig. Zusätzlich sollte innerhalb der Gruppe mit rheumatischen Erkrankungen geprüft werden, ob klinisch-parodontale Parameter sowie der orale und synoviale Bakterienbefund zur Anzahl rheumatisch betroffener Gelenke assoziiert sind.

2 Parodontitis

2.1 Epidemiologie der Parodontitis

Laut Vierter Deutscher Mundgesundheitsstudie von 2006 hatten 73 % der 35- bis 44-Jährigen und 88 % der 65- bis 74-Jährigen mindestens an einem Zahn eine Sondierungstiefe von 4 oder mehr Millimetern. 7,8 % der 35- bis 44-Jährigen und 21,9 % der 65- bis 74-Jährigen wiesen eine schwere Parodontitis auf (approximaler Attachmentverlust von mindestens 6 mm an min. 2 Zähnen), bei 45,3 % der 35- bis 44-Jährigen und 54,1 % der 65- bis 74-Jährigen wurde eine moderate Parodontitis (approximaler Attachmentverlust von min. 4 mm an min. 2 Zähnen) diagnostiziert (34, 35). In Mecklenburg-Vorpommern wiesen 17,6 % der 1997 bis 2001 untersuchten Probanden eine schwere Parodontitis auf. Bei 33,3 % dieser Individuen wurde eine moderate Parodontitis diagnostiziert. Das Alter der untersuchten Probanden lag zwischen 20 und 81 Jahren, wobei die Parodontitisprävalenz mit steigendem Alter zunahm und zwischen dem 50. und 59. Lebensjahr konstant blieb. Männer wiesen eine höhere Parodontitisprävalenz auf als Frauen (36). Die weltweite Prävalenz der Parodontitis variiert in unterschiedlichen Populationen (37).

2.2 Ätiologie und Pathogenese der Parodontitis unter besonderer Berücksichtigung parodontaler Leitkeime

Zu den Bestandteilen des Parodontes zählen die Gingiva, das parodontale Bindegewebe, der Alveolarknochen, das Desmodont und das Wurzelzement (38, 39). Strukturbiologisch wird unterschieden zwischen einer marginalen freien Gingiva, einer befestigten und einer interdentalen Gingiva. Das Epithel der befestigten Gingiva ist zum Schutz vor Noxen und mechanischer Belastung keratinisiert. Ein Saumepithel kleidet den gingivalen Sulkus aus und bildet beim gesunden Parodont die koronale Sulkusgrenze (38, 39). Es ist nicht verhornt und für Noxen und Bakterien, aber auch Abwehrzellen permeabel. Das parodontale Bindegewebe wird von zahlreichen Kollagenfasern durchzogen, die zur bestmöglichen Stabilisierung aller Bestandteile des Zahnhalteap-

parats in unterschiedlichen Richtungen angeordnet sind. Desmodontale Fasern, ihr mineralisierter Anteil wird auch als Sharpey'sche Fasern bezeichnet, verankern den Zahn in seiner knöchernen Alveole. Sie bestehen aus kollagenen Fibrillen, verlaufen vom Wurzelzement zum Alveolarknochen und sind reichhaltig vaskularisiert und innerviert (38, 39). Das Wurzelzement lässt sich histologisch in azelluläres, afibrilläres Zement, azelluläres Fremdfaserzement, zelluläres Eigenfaserzement und zelluläres Gemischtfaserzement unterteilen (38). Der knöcherne Anteil des Parodontes umfasst den die Alveole auskleidenden Alveolarknochen, die Spongiosa und die nach außen abschließende Kompakta. Der Alveolarknochen enthält kleine Gefäße und Nerven in graziolen Volkmannkanälen verlaufend.

Einer Parodontitis geht immer eine Gingivitis, d. h. eine Entzündung des extraalveolären Parodontes (Gingiva, extraalveolärer Faserapparat), voraus (40). Die Gingivitis resultiert aus auf den Zähnen des Wirts verbliebenden oralen Mikroorganismen in Form bakterieller Plaque und entsteht als Abwehrreaktion des umgebenden Gewebes nach wenigen Tagen (41). Das Keimspektrum auf den plaquebefallenen Zahnoberflächen differiert im Vergleich zu Stellen mit gesunder Gingiva. Die Zahl der gramnegativen Bakterien nimmt neben Spezies wie Streptokokken und Aktinomyzeten mit der Zeit zu (40). Wird der bakterielle Plaquefilm entfernt, ist die Gingivitis vollkommen reversibel, d. h., es kommt zu keinem persistierenden Attachmentverlust. Wird die Plaque nicht beseitigt, kann die Gingivitis lange vorliegen, ohne sich auf knöcherne Strukturen auszudehnen. Durch die Migration polymorphkerniger neutrophiler Granulozyten durch das Saumepithel in Richtung Sulkus werden potenzielle Krankheitserreger bereits am Sulkusboden eliminiert (39, 40). Eine Entzündung, die sich auf das intraalveoläre Parodont ausdehnt und mit Stützgewebeverlust einschließlich Alveolarknochenverlust einhergeht, wird als Parodontitis bezeichnet.

Etwa eine Woche nach Beginn der Plaqueakkumulation steigt die Zahl der Makrophagen im parodontalen Bindegewebe, die durch bakterielle Endotoxine im gingivalen Sulkus angelockt werden, weiter an (38, 39, 40). Ferner werden Lymphozyten chemotaktisch durch Zytokine wie Interleukin-8, Komplementfaktoren wie C5a, Formylpeptide und Leukotriene wie Leukotrien-B4 rekrutiert. Abgesehen von Zytokinen wie IL-1 β sezernieren Makrophagen auch sogenannte Chemotaxine wie Methyl-akzeptierendes Chemotaxisprotein (MCP) und Macrophage inflammatory protein (MIP) (39), was weiterhin die Migration von Leukozyten ins Gebiet der Entzündung forciert. Zudem wird Fibroblasten der Impuls zur Produktion von Matrixmetalloproteinasen, Zytokinen und Prostaglandin E₂ gegeben und zusätzlich die Drosselung ihrer Kollagenproduktion initiiert. Unter dem Einfluss von PGE₂ werden Osteoklasten zur Knochenresorption angeregt (42). Außerdem differenzieren sich B-Lymphozyten in Plasmazellen und bilden Antikörper gegen eindringende Bakterien (19). Überdies können B-Lymphozyten selbst als antigenpräsentierende Zellen fungieren. Unter Beteili-

gung des Komplementsystems werden die über den gingivalen Sulkus eingedrungenen Mikroorganismen opsoniert und die Phagozytose durch neutrophile Granulozyten eingeleitet (38, 39, 40). Dadurch kommt es zur Störung der Gewebshomöostase mit Verschiebung in Richtung Bindegewebs- und Knochenabbau. Elementare Bedeutung in der Pathogenese der Parodontitis haben die proinflammatorischen Zytokine IL-1, IL-6 und TNF- α . Der Einfluss von IL-1 auf den Knochenstoffwechsel wurde vielfach in Studien belegt (43). So wurde gezeigt, dass die Konzentration von IL-1 β in aktiven parodontalen Taschen höher ist als in inaktiven Sites (44). Darüber hinaus werden IL-6 und TNF- α als Knochenabbau fördernde Zytokine angesehen (45).

Nach etwa einem Monat hat sich ein Taschenepithel ausgebildet, das aus dem ursprünglichen Saumepithel hervorgegangen ist. Das Taschenepithel proliferiert weiter in Richtung der Zerstörung des Parodontes. Damit ist die parodontale Läsion etabliert und Bedingungen für ein Fortschreiten der Läsion liegen vor (40). Die an die parodontale Tasche angrenzende Wurzeloberfläche des betroffenen Zahns ist nunmehr mit einem komplex organisierten bakteriellen Biofilm besiedelt, dessen Keimspektrum zunehmend anaerob geworden ist. Hydrolytisch wirkende Enzyme wie Kollagenase und Elastase sowie Osteoklasten aktivierende Faktoren werden von Fibroblasten sezerniert und führen zur irreversiblen Zerstörung des Zahnhalteapparats.

Von ätiologisch grundsätzlichem Belang für das Entstehen einer Parodontitis ist die Organisation der auf den Zahnoberflächen verbliebenen Bakterien in einem Biofilm (46, 47). Im oralen Biofilm sind verschiedene Bakterienarten in einem dreidimensionalen System auf der Oberfläche des Zahnschmelzes und des Wurzeldentins organisiert (48). Eingebettet sind jene Bakterien in eine Matrix aus Polysacchariden. Sie sind zusätzlich vernetzt durch Dextrane und Laväne (49, 50). Durch die Polysaccharidmatrix gelangen in der Parodontitistherapie eingesetzte Antibiotika schwerer an ihren Wirkort (51). Zusätzlich erschwerend für eine antiinfektiöse Therapie ist, dass die Bakterien ihre Stoffwechselaktivität drosseln und sich damit der Wirkung von Antibiotika, die auf die Proteinsynthese der Bakterien einwirken, entziehen (52).

In der subgingivalen Plaque befinden sich vor allem *Aktinomycceten*, *T. forsythia*, *Fusobacterium nucleatum*, *Spirochäten* und sogenannte Synergisten, gramnegative Bakterien, die auch als opportunistische Spezies angesehen werden und sowohl im gesunden als auch im pathologisch veränderten Milieu vorkommen. Die Synergisten bilden palisadenartige Strukturen in der oberen Schicht des Biofilms aus. Ihre genaue Funktion innerhalb des Biofilms wird noch erforscht (53). Initial sind vor allem Aktinomycceten, Streptokokken, Laktobazillen und Candida-Spezies im Biofilm vorzufinden. Diese Spezies haften mithilfe von Adhäsionsproteinen dem der Zahnoberfläche aufgelagerten Schmelzpellikel an (54, 55). Mit zunehmendem Wachstum des Biofilms treten in einer

zweiten, die initialen Kolonisierer bedeckenden Schicht vermehrt gramnegative Bakterien auf (53). Vorrangig sind hierbei *Capnocytophaga*-Spezies, *Prevotella*-Spezies, *Eikenella corrodens*, *P. gingivalis* und *A. actinomycetemcomitans* (56).

Nach neueren Erkenntnissen ist die Parodontitis keine klassische, sondern vielmehr eine opportunistische Infektionskrankheit, wobei nur bestimmte Bakterien pathogen sind (57). Das bedeutet, nicht allein die Menge der Plaque, sondern vor allem ihre Zusammensetzung in Zusammenspiel mit der individuellen Wirtsreaktion entscheidend für die Progression der Parodontitis ist.

Um die parodontale Infektion zu charakterisieren stellten Socransky und Mitarbeiter für die Parodontitis geltende Postulate auf. Nach Socransky ist die Präsenz von Parodontopathogenen mit aktiven Sites der Erkrankung assoziiert. Eine Elimination der Parodontopathogene dagegen führt zu einer Remission der Läsion. Weiterhin lassen sich erregerspezifische Antikörper nachweisen. Parodontopathogene Bakterien verfügen über Virulenzfaktoren, mit denen die Abwehr des Wirts gestört und parodontale Strukturen abgebaut werden können. Auch im Tierversuch können parodontopathogene Erreger der Parodontitis ähnliche Symptome hervorrufen (58, 59, 60, 61). Socransky und Haffaje teilten die parodontopathogenen Bakterien in Komplexe ein (Abb. 1). Innerhalb dieser Komplexe können die Bakterien miteinander in Interaktion treten, was ihre Pathogenität gegenüber dem Wirt im Vergleich zu einer einzelnen Bakterienspezies deutlich erhöht (58, 59).

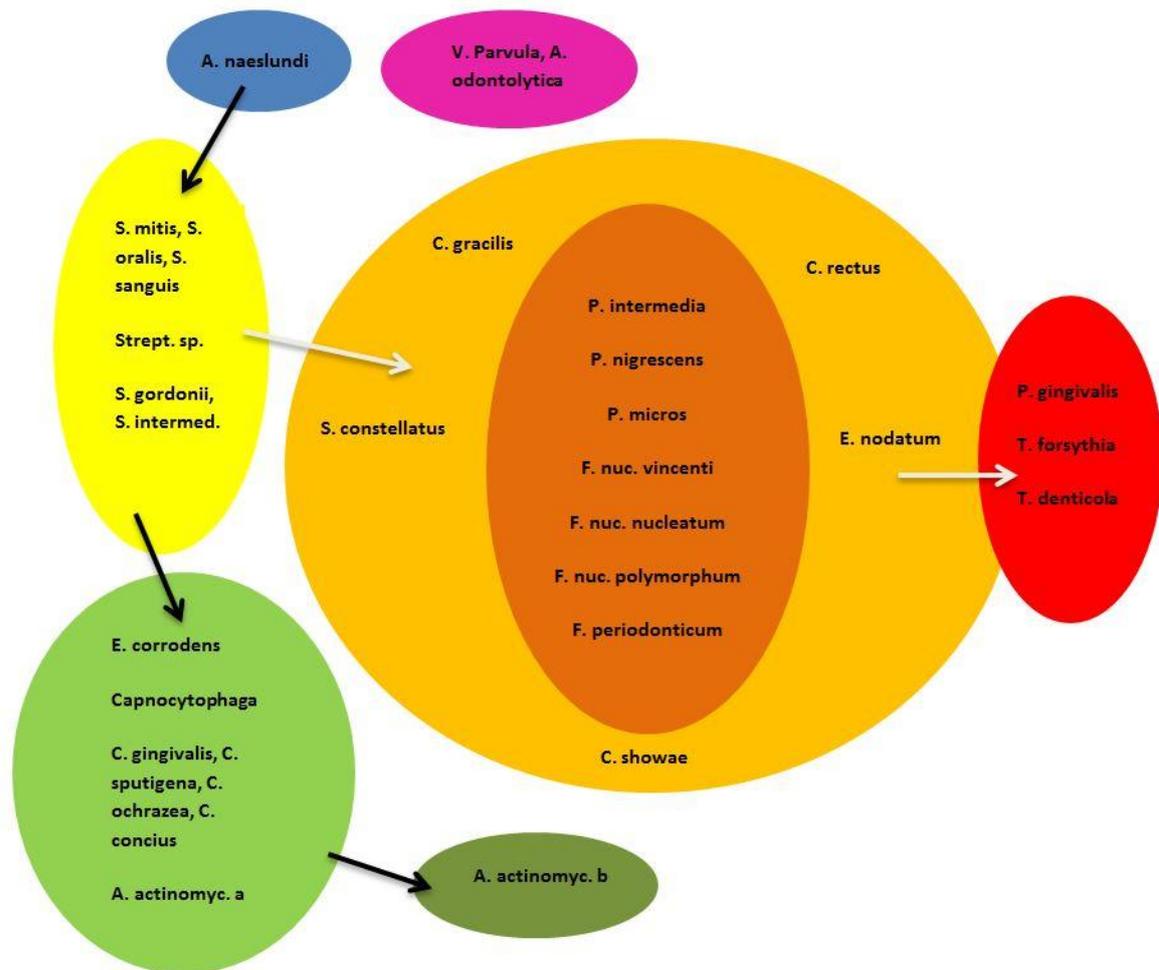


Abbildung 1: Die Komplexe nach Socransky (39, 59, 60, 61)

Die Bakterien des violett und orange assoziierten Komplexes besiedeln als Erste den gingivalen Sulkus. Ihre Pathogenität ist relativ gering. Sie schaffen aber durch Ausbildung eines sogenannten primären Biofilms die Grundlage für die Besiedlung der Zahnfleischtasche mit pathogeneren Keimen. Dies sind dann die Bakterien des orangenen Komplexes. Sie bilden eine Zwischenstufe auf dem Weg zur Besiedlung der Tasche mit stark pathogenen, obligat anaeroben Keimen des roten Komplexes. Doch auch ihr Pathogenitätspotenzial ist bereits recht hoch.

Einige gramnegative anaerobe Bakterien sind speziell mit Parodontitis assoziiert. Dazu zählen *P. gingivalis*, *T. forsythia*, *P. intermedia* und *P. melaninogenica* (62). *A. actinomycetemcomitans*, *T. forsythia*, *P. gingivalis*, *T. denticola*, *Fusobacterium nucleatum* und *P. intermedia* sind darüber hinaus besonders mit der Destruktion parodontalen Gewebes in Verbindung zu bringen (57, 63). Bakterielle Lipopolysaccharide von *P. gingivalis* induzierten bei Mäusen eine lokale Entzündungsreaktion (64). Des Weiteren führte die Immunantwort von Th1-Lymphozyten auf eine Infektion mit *P. gingivalis* im Tierversuch zu einem starken alveolaren Knochenverlust (44). Das als besonders parodontopathogen geltende Bakterium *A. actinomycetemcomitans* sezerniert ein Leukoto-

xin, das die körpereigene Abwehr dereguliert, indem es die Degranulation neutrophiler Granulozyten fördert. Daraufhin werden unter anderem die pathogenetisch bedeutsamen Matrixmetalloproteinasen freigesetzt (65, 66). *A. a.* wird zu 90 % bei aggressiver Parodontitis nachgewiesen. Auch *P. g.* besitzt zahlreiche Virulenzfaktoren (Abb. 2) (29, 63, 67). Zu den wichtigsten zählen die Gingipaine, Cystein-Proteasen und Arginin- und Lysin-spezifische Proteasen auf der Zelloberfläche des Bakteriums. Diese Proteasen können durch integrierte spezifische Bindungsstellen in die Gerinnungskaskade, die Komplementkaskade und die Kininproduktion des Wirts eingreifen und diese Prozesse deregulieren. Des Weiteren binden sie an Fibroblasten, Endothelzellen und Epithelzellen und tragen so zur Gewebeerstörung bei. In geringen Konzentrationen initiieren sie die Freisetzung proinflammatorischer Zytokine, während sie in hohen Konzentrationen die physiologischen Wirkungen vieler Zytokine blockieren (68, 69).

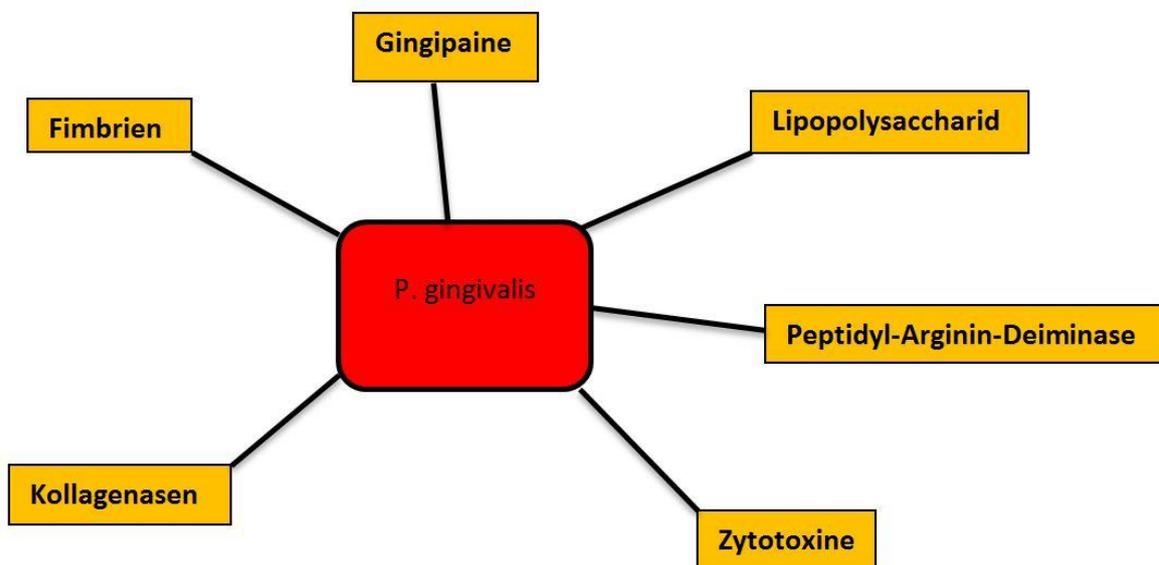


Abbildung 2: Virulenzfaktoren des parodontopathogenen Bakteriums *P. gingivalis*

Die Granula der polymorphkernigen neutrophilen Granulozyten enthalten eine große Anzahl an proteolytisch wirksamen Enzymen, deren Funktion darin besteht, Bakterien und deren Bestandteile nach der Phagozytose durch Lyse zu degradieren. Gelangen diese Enzyme in den extrazellulären Raum, werden parodontale Strukturen abgebaut. Ein Eingriff in die Integrität parodontalen Gewebes findet überdies auch durch eine Gruppe spezieller Enzyme, sogenannter Matrixmetalloproteinasen, statt. Sie werden von wirtseigenen Fibroblasten und anderen Gewebezellen gebildet, nachdem diese durch Prostaglandine und Zytokine stimuliert worden sind. Die Matrixmetalloproteinasen sind in der Lage, Kollagen abzubauen. Eine Regulierung der Matrixmetalloproteinasen findet unter physiologischen Bedingungen durch inhibitorisch wirksame Mediatoren wie IL-10 und TGF- β statt. Bei einer Parodontitis sind diese Regulationsmechanismen durch

die überlagernde Wirkung entzündungsprogressiv wirksamer Mediatoren wie IL-1, IL-6 und TNF- α außer Kraft gesetzt (39, 43, 70). Letztendlich ist die Zerstörung des parodontalen Attachments das Ergebnis einer komplexen Entzündungsreaktion. Die Abwehrreaktion des Wirts kann die bakterielle Infektion nicht beseitigen. Dazu trägt die Organisation der Infektionserreger in einem Biofilm in besonderem Maße bei. Durch die Entzündungsreaktion des Körpers wird aber immer weiter parodontales Gewebe zerstört.

Warum eine Gingivitis in vielen Fällen in eine Parodontitis übergeht und in einigen nicht, ist noch Gegenstand intensiver Forschungsbemühungen (71, 72, 73, 74). Neben der Bakterienflora scheinen diverse zusätzliche Faktoren eine Rolle zu spielen. Dazu zählen der Immunstatus des Wirts, Allgemeinerkrankungen wie Diabetes mellitus, die Pathogenität des bakteriellen Biofilms, Umweltfaktoren wie Stress und Rauchen, die psychische Konstitution, funktionelle Faktoren wie Störungen in der Okklusion und Artikulation oder ungünstig gestaltete Restaurationen sowie die individuelle Mundhygiene (1, 38, 39, 75).

Wissenschaftliche Bedeutung gewann in den letzten Jahren auch die Identifizierung genetischer Risikofaktoren für Parodontitis. Bestimmte HLA-Merkmale waren z. B. negativ mit der Prävalenz einer generalisierten chronischen Parodontitis und dem Nachweis von *A. actinomycetemcomitans* in der subgingivalen Plaque assoziiert (76). Bestimmte Polymorphismen im IL-1-Gen sind mit höherem Zahnverlust und schwererem Knochenabbau bei Parodontitispatienten sowie mit einem erhöhten Risiko für chronische Parodontitis verbunden (77, 78). Polymorphismen der Gene für IL-6 und IL-10 stellen ebenfalls Risikofaktoren für chronische Parodontitis dar (79). Bei japanischen Patienten war ein Polymorphismus des Fc- γ -Rezeptor-Gens mit einer geringeren Anfälligkeit für chronische Parodontitis verbunden (80). Der Einfluss vieler weiterer Genpolymorphismen wird im Zusammenhang mit Ausprägung und Verlauf der Parodontitis vermutet (81).

Zusammenfassend ist Parodontitis durch folgende Charakteristika gekennzeichnet:

- Entzündlich bedingter irreversibler Abbau von bindegewebigen und knöchernen Strukturen des Zahnhalteapparats.
- Bakterielle Lipopolysaccharide sogenannter parodontopathogener Bakterien rekrutieren über immunologische Regelkreise Abwehrzellen wie beispielsweise die polymorphkernigen neutrophilen Granulozyten, die über eine Vielzahl gewebedestruktiv wirkender Enzyme verfügen (38, 39, 40).
- Es handelt sich bei der Parodontitis nicht um eine klassische Infektionskrankheit im Sinne der Henle-Koch'schen Postulate (57, 59, 60, 61). Vielmehr wird eine als besonders pathogen angesehene Bakterienflora, die in einem Biofilm organisiert die Wurzeloberflächen

befallener Zähne besiedelt, zusammen mit wirtseigenen Faktoren als für die Gewebede-
struktion bei der Parodontitis ursächlich angesehen (46, 47, 50, 63, 65). Die Entzündungs-
reaktion des Wirts ist dabei hauptsächlich für die Zerstörung parodontalen Gewebes ver-
antwortlich.

- Neben der bakteriellen Plaque sind viele Kofaktoren in der Pathogenese der Parodontitis
von Bedeutung: Alter, Stress, Soziale Herkunft, Nikotin- und Alkoholabusus, Ernährung,
Medikamente, Genetik, Diabetes mellitus, Adipositas (9, 38, 39, 40, 43, 72, 75, 76, 78, 82,
83, 84).

3 Ätiologie und Pathogenese der entzündlich rheumatischen Erkrankungen unter besonderer Berücksichtigung der Rheumatoiden Arthritis, Psoriasis- arthritis und des Morbus Bechterew

3.1 Rheumatoide Arthritis

Unter Rheumatoider Arthritis versteht man eine systemische Erkrankung des Bindegewebes, die
sich überwiegend in den Gelenken manifestiert. In der Gelenkinnenhaut entsteht über Wochen
und Monate infolge der entzündlichen Komponente der Erkrankung Pannusgewebe, das Infiltrate
aus Lymphozyten, Makrophagen und Granulozyten enthält. Unter Wirkung lysosomaler Enzyme
aus dem entstandenen Ersatzgewebe wird die Innenhaut des betroffenen Gelenks allmählich zer-
setzt (85, 86). Die Erkrankung ist hinsichtlich der Anzahl der betroffenen Gelenke sowie der
Schnelligkeit ihrer Zerstörung variabel. Nach Jahren kann die RA so schwerwiegende Gelenkver-
änderungen nach sich ziehen, dass diese für die betroffenen Individuen zur Invalidität führen kön-
nen. Rheumatisch bedingte Entzündungen können auch an Sehnenscheiden, Schleimbeuteln,
Gefäßen, Augen, serösen Häuten und inneren Organen beobachtet werden (86, 87).

Eine RA kann grundlegend in jedem Lebensalter auftreten. In den meisten Fällen befinden sich
die betroffenen Patienten hingegen zwischen dem 25. und 50. Lebensjahr (88). Die Prävalenz liegt
in Westeuropa etwa bei 1 % und steigt ab dem 55. Lebensjahr auf annähernd 2 % (86). Frauen
sind nahezu dreimal häufiger betroffen, die Neuerkrankungsrate pro Jahr beläuft sich auf unge-
fähr 35–65 Fälle pro 100 000 Einwohner (86, 88). Individuen aus niedrigeren sozialen Schichten
erkranken häufiger an RA (89).

Klinisch durchläuft die RA mehrere Stadien bis zu ihrer definitiven Manifestation. Am Beginn der
Erkrankung steht ein allgemeines Krankheitsgefühl der Patienten, begleitet von nächtlichem
Schwitzen und Schmerzen in einzelnen Gelenken (88). Die Betroffenen berichten über schnelle
Ermüdung und Kraftlosigkeit. Häufig beginnen die Gelenkschmerzen symmetrisch an den Finger-

grund-und-Mittelgelenken bzw. an den Zehengrundgelenken (86). Anschließend werden weitere Gelenke wie Knie-, Hand-, Sprung-, Schulter-, Zehen-, Ellbogen- und Hüftgelenke ins Krankheitsgeschehen involviert. Dem stehen ein oligoartikulärer asymmetrischer Beginn der Erkrankung und zum Teil auch ein monoartikulärer Krankheitsbeginn entgegen (86). Die Prodromalsymptome der RA können Tage bis Monate Bestand haben und begleitet sein von der charakteristischen Morgensteifigkeit. Im darauffolgenden Stadium sind bereits Schwellungen an den betroffenen Gelenken palpierbar und die Morgensteifigkeit kann über den gesamten Vormittag fortauern. Eine Totalremission ist zu diesem Zeitpunkt noch möglich (88). Kommt es nicht zu einer Remission der Symptomatik treten binnen Kurzem Bewegungseinschränkungen an den involvierten Gelenken auf. Charakteristisch sind in diesem Stadium der Erkrankung Tenosynovitiden und gegebenenfalls Schleimbeutelentzündungen (88). Daran schließt sich die Knorpel- und Knochendestruktion durch die Erkrankung an, begleitet von zunehmender Muskelatrophie der betroffenen Extremitäten. Im letzten Stadium der Erkrankung führen fibröse oder knöcherne Ankylosen einzelner Gelenke mitunter zur Invalidität der Patienten (88).

Für die Diagnosestellung bieten sich die Kriterien des American College of Rheumatology (ACR) an (90), derer mindestens vier erfüllt sein müssen, um die Diagnose RA stellen zu können:

- Morgensteifigkeit von mindestens einer Stunde Dauer,
- fluktuierende Gewebeschwellung nicht knöchernen Ursprungs von mindestens drei Gelenkregionen, objektiv beurteilt,
- Befall mindestens eines Hand-, Metakarpophalangeal- oder proximalen Interphalangealgelenks,
- beidseitiger, symmetrischer Befall derselben Gelenkregion,
- Rheumaknoten (= subkutane Knoten) über Knochenvorsprüngen oder gelenknahen Streckseiten,
- Rheumafaktor nachweisbar,
- radiologische Veränderungen z. B. gelenknahe Osteoporose oder Erosionen der betroffenen Gelenke.

Differentialdiagnostisch sind neben der Arthritis psoriatica und dem Morbus Bechterew von der RA Reaktive Arthritiden, systemischer Lupus erythematodes, Progressive systemische Sklerose, Mixed connective tissue disease, die juvenile Arthritis, adulter Morbus Still, Felty-Syndrom, Sjögren-Syndrom, Polymyalgia-rheumatica/Riesenzellarteriitis-Syndrom, Arthritis urica und weitere Erkrankungen abzugrenzen (86).

Nach der S1-Leitlinie der Deutschen Gesellschaft für Rheumatologie (91) ist MTX bei aktiver RA das Therapiemittel der Wahl. MTX ist ein Folsäureantagonist und hemmt dadurch den Zellzyklus, was einen antiproliferativen Effekt nach sich zieht. Des Weiteren hemmt MTX die Wirkungen von IL-1 und IL-2 (92). Die LTB₄-Synthese in neutrophilen Granulozyten und deren Chemotaxis werden durch MTX ebenfalls inhibiert (93, 94).

Ebenso standardmäßig eingesetzt in der Therapie der RA werden Glucocorticoide. Durch Hemmung der Phospholipase A₂, Abbau der Kapillarpermeabilität, Senkung der F_c-Rezeptorexpression auf T-Lymphozyten, Senkung des Immunglobulin-A- und IgG-Spiegels im Serum und Hemmung der Migration neutrophiler Granulozyten besitzen die Glucocorticoide neben weiteren Wirkmechanismen einen antiinflammatorischen Effekt (95).

Neuere Medikamente wie Leflunamid greifen in den Zellzyklus ein. Die Reifung autoantigener B-Lymphozyten wird dadurch gehemmt (96).

Eine entzündungshemmende und immunmodulierende Wirkung durch Senkung des IgA-Spiegels und Hemmung der Synthese von LTB₄ hat das für die Therapie der rheumatischen Erkrankungen speziell entwickelte Sulfasalazin (97).

Bei Nichtansprechen auf die klassischen medikamentösen Therapien wird der Einsatz eines Biologikums erwogen (98, 99). So wurden beispielsweise mit einer Kombinationstherapie aus MTX und Infliximab[®], einem TNF- α -Blocker, bessere Ergebnisse erzielt als mit MTX und einem Placebo (100). Das Ansprechen auf TNF- α -Blocker scheint unter anderem von der Anwesenheit von Rheumafaktoren und Anti-CCP-Antikörpern abhängig zu sein. Der mit dem DAS28-Score evaluierte Therapieerfolg mit den TNF- α -Blockern Infliximab[®], Etanercept[®] und Adalimumab[®] war bei Probanden mit Autoantikörpern gegen CCP geringer als bei Probanden ohne RA-spezifische Autoantikörper (101). Das Ansprechen auf eine Therapie mit TNF- α -Blockern kann auch von der genetischen Konstellation beeinflusst sein. Träger eines bestimmten Polymorphismus im PTPRC-Gen, einem Kandidatengen für die RA-Anfälligkeit, sprachen besser auf eine Therapie mit einem TNF- α -Blocker an (102). Darüber hinaus lieferte die intravenöse Therapie der RA mit monoklonalen Antikörpern gegen den IL-6-Rezeptor (Tocilizumab[®]) gute Ergebnisse. Sowohl die alleinige Anwendung als auch die Kombination von Tocilizumab[®] mit MTX führte zu einer Verbesserung der Symptomatik bei RA-Patienten (103).

Als ätiologisch und pathogenetisch entscheidend werden bei der RA folgende Aspekte angesehen (siehe auch Abb. 3):

- genetische Disposition (HLA- HLA-DRB1*0401, 0404, 0408, 0101),

(27, 104, 105, 106, 107),

- fehlgesteuerte Immunantwort des Wirtsorganismus auf ein unbekanntes Antigen (Bakterien, Viren),
- Kofaktoren: Geschlecht, Alter, Psyche, Rauchen, BMI.

Die Ätiologie der RA ist bis heute noch nicht vollkommen geklärt. Eine Antigen-getriggerte Autoimmunreaktion wird am häufigsten angenommen (86, 88). Zu diesen Antigenen können z. B. auch bakterielle und virale Proteine zählen (108). Daneben scheinen Risikofaktoren wie das Alter, das Geschlecht und die genetische Konstellation der betroffenen Individuen sowie exogene Faktoren wie der Genuss von Nikotin und Alkohol Beginn und Verlauf der Erkrankung zu beeinflussen. Für eine genetische Disposition der RA spricht die Beobachtung, dass Verwandte ersten Grades von Patienten mit bereits bestehender RA bis zu fünfmal häufiger als die Normalbevölkerung an einer RA erkranken (86). Eine RA verläuft bei familienanamnestisch vorbelasteten Erkrankten in der Regel schwerer (106). Eine Schlüsselrolle spielen in diesem Kontext Histokompatibilitätsantigene, deren Typisierung bei von RA Betroffenen Rückschlüsse auf eine erbliche Disposition der Erkrankung erlaubt: Träger des Histokompatibilitätsantigens HLA-DR4 tragen ein bis zu siebenfach höheres Risiko in sich, an einer RA zu erkranken (105). HLA-DR4 wird aber auch bei 30 % der gesunden Individuen gefunden, woraus sich folgern lässt, dass nicht jeder HLA-DR4-Träger an einer RA erkrankt. Träger des HLA-DR1-Merkmals sind einem etwa zweifach erhöhten Risiko ausgesetzt, an einer RA zu erkranken (27). Innerhalb der HLA-Gruppen findet man verschiedene Allele vor, deren Genprodukte sich hinsichtlich der Aminosäuresequenz in der hypervariablen Region unterscheiden. HLA-DRB1*0404 (Dw14) und HLA-DRB1*0401 (Dw4) sind z. B. mit RA assoziierte HLA-DR4-Allele (104). Neben der genetisch beeinflussten Immunantwort muss es ein auslösendes Antigen geben, das die Prozesse und Interaktionen zwischen den beteiligten Entzündungszellen und dem Gewebe des betroffenen Gelenks triggert. Hitzeschockproteine bestimmter Bakterienspezies könnten Aminosäurehomologien zu wirtseigenen Zelloberflächenstrukturen aufweisen, was dann über die T-Zell-Aktivierung zu einer Autoimmunreaktion im betroffenen Organismus führen könnte (siehe Abb. 3). Für das Zelloberflächenantigen HLA-B27 – nachweislich mit dem Risiko, an Spondylitis ankylosans zu erkranken, verbunden – ist zum Beispiel eine Kreuzreaktion mit Klebsiellen bekannt. Das Parodontopathogen *P. gingivalis* kann mithilfe eines speziellen Enzyms, der Peptidyl-Arginin-Deiminase (PAD), Aminosäuren und somit körpereigene Oberflächenstrukturen durch Citrullinierung so verändern, dass die betroffenen Zellen als Antigen angesehen werden (29). Handelt es sich hierbei um Proteine auf der Gelenkinnenhaut, wäre das ein möglicher Mechanismus im Prozess der Rheumaentstehung (Abb. 3).

Histologisch ist bei der RA die Anzahl von CD4+-T-Helferzellen im Blut und in der Synovialis im Vergleich zur Synovialflüssigkeit erhöht. Die Menge an CD8+-T-Suppressorzellen ist dagegen in der Synovialflüssigkeit im Vergleich zur Synovialis und zum Blut vermindert (86). Dies könnte ein Hinweis darauf sein, dass CD4+-T-Helferzellen aus dem Blut und aus der Synovialflüssigkeit in die Gelenkhaut wandern. Folge der gestörten T-Zell-Balance (88, 109) mit einer verminderten Aktivität immunologisch regulierender T-Suppressorzellen ist unter anderem die vermehrte Differenzierung von B-Lymphozyten in Plasmazellen. Die B-Lymphozyten werden von den T-Helferzellen, denen vorher über phagozytierende Makrophagen ein Antigen präsentiert worden ist, aktiviert. An dieser Stelle kommt es zur Interaktion zweier möglicher Ursachen bei der Entstehung der RA. Zum einen kommt es zur immunologischen Reaktion von Abwehrzellen auf ein bislang unbekanntes Antigen, zum anderen führt die genetische „Vorprogrammierung“ von B-Lymphozyten zur Antikörperbildung, was wiederum zur Entstehung der Rheumafaktoren beiträgt. Die durch Antigenpräsentation über T-Lymphozyten aktivierten Plasmazellen bilden vermehrt Autoantikörper des IgG- oder IgM-Typs, sogenannte Rheumafaktoren, die gegen den Fc-Teil des wirtseigenen IgG gerichtet sind. Infolgedessen entstehen Immunkomplexe, die sich im Gefäßsystem ablagern oder von zur Phagozytose befähigten Zellen aus dem Blut aufgenommen werden. Dementsprechend wird das Komplementsystem des betroffenen Individuums aktiviert. Daraus resultierend entsteht eine Entzündung der involvierten Gefäße (86, 88). Der Nachweis abgelagerter Immunkomplexe aus Rheumafaktor und IgG gelang überdies auf dem Gelenkknorpel von RA betroffenen Individuen (110). Diagnostisch ist der Nachweis von Rheumafaktoren ein wichtiges Indiz, wenngleich der Rheumafaktor auch bei anderen Autoimmunkrankheiten nachweisbar ist. Der Nachweis bedarf somit einer sorgfältigen Interpretation. Ist der Rheumafaktor im Blut eines Patienten mit krankheitstypischen Symptomen nachweisbar, spricht man von einer seropositiven RA gegenüber einer seronegativen RA, wenn der Rheumafaktor nicht nachgewiesen werden kann. Als wichtiges Kriterium bei der Diagnosestellung im Frühstadium gilt inzwischen der Nachweis von Antikörpern gegen citrullinierte Peptide (29).

Sezerniertes IL-1 aus aktivierten Makrophagen zieht die zusätzliche Aktivierung von B-Lymphozyten nach sich. Nach deren Migration ins Gewebe findet eine Differenzierung in immunoglobulinproduzierende Plasmazellen statt. Durch Antigenpräsentation werden die in erhöhter Anzahl vorhandenen T-Helferzellen zur Produktion von IL-2 angeregt, das ebenfalls B-Lymphozyten aktiviert (86, 88). Monozyten und Lymphozyten produzieren daraufhin die entzündungsprogressiv wirkenden Zytokine IL-6 und TNF- α (111, 112). Unter Mitwirkung der Komplementbestandteile C3b und C5a werden neutrophile Granulozyten zur Diapedese in den Gelenkknorpel angeregt. Die Phagozytose von Immunkomplexen durch diese Zellen hat die Freisetzung von Kollagenasen und Sauerstoffradikalen zum Ergebnis. Die Komplementaktivierung durch zirku-

lierende Immunkomplexe aus Rheumafaktor und IgG bewirkt außerdem die Degranulation von Mastzellen und infolgedessen die Freisetzung chemotaktisch wirksamer und entzündungsprogressiv wirkender Prostaglandinen und Leukotrienen in den extrazellulären Raum. Das Zusammenwirken dieser mannigfaltigen immunologischen Komponenten hat zudem die Aktivierung von Osteoklasten, Chondrozyten und Bindegewebezellen zur Konsequenz. Deren Regulationsmechanismen sind, wie bei der Parodontitis auch, durch die Vielzahl entzündungsprogressiv wirkender Mediatoren außer Kraft gesetzt, sodass der Abbau gelenkeigenen Knochens und Knorpels überwiegt (86, 88, 113).

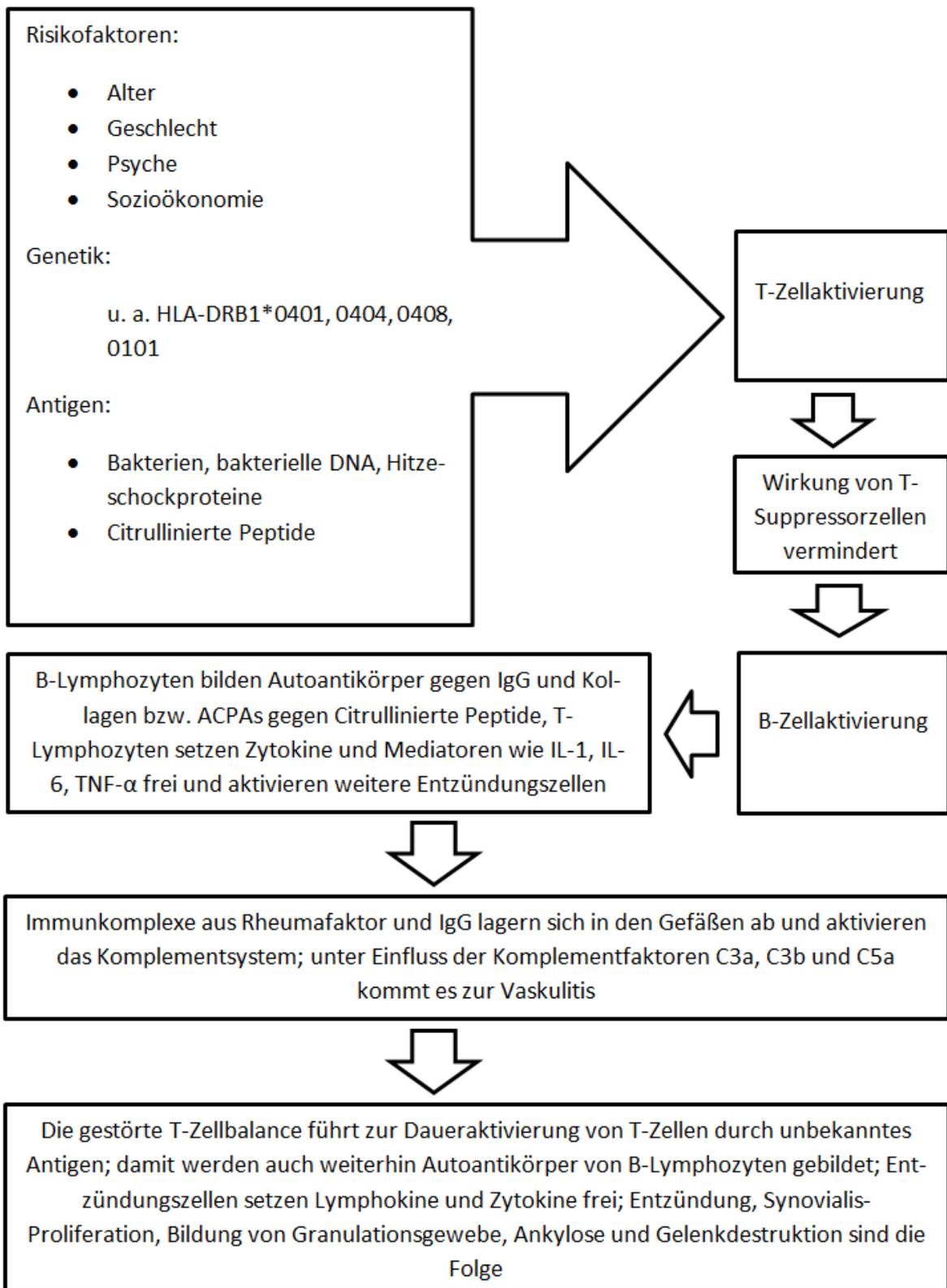


Abbildung 3: Vereinfachtes Schema zur Entstehung der RA

3.2 Arthritis psoriatica (Psoriasisarthritis)

Die pathophysiologischen Prozesse der Arthritis psoriatica ähneln denen der RA. Dennoch ist die PsA ein eigenständiges Leiden unter den entzündlich rheumatischen Erkrankungen (87). Mitunter steht der Ausbruch der Arthritis psoriatica im Zusammenhang mit einer im Vorfeld abgelaufenen Psoriasis. Die Psoriasis kann aber auch erst während der eigentlichen Erkrankung in Erscheinung treten. Neben destruktiven Prozessen ist die PsA auch durch proliferativ osteoplastische Komponenten gekennzeichnet. Als morphologische Merkmale können zusammenfassend eine Kombination aus Synovitis, Osteolysen der Phalangenenden (Pencil-in-cup-Phänomen), Knochenneubildung und periostaler Proliferation genannt werden (87).

Die PsA besitzt eine erbliche Disposition: Träger von HLA-A26, -B38 und -DR4 scheinen häufiger an PsA zu erkranken (114). Erosive Verläufe treten öfter bei Trägern von HLA-DR3 auf, bei spondylitischen Verläufen besteht eine Assoziation zu HLA-B27 (114). Exogene Auslöser einer Immunantwort, z. B. Bakterien, könnten in der Ätiologie der PsA eine Rolle spielen (115).

Die Prävalenz der PsA liegt bei 0,1–0,2 %, Männer und Frauen sind etwa gleich häufig betroffen.

Der Nachweis von Zytokinen aus der Produktion von T-Helferzellen gelang, wie bei der RA, in von PsA betroffenen Gelenken (116). Von Bedeutung sind dabei IL-2, TNF- β und INF- γ sowie IL-4 und IL-10. Im Laborbefund sind bei PsA-Patienten eine diskrete Erhöhung der Blutsenkungsgeschwindigkeit und eine Leukozytose vorzufinden (86). Distale und proximale Interphalangealgelenke der Finger und Zehen sind häufig befallen. Rheumafaktoren können bei der PsA kaum nachgewiesen werden.

3.3 Morbus Bechterew (Spondylitis ankylosans)

Die ankylosierende Spondylitis, geläufig auch unter den Synonymen Morbus Bechterew (MB) oder Spondylitis ankylosans, ist den sogenannten seronegativen Arthritiden zugehörig, eben jene Gelenkentzündungen, bei welchen ein Rheumafaktor nicht nachweisbar ist (88). Es handelt sich beim MB um ein eigenständiges, entzündlich-rheumatisches Leiden mit destruktiv-entzündlichen und proliferativen Prozessen (87). Der Verlauf des MB geht oft mit einer Beteiligung der Wirbelsäule einher, ein Achsenskelettbefall ist bei dieser Erkrankung obligat (88). Typisch ist weiterhin der Befall von Knie-, Schulter und Hüftgelenken. Beim MB können ossifizierende Veränderungen und Ankylosen auftreten.

Die generelle Morbidität liegt bei ungefähr 0,2 %. Männer sind mit 70–80 % häufiger betroffen als Frauen. Das Manifestationsalter liegt in den meisten Fällen unterhalb des 45. Lebensjahrs. Typi-

sche Frühsymptome sind der morgendliche Rückenschmerz, Thoraxschmerz, Niesschmerz, Sehnenansatzschmerz und Arthritiden (87).

HLA-B27-Träger haben ein erhöhtes Risiko an MB zu erkranken (85, 87, 88). Bedeutung gewann außerdem die Theorie des „Molekularen Mimikry“ im Zusammenhang mit exogenen Erregern, z. B. Klebsiellen, wobei von einer molekularen Ähnlichkeit des HLA-B27-Moleküls mit Klebsiella-Molekülen ausgegangen wird. Eine Infektion mit Klebsiellen kann bei HLA-B27 positiven Individuen zur Bildung von Antikörpern gegen körpereigene Zellen führen (117, 118).

Im Laborbefund kann eine Beschleunigung der BSG auftreten. Auch andere Entzündungswerte können im Verlauf der Erkrankung ansteigen. Gewöhnlich lässt sich schon im Frühstadium der Erkrankung röntgenologisch eine Sakroiliitis nachweisen. Viszerale Manifestationen wie beispielsweise Iritis und Prostatitis sind ebenfalls im Verlauf der Erkrankung denkbar. Auch eine Assoziation zur Colitis ulcerosa und zum Morbus Crohn besteht beim MB (87).

4 Zusammenhänge zwischen entzündlich-rheumatischen Erkrankungen und Parodontitis

Der aktuelle Stand der Forschung legt die Vermutung nahe, dass Parodontitis mit RA assoziiert ist bzw. dass parodontopathogene Bakterien einen Risikofaktor für entzündlich-rheumatische Erkrankungen darstellen. Pischon und Mitarbeiter konnten das Alter als gemeinsamen Risikofaktor für beide Erkrankungen identifizieren. In der gleichen Studie konnte gezeigt werden, dass RA ein unabhängiger Risikofaktor für das Entstehen einer Parodontitis ist (21). Neben dem Alter sind das Geschlecht, die genetische Konstellation, Rauchen, psychosozialer Stress und Infektionen Risikofaktoren für entzündlich rheumatische Erkrankungen (17, 22, 88, 119) und Parodontitis (26, 38, 39, 76, 82, 120). Beide Krankheitsbilder teilen darüber hinaus mehrere charakteristische Gemeinsamkeiten:

1. entzündlicher Abbau von Bindegewebe und Knochen,
2. Einfluss von Zytokinen wie IL-1, IL-6, TNF- α und Produkten aus der Arachidonsäurekaskade wie PGE2 und LTB4 (42, 44, 84, 111, 112, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127),
3. Bakterien bzw. bakterielle Peptide als ätiologischer Faktor (18, 20, 128, 129),
4. genetische Disposition (26, 17, 104, 105, 130).

Trotz der Koexistenz gemeinsamer Risikofaktoren scheint die bidirektionale Beziehung beider Erkrankungen davon unabhängig zu existieren (6, 10). Die derzeitigen Erkenntnisse lassen die Schlussfolgerung zu, dass Parodontitis einen Einfluss auf die Pathogenese der RA hat (9).

Zu der Frage, ob eine Parodontitis mit RA assoziiert ist, wurden zunächst epidemiologische Studien durchgeführt. Mercado und Mitarbeiter (15) untersuchten die Prävalenz der RA an 1412 Probanden, die die Zahnklinik an der Universität von Queensland (Australien) aufsuchten. Individuen, bei denen sich eine parodontale Behandlung als notwendig erwies, hatten signifikant öfter eine RA (3,65 %) als Probanden, bei denen keine PAR-Therapie notwendig war (0,66 %). Die Häufigkeit der RA unter Parodontitispatienten lag auch über der Prävalenz von RA in der Gesamtbevölkerung (ca. 1 %).

Umgekehrt scheint auch eine RA mit einem höheren Risiko für Parodontitis assoziiert zu sein. Dissick und Mitarbeiter (10) wiesen eine signifikant höhere Prävalenz von Parodontitis unter 69 Individuen mit RA nach im Vergleich zu 35 Kontrollprobanden ohne RA. In diesem Zusammenhang konnten das Vorhandensein von Rheumafaktoren und der Nachweis von Antikörpern gegen zyklisch citrullinierte Peptide als wichtige Kofaktoren für das Parodontitisrisiko herausgearbeitet werden. RA-Probanden, die positiv für den IgM-Rheumafaktor und/oder auf Antikörper gegen zyklisch citrullinierte Peptide getestet wurden, hatten im Vergleich zu RA-Patienten, bei denen dies nicht der Fall war, gleichzeitig häufiger auch eine Parodontitis.

Bezüglich der beiden entzündlich rheumatischen Erkrankungen PsA und MB und ihrer Assoziation zu Parodontitis existieren nicht viele Studien. Zwei Arbeiten zeigten jedoch, dass junge an MB oder PsA erkrankte Erwachsene ein höheres Risiko für Parodontitis aufwiesen als gesunde Kontrollprobanden (115, 131).

Mercado und Mitarbeiter fanden bei 65 Probanden mit RA signifikant mehr fehlende Zähne und einen signifikant höheren Prozentsatz an tiefen Zahnfleischtaschen als bei Kontrollprobanden. Positiv assoziiert mit parodontalem Knochenverlust bei diesen Individuen waren die Anzahl geschwollener Gelenke, das CRP und die BSG (16). Auch de Pablo und Mitarbeiter fanden bei 103 Individuen mit RA einen signifikant höheren Zahnverlust im Vergleich zu Probanden ohne entzündlich rheumatische Erkrankung (4358 Probanden). Zudem fanden sich in der Kohorte mit RA auch signifikant mehr zahnlose Probanden (7). Pischon und Mitarbeiter wiesen bei Probanden mit RA einen signifikant höheren Attachmentverlust nach als bei Kontrollprobanden (21). Zu ähnlichen Ergebnissen kamen Havemose-Poulsen und Holmstrup, die bei 23 Studienteilnehmern mit RA einen signifikant höheren parodontalen Attachmentverlust feststellten als bei 25 Kontrollprobanden ohne RA (12). Auch ein Patientenkollektiv mit beginnender RA wies eine erhöhte Prävalenz an Zahnfleischtaschen mit einer Sondierungstiefe von 4 und mehr Millimetern auf im Vergleich zu Kontrollprobanden, wobei die Ergebnisse dieser Studie unabhängig waren vom Alter und Rauchverhalten der untersuchten Individuen. Zusätzlich korrelierte die Anwesenheit von *P. gingi-*

valis in der subgingivalen Plaque positiv mit den gemessenen Sondierungstiefen (23). Bei 95 Probanden mit RA war die Prävalenz einer schweren Parodontitis signifikant höher als bei den Kontrollprobanden (24). Zusätzlich korrelierte der Schweregrad der Parodontitis mit dem Schweregrad der rheumatischen Erkrankung. Überdies war der Antikörpertiter im Serum gegen *P. gingivalis* signifikant erhöht in der Gruppe der Probanden mit schwerer Parodontitis und RA im Vergleich zur Gruppe der nur an schwerer Parodontitis erkrankten Probanden. Bei Probanden mit langjährig bestehender RA unter entsprechender medikamentöser Therapie mit Antirheumatika, Kortikosteroiden und nicht steroidalen Antirheumatika fand man einen höheren gingivalen Blutungsindex, tiefere Zahnfleischtaschen, erhöhten klinischen Attachmentverlust und mehr fehlende Zähne im Vergleich zu gesunden Kontrollprobanden (13). Aus den genannten Studien lässt sich ableiten, dass die Anwesenheit des parodontopathogenen Bakteriums *P. gingivalis*, der Schweregrad der parodontalen Destruktion und die Anzahl fehlender Zähne Faktoren sind, die auf einen möglichen Zusammenhang von Parodontitis mit entzündlich rheumatischen Erkrankungen hinweisen.

Antikörper gegen parodontopathogene Bakterien konnten bereits in der Synovialflüssigkeit von RA-Patienten nachgewiesen werden (28). Dabei war die Konzentration von IgA-Antikörpern gegen *T. forsythia* in der Synovialflüssigkeit von RA-Patienten höher als bei Kontrollprobanden. Die Beziehung des parodontopathogenen Bakteriums *P. gingivalis* zur Anwesenheit von Autoantikörpern bei Patienten mit RA-Risiko untersuchten Mikuls und Mitarbeiter. Bei Probanden ohne RA, die aber Träger zweier möglicher Isotypen von Rheumafaktoren und Antikörpern gegen zyklisch citrullinierte Peptide waren (Hochrisikogruppe), sowie bei Probanden mit einem RA-assoziierten Antikörper (RF oder ACPA) waren die Antikörpertiter gegen *P. gingivalis* höher als bei Probanden ohne Nachweis RA-spezifischer Antikörper. Demnach könnte Parodontitis bzw. eine Infektion mit *P. gingivalis* die Bildung von Rheumafaktoren und Antikörpern gegen zyklisch citrullinierte Peptide triggern (132). Bekanntermaßen sind Autoantikörper bei RA, neben Kollagen, auch gegen körpereigenes IgG gerichtet. Bei Patienten mit RA fehlt bei 60 % ihres IgG die terminale Galaktose. Solche IgG-Formen wurden auch im Speichel und der Sulkusflüssigkeit von Parodontitispatienten gefunden. Das parodontopathogene Bakterium *Prevotella melaninogenica* ist in der Lage, an IgG zu binden und dessen Galaktose zu metabolisieren. Es zeigte sich, dass der Nachweis hypogalaktosierten IgG in einem schlechteren RA-Verlauf resultiert (9, 133, 134). Des Weiteren wurden Ähnlichkeiten von Oberflächenmolekülen parodontaler Bakterien zu humanem IgG entdeckt, was über Kreuzreaktionen die Bildung von IgM-RF-Autoantikörpern induzieren kann (30).

Von allen genannten Parodontopathogenen scheint *P. gingivalis* in der Pathogenese der RA eine besondere Bedeutung zu haben. Autoantikörper gegen zyklisch citrullinierte Peptide sind eventu-

ell ein Schlüssel bei der Entwicklung von Autoimmunität bei der RA. Von den natürlich vorkommenden citrullinierten Proteinen (Vimentin, alpha-Enolase, Fibrinogen) ist alpha-Enolase besonders interessant, weil Antikörper gegen die immundominanten Epitope der humanen citrullinierten alpha-Enolase (CEP-1) kreuzreagieren mit einer Sequenz der citrullinierten Enolase von *P. gingivalis* (135). Citrullinierte Peptide werden durch posttranslationale Modifikation (Citrullinierung) gebildet (Abb. 4). Das Enzym Peptidylarginin-Deiminase (PAD) katalysiert diesen Prozess. Dieses Enzym existiert in fünf Isoformen, wobei PAD4 und PAD2 bei der Citrullinierung von Peptiden im menschlichen Gelenk die wichtigste darstellen dürften. Selbige sind in zahlreichen Körperzellen vorhanden, z. B. in T- und B-Lymphozyten, neutrophilen Granulozyten, Monozyten und Makrophagen. Die PAD4 ist normalerweise inaktiv, nach Apoptose von Makrophagen wird sie aber durch den daraus resultierenden Einstrom von Calciumionen aktiviert (136, 137). Das Rauchen beispielsweise, ein gemeinsamer Risikofaktor für Parodontitis und RA, kann die Apoptose von Zellen und damit die Aktivierung der PAD initiieren (138). Antikörper gegen citrullinierte Peptide aus der Lunge könnten ins Gelenk gelangen und dort Immunkomplexe bilden. Dies würde zur Zytokinfreisetzung antigenproduzierender Zellen, zur Bildung weiterer ACPAs und Rheumafaktoren führen (139). *P. gingivalis* ist das einzige bekannte Bakterium, das eine PAD synthetisieren kann (22, 140). Da Antikörpertiter gegen *P. gingivalis* bei Individuen mit Rheumatoider Arthritis signifikant erhöht sind (17, 19) und der Antikörpertiter gegen *P. gingivalis* außerdem mit Anti-CCP-Antikörper-Isotypen korreliert (17, 132), ist es naheliegend, *P. gingivalis* als potenziellen Risikofaktor für entzündlich-rheumatische Erkrankungen zu betrachten. In Gelenken von RA-Patienten wurde unter anderem citrulliniertes Fibrinogen nachgewiesen (68). Voraussetzung für die Citrullinierung ist die vorherige Proteolyse von Fibrinogen, was durch eine *P.-g.-*Protease (Gingipain) erfolgt. Zusätzlich bauen Gingipaine von *P. gingivalis* extrazelluläre Matrix ab und aktivieren Matrixmetalloproteinasen (129). Des Weiteren ist *P. gingivalis* mit seinen Fimbrien befähigt, Endothelzellen zu durchwandern, und somit in der Lage, über die Blutbahn in die Gelenke zu gelangen (141).

Die Anwesenheit von PAD2, PAD4 und CCP wurde darüber hinaus vermehrt in entzündeter Gingiva nachgewiesen und auch die Anti-CCP-Level waren bei Parodontitispatienten höher als bei Kontrollprobanden ohne Parodontitis (142).

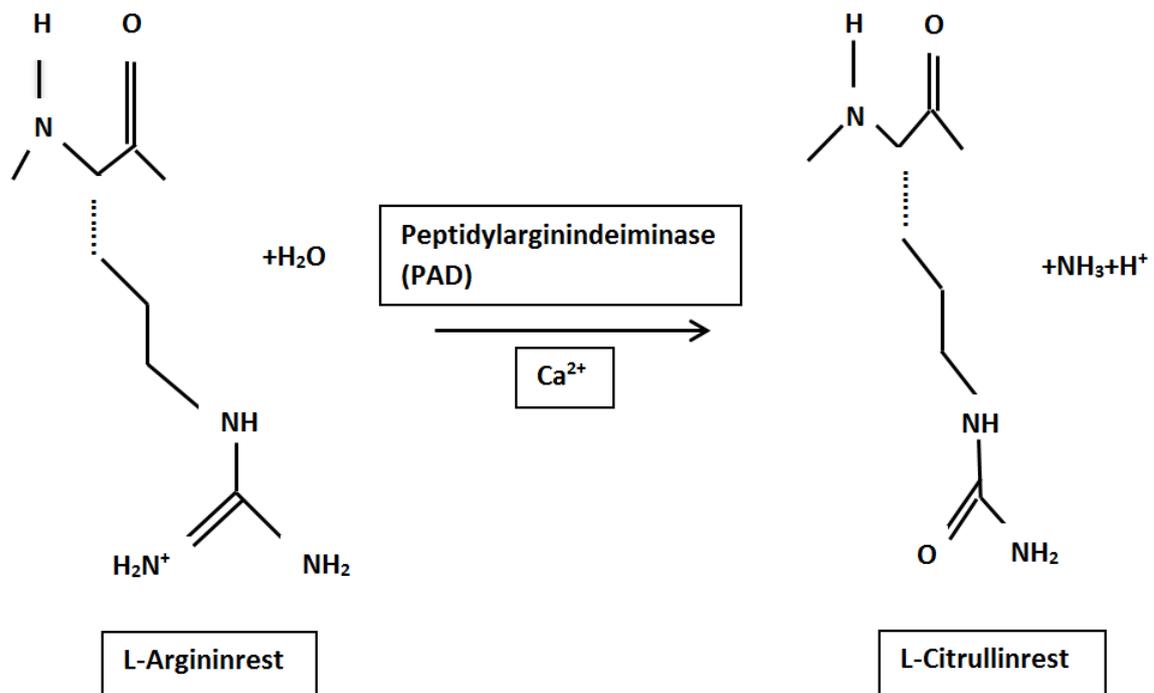


Abbildung 4: Schematische Darstellung der chemischen Umwandlung von Arginin zu Citrullin, katalysiert durch die Peptidylarginin-Deiminase (PAD), auch Citrullinierung oder Deimination genannt (143, 144)

Unter dem Gesichtspunkt einer genetischen Disposition beider Erkrankungen ist die Steigerung der Expression sogenannter V β -Gene in T-Lymphozyten durch die parodontopathogenen Bakterien *P. intermedia* und *P. gingivalis* erwähnenswert (9). Die V β -Region gehört zum variablen Teil der β -Kette des T-Zellrezeptors. Diese Region ist Bindungsstelle für Moleküle, welche die T-Zelle durch Verbindung des T-Zellrezeptors mit dem MHC-Molekül dauerhaft aktivieren können, sogenannte Superantigene (145). Die gestörte T-Zell-Balance spielt bekanntermaßen eine Rolle in der Pathogenese der RA. Die V β -Formen 6, 8, 14 und 17 kommen bei RA-Patienten häufiger vor (146). *P. intermedia* kann die Expression der V β -Gene 8 und 17 steigern, *P. gingivalis* steigert die Expression der V β -Gene 6 und 8 (147, 148). Diese Bakterien könnten somit Einfluss nehmen auf die Deregulierung des Immunsystems bei RA. Außerdem kommen bestimmte HLA-DR-Allele bei RA und PA häufiger vor. So konnten die HLA-DR4-Subtypen 0401, 0404, 0405 und 0408 als Risikofaktor für rasch fortschreitende Parodontitis identifiziert werden (26). HLA-DRB1*0401/0404-Genotypen sind darauf aufbauend mit einem erhöhten Risiko für RA bei jungen Männern assoziiert (107). Demnach könnte das genetische Risiko, an einer RA zu erkranken, gleichzeitig mit einem erhöhten genetischen Risiko für Parodontitis assoziiert sein und umgekehrt. Ein weiterer Aspekt ist die Beeinflussung des Tyrosin-Phosphatase-Gens durch einen gemeinsamen Risikofaktor von Parodontitis und RA, das Rauchen (149). Dieses Gen ist verantwortlich für die Regulation der Aktivität von T- und B-Lymphozyten, die sowohl bei RA als auch bei PA gestört ist.

Parodontitis und RA sind gekennzeichnet durch einen entzündlich bedingten Abbau von Bindegewebe und Knochen. Die bei beiden Erkrankungen zum Gewebeabbau führenden molekularbiologischen Prozesse und daran beteiligte Mediatoren ähneln sich.

Einfluss auf die Progression beider Erkrankungen haben aus molekularbiologischer Sicht vor allem Zytokine und Produkte aus der Arachidonsäurekaskade (42, 121). Entzündetes Parodont produziert signifikante Mengen an IL-1 β , IL-6 und TNF- α (70). Ursächlich dafür ist die Antigenpräsentation durch T-Helferzellen (126). Als Antigene fungieren beispielsweise bakterielle Lipopolysaccharide parodontopathogener Keime. In der Therapie der Rheumatoiden Arthritis wird versucht, diese Zytokine, besonders TNF- α , zu beeinflussen (124). Erfolgversprechende Ergebnisse lieferte die Therapie der Rheumatoiden Arthritis mit TNF- α -Blockern. Dies führte zu der Überlegung, TNF- α -Blocker wie Infliximab[®] auch in der Parodontitistherapie zu verwenden (150). In Tierversuchen konnte mit IL-1 und TNF- α -Antagonisten erreicht werden, dass die Vergrößerung des entzündlichen Zellinfiltrats, das sich bei der Parodontitis in Richtung des Alveolarknochens ausbreitet, stagnierte und keine Osteoklasten mehr rekrutiert wurden (123).

Inzwischen geht man davon aus, dass Polymorphismen im IL-1-Gen das Parodontitisrisiko mitbestimmen (151). In Plasma und Synovia von Individuen mit Rheumatoider Arthritis konnte vermehrt IL-1 nachgewiesen werden. Durch die Hemmung von IL-1 mit rekombinantem humanen IL-1RA als IL-1-Rezeptorantagonist konnte die klinische Symptomatik der betroffenen Patienten verbessert werden (111). Neben der Hemmung von IL-1 und TNF- α spielt seit Kurzem auch die Hemmung von IL-6 mit Antikörpern gegen den IL-6-Rezeptor eine Rolle in der Therapie der Rheumatoiden Arthritis (112). IL-6 induziert die Neubildung kleiner Blutgefäße, wodurch die Pannusbildung in Gelenken von Patienten mit RA befördert wird. Des Weiteren trägt IL-6 zur Osteoklastenformierung in den Gelenken bei und induziert außerdem die Produktion von Matrixmetalloproteinasen in Synovialzellen und Chondrozyten (125). Die Gewebespiegel von IL-1 und IL-6, deren Sekretion durch IL-1 stimuliert wird, stehen in direktem Zusammenhang mit der Gewebedestruktion bei Parodontitis (122). Polymorphismen im IL-6-Gen erhöhen ferner das Risiko für aggressive Parodontitis (84). Weiterhin produzieren Makrophagen bei einer Entzündung, wie sie bei RA und Parodontitis erfolgt, PGE₂, das entscheidend zur Osteoklastenformierung beiträgt und demzufolge für den Abbau von Knochen bei beiden Erkrankungen mitverantwortlich ist (42). Eine Hemmung der Cyclooxygenaseaktivität und damit auch der Prostaglandinproduktion konnte die Krankheits-symptomatik der RA verbessern (152). In Tierversuchen mit einem *P. gingivalis*-Impfstoff sanken die PGE₂-Spiegel nach der Impfung signifikant. Ein verminderter PGE₂-Spiegel war auch mit einem geringeren parodontalen Knochenabbau assoziiert (153).

Neben Leukozyten produzieren auch synoviale Fibroblasten eine Vielzahl von Entzündungsmediatoren bei RA, beispielsweise LTB₄. Es reguliert die Expression von TNF- α und IL-1 β in diesen Zellen und ist damit indirekt auch an gewebedestruktiven Prozessen beteiligt (113). Übergreifend waren in gingivalem Bindegewebe und Sulkusflüssigkeit von Patienten mit Parodontitis im Vergleich zu gesunden Probanden die Spiegel von LTB₄ signifikant erhöht (154).

Die genannten Gesichtspunkte erklären, dass in der Ätiologie und den pathophysiologischen Abläufen von RA und PA Gemeinsamkeiten und Schnittstellen bestehen. Unter diesem Aspekt ist es von Bedeutung zu wissen, ob die Behandlung der Parodontitis die Symptomatik bei Individuen mit entzündlich-rheumatischen Erkrankungen verbessert. Es existieren bereits Studien, die eine solche Annahme bestätigen.

Von 29 Probanden mit gesicherter RA-Diagnose und einer seit mindestens 3 Jahren bestehenden Parodontitis wurden 17 durch Scaling/Root Planing und Mundhygieneinstruktionen parodontal behandelt. Die restlichen 12 Probanden erfuhren keine Parodontalbehandlung. Der Beobachtungszeitraum betrug acht Wochen von Beginn der Parodontalbehandlung an. Danach wiesen 10 der 17 behandelten Probanden eine signifikante Verbesserung in der Symptomatik ihrer entzündlich rheumatischen Erkrankung auf. Nur 2 der 12 parodontal unbehandelten Studienteilnehmer konnten eine mit dem DAS28-Score evaluierte Verbesserung der Symptomatik hinsichtlich ihrer Rheumatoiden Arthritis feststellen. Dieses Ergebnis erwies sich als signifikant (5). Ähnliche Ergebnisse erzielte man bei 40 Probanden mit Rheumatoider Arthritis und schwerer Parodontitis. Auch hier zeigte sich 6 Wochen nach Scaling/Root Planing und Mundhygieneinstruktion eine signifikante Verbesserung der Symptomatik der Rheumatoiden Arthritis im Vergleich zur parodontal unbehandelten Gruppe (20). Die Serumspiegel für CRP und TNF- α bei Probanden mit RA und chronischer Parodontitis konnten mittels nicht chirurgischer Parodontitisbehandlung signifikant gesenkt werden (11).

Auch die antibiotische Behandlung von Patienten mit rheumatischen Erkrankungen lieferte interessante Ergebnisse. In einer sechsmonatigen Placebo-kontrollierten Doppelblindstudie (33) erhielten RA-Patienten unter Methotrexattherapie zusätzlich Levofloxacin. Das therapeutische Outcome gemessen als Anteil der Patienten mit einer Verbesserung der ACR-Kriterien verbesserte sich signifikant in der Gruppe mit Levofloxacin-Gabe im Vergleich zu den Patienten, die ein Placebo erhielten. Levofloxacin wird normalerweise in der Behandlung von Anaerobierinfektionen verwendet. Ein Rückgang der entzündlichen Symptomatik bei Patienten mit RA war auch nach der Behandlung mit Clarithromycin feststellbar. In einer Placebo-kontrollierten Studie hatten signifikant mehr RA-Patienten unter Clarithromycin eine Verbesserung ihrer ACR-Kriterien zu verzeich-

nen als die Kontrollgruppe (32). Clarithromycin wird normalerweise bei der Behandlung von Infektionen der Atemwege, des Hals-Nasen-Ohren-Bereichs, des Magens und der Haut eingesetzt. Diese Resultate könnten Hinweis für eine Beteiligung anaerober Bakterien in der Pathophysiologie der RA sein (31).

Die beschriebenen Studien zeigen, dass Symptomatik und Aktivität von RA durch eine Parodontistherapie deutlich reduziert wurden. Es sind weitere Longitudinal- und Interventionsstudien nötig, um den Effekt parodontaler Therapie und Prävention auf die Ausprägung rheumatischer Erkrankungen zu untersuchen.

5 Zielstellung

Aufgrund der bisher publizierten Studien ist von einer Wechselbeziehung zwischen Parodontitis und rheumatischen Erkrankungen auszugehen. In epidemiologischen Studien wurde gezeigt, dass eine Parodontitis mit einer erhöhten Prävalenz für eine Rheumatoidarthritis assoziiert war, während Patienten mit Rheumatoidarthritis auch häufiger parodontal erkrankt waren. Eine direkte oder indirekte Beteiligung parodontaler Bakterien in der Ätiologie und Pathogenese rheumatischer Erkrankungen scheint biologisch plausibel. Zu Beginn dieser Arbeit war jedoch nicht bekannt, ob parodontale Bakterien von der Mundhöhle in Gelenke gelangen können.

Die vorliegende Arbeit hatte deshalb das Ziel zu untersuchen, ob die DNA von oral pathogenen Bakterien in der Synovialflüssigkeit rheumatisch betroffener Gelenke nachgewiesen werden kann und ob dies häufiger der Fall ist im Vergleich zu Kontrollprobanden ohne rheumatische Erkrankungen. Wenn dieser Nachweis tatsächlich gelingt könnte dies auf eine Beteiligung parodontopathogener Bakterien in der Ätiologie und Pathogenese rheumatischer Erkrankungen hindeuten. Außerdem vermuteten wir, dass Bakterienbefunde aus subgingivalen und synovialen Proben bei Patienten mit rheumatischen Erkrankungen häufiger übereinstimmen als bei Kontrollprobanden. Wird diese Hypothese bestätigt, so kann von einem oralen Ursprung der bakteriellen DNA in der Synovialflüssigkeit ausgegangen werden. Abschließend wollten wir die Hypothese prüfen, ob innerhalb der Rheumagruppe parodontale und mikrobielle Befunde zur Anzahl rheumatisch betroffener Gelenke assoziiert sind. Auch dies könnte die Hypothese einer Assoziation zwischen Parodontitis und rheumatischen Erkrankungen stützen.

6 Material und Methode

6.1 Auswahl der Probanden

Es wurden Probanden mit einer entzündlich-rheumatischen Erkrankung mit der Indikation zur Punktion eines erkrankten Gelenks untersucht. Folgende entzündlich-rheumatischen Erkrankungen wurden in dieser Studie berücksichtigt: RA (Chronische Polyarthritits), PsA (Osteoarthropathia psoriatica, Psoriasis arthropathica) und MB (Ankylosierende Spondylitis, Spondylitis ankylosans). Die zu untersuchenden Patienten und die Kontrollprobanden ohne rheumatische Erkrankung wiesen keine mit Parodontitis assoziierten zusätzlichen Erkrankungen wie z. B. Diabetes mellitus oder bestimmte Syndrome (Langdon-Down-Syndrom, Papillon-Lefèvre-Syndrom) auf. Da in einer Paralleluntersuchung auch genetische Untersuchungen erfolgen sollten, wurden nur in Deutschland lebende Personen in die Studie eingeschlossen. Das Mindestalter wurde auf 18 Jahre festgelegt. Patienten und Kontrollprobanden durften drei Monate vor der zahnärztlichen Untersuchung keine Antibiotika eingenommen haben. Eine systematische Parodontaltherapie mit Scaling und Root Planing sechs Monate oder weniger vor der zahnärztlichen Befundung führte ebenfalls zum Studienausschluss. Weiterhin wurden schwangere Probandinnen ausgeschlossen. Als Kontrollgruppe dienten Individuen ohne entzündlich rheumatische Erkrankung, bei denen ein Gelenkpunktat aus anderen Gründen, z. B. wegen einer Arthrose, indiziert war. Außerdem wurde Synovialflüssigkeit nach Aufklärung und Einwilligung der Patienten im Rahmen von Hüft- und Kniegelenksoperationen entnommen. Kontrollprobanden waren auch Verstorbene, denen während der Autopsie Synovialflüssigkeit aus dem Kniegelenk entnommen worden war. Vor der Gelenkpunktion wurde den Probanden vom behandelnden Arzt ein Aufklärungsbogen zu dieser Studie ausgehändigt. Zusätzlich wurden sie mündlich über Nutzen und Risiken der Studie informiert. Mit ihrer Unterschrift willigten die Probanden in die zahnärztliche Untersuchung sowie die mikrobiologische Analyse ihrer Synovialflüssigkeit und ihrer oralen Plaqueproben ein. Alle Studienteilnehmer wurden darüber informiert, dass sie jederzeit und ohne Angabe von Gründen und persönlichen Nachteilen von der Studienteilnahme zurücktreten können.

Den Patienten mit einer rheumatischen Erkrankung und den Kontrollprobanden wurden jeweils unterschiedliche Aufklärungsbögen ausgehändigt (Anhang). Die vorliegende Studie wurde im Vorfeld von der Ethikkommission der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg geprüft und genehmigt.

6.2 Klinisch-rheumatologische Untersuchung und Gewinnung von Synovialflüssigkeit

Die Punktion des Gelenks zur Gewinnung von Synovialflüssigkeit erfolgte durch einen erfahrenen Rheumatologen, Orthopäden, Rechtsmediziner oder den jeweiligen Operateur. Teilnehmende Ärzte und Institute an der vorliegenden Arbeit sind nachfolgend aufgelistet:

- Dr. Carlo Weimann, Harsdorfer Str. 17, 39110 Magdeburg,
- Uta Kopsch, Harnackstr. 4, 39104 Magdeburg,
- Dr. Thomas Linde, Ludwig-Wucherer-Str. 10, 06108 Halle,
- Dr. Karin Babinsky, Pestalozzistr. 2a, 06128 Halle,
- Dr. Anke Liebhaber, Pestalozzistr. 2, 06128 Halle,
- Dr. Rolf Schobeß, Geiststr. 15, 06108 Halle,
- Dr. Jörg Brand, Universitätsklinikum Halle, Klinik und Poliklinik für Orthopädie und Physikalische Medizin, Magdeburger Str. 22, 06112 Halle,
- Klinik für Orthopädie und Unfallchirurgie der Pfeifferschen Stiftungen Magdeburg, Pfeifferstr. 10, 39114 Magdeburg,
- Prof. Dr. Gernot Keyßer, Universitätsklinikum Halle, Klinik und Poliklinik für Innere Medizin II, Ernst Grube-Str. 40, 06120 Halle,
- Dr. Christoph Schäfer, Universitätsklinikum Halle, Klinik und Poliklinik für Innere Medizin II, Ernst Grube-Str. 40, 06120 Halle,
- PD Dr. Steffen Heide, Universitätsklinikum Halle, Institut für Rechtsmedizin, Franzosenweg 1, 06112 Halle.

In möglichst kurzem zeitlichem Abstand zur Gelenkpunktion wurden die zahnärztliche Untersuchung und die Entnahme der mikrobiologischen Plaqueproben aus der Mundhöhle realisiert. Zusätzlich gab der Rheumatologe oder behandelnde Arzt Auskunft über Bewegungseinschränkungen der oberen Extremitäten aufgrund der rheumatischen Erkrankung, über die Anzahl schmerzender, geschwollener und von Bewegungseinschränkungen betroffener Gelenke sowie über die Gesamtzahl befallener Gelenke. Die Einnahme nicht steroidaler Antiphlogistika, von Vitaminen, Zytokinantagonisten, Basistherapeutika, Injektionstherapeutika und anderen Medikamenten wurde durch den behandelnden Arzt dokumentiert.

6.3 Zahnärztliche Untersuchung

Für die zahnärztliche Untersuchung wurde ein vorbereitetes Studienprotokoll verwendet, das neben der zahnärztlichen Befundaufnahme mit Parodontalstatus (siehe Anhang) folgende vom untersuchenden Zahnarzt zu erfragenden bzw. diagnostisch zu ermittelnden Inhalte umfasste:

- Name, Vorname, Geschlecht, ethnische Zugehörigkeit, Geburtsdatum, Alter, Anschrift, Telefonnummer und Anschrift sowie Telefonnummer des Hausarztes der Probanden,
- Erfüllung der Einschlusskriterien oder Erfüllung eines oder mehrerer Ausschlusskriterien der Studie (siehe Kapitel: Auswahl der Probanden),
- Rauchverhalten,
- Kiefergelenksschmerzen bei der Mundöffnung; Beeinträchtigung der Mundöffnung,
- Overbite in mm; maximale Mundöffnung in mm gemessen als vertikaler Schneidekantenabstand der Oberkiefer- und Unterkieferschneidezähne; maximale schmerzfreie Mundöffnung in mm; Mobilitätseinschränkung der Mundöffnung in mm,
- Einschränkung der Mundhygiene durch die rheumatische Erkrankung (nicht bei Kontrollprobanden); in diesem Zusammenhang wurde in Abstimmung mit dem behandelnden Rheumatologen erfragt, welche Gelenke von Schmerzen, Schwellungen und/oder Bewegungseinschränkungen betroffen waren; die Gesamtzahl der durch die rheumatische Erkrankung betroffenen Gelenke wurde im Studienprotokoll notiert (entfiel in der Kontrollgruppe),
- Dauer der rheumatischen Erkrankung (nicht bei Kontrollprobanden),
- Medikamenteneinnahmen,
- sonstige Erkrankungen.

Für den zahnärztlichen Befund wurden fehlende, kariöse und gefüllte Zähne in Form des DMF/T-Indexes registriert. Überkronte Zähne sowie Zähne mit Inlays, Onlays oder Teilkronen wurden als „Filled“ bewertet. Fehlende Weisheitszähne fielen nicht unter die Rubrik fehlender Zähne bei der Ermittlung der Gesamtzahl nicht mehr vorhandener Zähne. Überstehende Füllungen und Kronenränder wurden ebenfalls protokolliert, da sie einen Einfluss auf die Ausbildung von Zahnfleischtaschen haben können. Verschiedene Indizes zur Beurteilung der Mundhygiene und subgingivalen Entzündung der Gingiva wurden erhoben: der proximale Plaqueindex API nach Lange et al. (155) und der modifizierte Blutungsindex BOP (Bleeding on probing) (156). Im Vergleich zum Gingival Bleeding Index von Ainamo und Bay 1975 (157) wurde die Blutung 30 Sekunden nach subgingivaler Sondierung nicht an vier, sondern an sechs Positionen pro Zahn (vestibulär distal, vestibulär Mitte, vestibulär mesial, oral mesial, oral Mitte, oral distal) bewertet und der prozentuale Anteil der Stellen mit Sondierblutung berechnet. Für die Erhebung des proximalen Plaqueindexes wurde eine Farblösung verwendet (Mira-2-Ton, Firma Hager und Werken, Duisburg,

Deutschland), die im Approximalraum verbliebene supragingivale Plaque sichtbar machte (155). Die Lösung wurde dabei im I. und III. Quadranten von oral und im II. und IV. Quadranten von vestibulär aufgetragen. Im Anschluss wurde der Studienproband gebeten, einmal auszuspülen. Verblieb Farblösung in den Approximalräumen, wurde dies als positiver Messpunkt gewertet. Der API ergab sich nach Verhältnisbildung der positiven Messpunkte im Verhältnis zur Gesamtzahl möglicher Messpunkte. Bei den untersuchten verstorbenen Individuen wurden der BOP-Index und der API nicht erhoben.

Für die Bestimmung der Sondierungstiefen kam bei den lebenden Probanden eine druckkalibrierte Sonde (TPS-probe Vivicare, Vivadent, Schaan, Liechtenstein) zur Anwendung. Die Sonde besitzt an ihrem Arbeitsende eine Kugel. Die Messskala der Sonde ist in Millimetern abgebildet, wobei der Bereich zwischen 3,5 und 5,5 mm durch eine schwarze Bande besonders gekennzeichnet ist. Durch die über ein elastisches Gelenk vermittelte Druckkalibrierung sollte sichergestellt sein, dass die Messung immer mit dem gleichen Druck von $0,2 \text{ N/cm}^2$ durchgeführt wurde. Das Messergebnis bei der Sondierung der parodontalen Tasche hängt unter anderem von der Sondierungskraft, der Einschubrichtung (sie sollte 15 Grad zur Zahnachse betragen), dem Vorhandensein von Konkrementen, dem Entzündungsgrad der Gingiva und dem Sondendurchmesser ab (158). Bei den verstorbenen Individuen wurde mit einer nicht druckkalibrierten Sonde gemessen (PCPUNC156, Hu-Friedy, Rotterdam, Netherlands). Die Messung der Taschentiefen erfolgte an sechs Messpunkten pro Zahn: mesiobuccal, buccal, distobuccal, distooral, oral und mesiooral. Zur Verifizierung eines klinischen Attachmentverlusts CAL wurde bei den Verstorbenen nur mesial und distal sondiert, da aufgrund der oftmals schon vorhandenen Erstarrung der Kaumuskulatur die passive Mundöffnung extrem eingeschränkt war. Ein Parodontitisfall wurde in dieser Studie definiert als approximaler klinischer Attachmentverlust von drei oder mehr Millimetern an mindestens zwei nicht benachbarten Zähnen. Hatten mehr als 30 % der sondierten Zähne einen approximalen klinischen Attachmentverlust von fünf und mehr Millimetern wurde die Diagnose schwere Parodontitis gestellt (159). Der klinische Attachmentverlust wurde definiert als die Distanz von der Schmelz-Zement-Grenze zum Taschenfundus (83). Für die Bestimmung des Mittelwerts für den Attachmentverlust (CAL_{max}) wurden bei jedem Probanden die jeweils höchsten CAL-Werte pro Zahn addiert und durch die Gesamtzahl der gemessenen Zähne dividiert.

6.4 Intraorale Probenentnahme für die mikrobiologische Untersuchung

Die Entnahme mikrobiologischer Plaqueproben aus der Mundhöhle erfolgte mit sterilen endodontischen Papierspitzen (Entnahmetray Micro-IDent® Test, Hain Lifescience, Nehren, Deutschland) jeweils aus der tiefsten Tasche jedes Quadranten. Nach supragingivaler Zahnreinigung und relati-

ver Trockenlegung wurden die Papierspitzen schnell und unter Vermeidung einer Sondierblutung bis auf den Boden der evaluierten Zahnfleischtaschen vorgeschoben und nach 20 Sekunden wieder entfernt. Die vier Papierspitzen eines Patienten wurden anschließend in einem Eppendorfröhrchen gepoolt. Der klinische Attachmentverlust an den Messpositionen (CAL_{Bakt}) wurde auf dem Studienprotokoll notiert. Zur Gewinnung mikrobiologisch auswertbaren Materials bei zahnlosen Probanden wurden mit den vier Papierspitzen Abstriche von der Wangenschleimhaut und der Zunge der Probanden genommen. Die Papierspitzen wurden zu diesem Zweck 20 Sekunden auf der Schleimhaut des Planum buccale, des Vestibulums und des Zungengrunds bewegt, um Mukosaepithel aufzunehmen.

Die Analysierung der Plaqueproben fand im molekularbiologischen Labor der Universitätspoliklinik für Zahnerhaltungskunde und Parodontologie der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg innerhalb einer Woche nach Probenentnahme statt.

6.5 Nachweis oraler bakterieller DNA

Zur intraoralen Keimbestimmung wurde ein molekularbiologischer Test (micro-IDent[®]-Test, HAIN-Lifescience, Nehren, Deutschland) verwendet. Im micro-IDent[®]-Test wurde die DNA der fünf parodontopathogenen Keime *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Tannerella forsythia* und *Treponema denticula* nachgewiesen. Das Prinzip des Tests beruht auf der Amplifizierung bakterienspezifischer DNA-Abschnitte mittels Polymerasekettenreaktion. Durch die PCR werden exakt definierte DNA-Fragmente mit einer bestimmten Länge von Basenpaaren vervielfältigt. Hierfür wurden ein Forward- und ein Reverseprimer zur DNA gegeben. Dies sind Oligonukleotide, die komplementär an einer bestimmten Stelle der DNA binden. Zusätzlich wurden thermostabile DNA-Polymerase und Puffer hinzugefügt. Die DNA-Polymerase katalysiert die Vervielfältigung der DNA. Die Amplifizierung wurde in Thermocyclern (Biometra, Göttingen, Deutschland) umgesetzt. Erster Schritt war die Denaturierung der doppelsträngigen DNA in DNA-Einzelstränge. Nun konnten die Primer beim sogenannten Annealing an die DNA-Einzelstränge binden. Im letzten Schritt erfolgte die Elongation. Die DNA wurde mithilfe eines Enzyms, der Taq-Polymerase, welche die Bindung komplementärer Nukleotide an den Einzelstrang katalysiert, zum Doppelstrang vervollständigt.

Nach Denaturierung der DNA-Fragmente wurde die Bildung von Hybriden mit bakterienspezifischen Gensonden realisiert. Waren Test-DNA und Sonde miteinander komplementär, bildeten sich DNA-DNA-Hybride. Lag die Konzentration bakterieller DNA über einer bestimmten Nachweisgrenze, wurde eine Farbreaktion ausgelöst. Wurde die Nachweisgrenze unterschritten, unterblieb

die Farbreaktion, da keine Hybridisierung stattfand. Die Nachweisgrenze lag für *A. a.* bei 10^3 , für *P. g.*, *P. i.*, *T. d.* und *T. f.* bei 10^4 genome equivalents.

Zur Isolierung der bakteriellen DNA aus oralen Plaqueproben wurde das QIAamp DNA Mini Kit (Qiagen, Hilden, Deutschland) verwendet. Die Papierspitzen wurden mit 180 µl ATL-Puffer und 20 µl Proteinase K für 10 min bei 70 °C inkubiert. Die Zugabe von 20 µl AL-Puffer und die Inkubation für 5 min bei 95 °C schlossen sich an. Die auf diese Weise gelöste DNA wurde auf eine Säule pipettiert (QIAamp spin column) und zweimal mit jeweils 500 µl Puffer AW1 und AW2 gewaschen. Zum Schluss wurde die bakterielle DNA in 400 µl AE-Puffer gelöst, um dann bei -20 °C gelagert zu werden.

Die Vervielfältigung der bakteriellen DNA wurde mit dem micro-IDent®-Test (HAIN-Lifescience, Nehren, Deutschland) realisiert. Hierzu wurden 35 µl Mastermix (Puffer, biotinylierter Primer und DNA als Positivkontrolle), 2 µl U Taq-Polymerase (Eppendorf, Hamburg, Deutschland) und 5 µl der isolierten DNA-Lösung gemixt. Danach wurde die PCR im Thermocycler nach folgendem Programmierungsprotokoll durchgeführt: 5 min bei 95 °C; 10 Zyklen: 30 s 95 °C, 2 min 58 °C; 20 Zyklen: 25 s 95 °C, 40 s 53 °C, 40 s 70 °C; 8 min 70 °C.

Für die Hybridisierung wurden 20 µl des PCR-Produkts und 20 µl der Denaturierungslösung in eine Inkubationswanne pipettiert, in der die Agenzien für 5 min bei Raumtemperatur verblieben. Im Anschluss wurde 1 ml auf 45 °C vorgewärmter Hybridisierungspuffer hinzugegeben und ein mit spezifischen Gensonden beschichteter Membranstreifen so in die Wanne gelegt, dass er vollständig mit Flüssigkeit überdeckt war. Die Wanne wurde nun für 30 min bei 45 °C im Schüttelwasserbad (Eppendorf, Hamburg, Deutschland) inkubiert. Im Anschluss wurde der Hybridisierungspuffer komplett entfernt und die Membran mit 1 ml Stringent-Waschlösung bei 45 °C für 15 min im Wasserbad unter leichtem Schütteln inkubiert. Nach Entfernung der Stringent-Waschlösung folgte die Waschung des Membranstreifens mit 1 ml Rinse für 1 min unter ständiger Bewegung, woran sich die Inkubation für 30 min mit 1 ml verdünntem Konjugat anschloss. Nach Abschütten der Lösung wurde der Membranstreifen zweimal je 1 min mit 1 ml Rinse-Lösung und einmal mit 1 ml Aqua dest. auf einem Horizontalschüttler nochmals gewaschen und die Waschlösung danach wieder abgeschüttet. Jetzt wurde 1 ml verdünnte Substratlösung zum Membranstreifen hinzupipettiert und dieser lichtgeschützt für 3–20 min inkubiert. Die Inkubation erfolgte ohne Schütteln. Durch zweimaliges Waschen mit Aqua dest. wurde die Substratreaktion gestoppt. Der Streifen wurde auf saugfähigem Papier getrocknet. Im Folgenden wurden die Banden mithilfe des Auswertungsbogens zugeordnet. Der Nachweis der Bakterien erfolgte visuell durch Farbreaktion mittels alkalischer Phosphatase. Zusätzlich waren im Test zwei Positivkontrollen enthalten. Eine Bande zeigte die gelungene Amplifikation bakterieller DNA durch die Polymerasekettenreaktion an (AC in

Abb. 5). Eine zusätzliche Bande diente als Kontrolle für die stattgefundene Hybridisierung mit den bakterienspezifischen Gensonden (CC in Abb. 5).

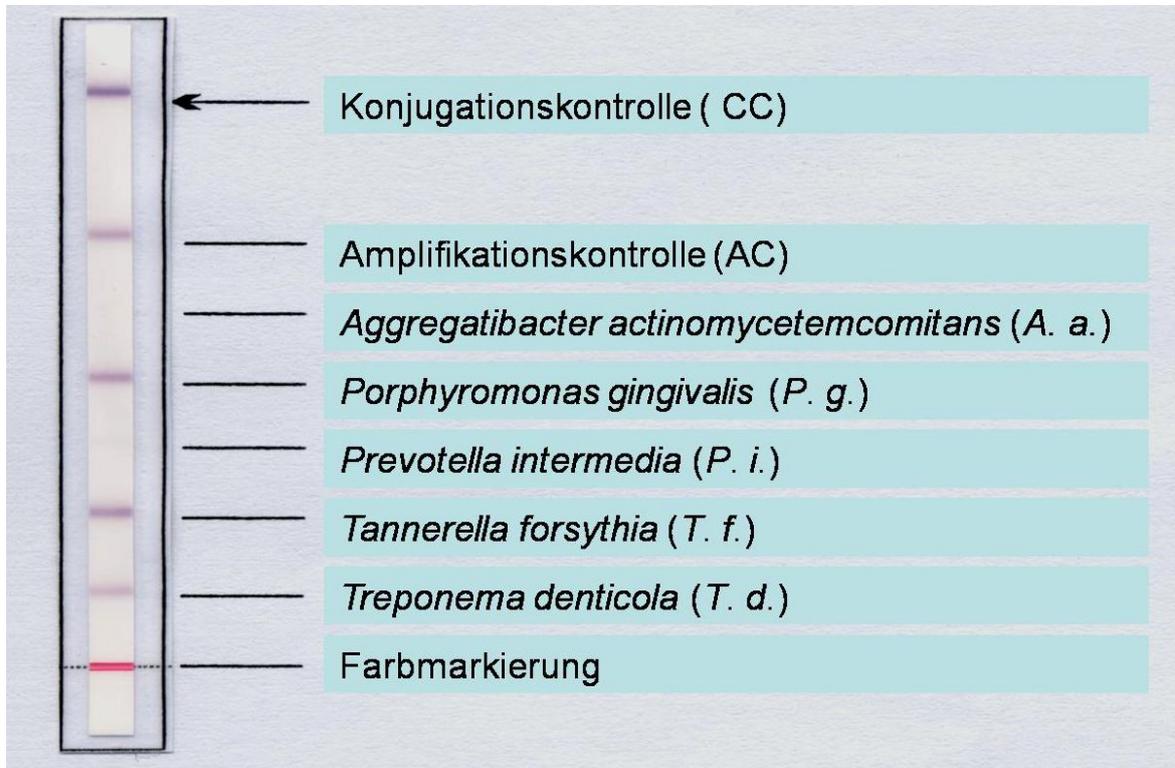


Abbildung 5: Papierstreifen mit Farbreaktionen zum Nachweis bakterieller DNA durch DNA-DNA-Hybridisierung; positive Reaktion für die Bakterien *P. gingivalis*, *T. forsythia* und *T. denticola*

6.6 Nachweis der DNA parodontopathogener Bakterien in der Synovialflüssigkeit

Für den Nachweis bakterieller DNA in der Synovialflüssigkeit wurde eigens ein hochempfindliches Testverfahren entwickelt, da mit einer wesentlich geringeren Bakterienkonzentration in der Synovialflüssigkeit im Vergleich zur subgingivalen Plaque gerechnet werden musste.

6.6.1 Probenentnahme

Die Entnahme von Synovialflüssigkeit bei den Patienten der Rheumagruppe erfolgte durch die an der Studie teilnehmenden Rheumatologen Dr. Weimann, Dr. Linde, Prof. Dr. Keyßer, Dr. Schäfer, Dr. Babinski, Dr. Brand, Dr. Liebhaber und Dr. Schobeß. Im Falle der Kontrollgruppe erfolgten die Punktion des jeweiligen Gelenks und die Entnahme von Synovialflüssigkeit entweder durch die Orthopädin Frau Uta Kopsch, den jeweiligen Operateur der Klinik für Orthopädie und Unfallchirurgie der Pfeifferschen Stiftungen in Magdeburg oder, im Falle der Verstorbenen, durch den Rechtsmediziner PD Dr. Heide bzw. Herrn Strauss. Die gewonnene Synovialflüssigkeit wurde in einem sterilen, luftdicht verschlossenen Röhrchen kühl zwischengelagert und sofort in das Labor

der Universitätspoliklinik für Zahnerhaltungskunde und Parodontologie in Halle gebracht bzw. aus Magdeburg stammende Proben an dieses verschickt.

6.6.2 DNA-Isolation aus Synovia mittels QIAamp®DNA Mini Kit

Sofort nach der Ankunft im Labor wurde die Synovia mit 1 ml 1 x PBS versetzt und bei 7254 rpm 10 min zentrifugiert. Der Überstand wurde im Anschluss abpipettiert und das entstandene Pellet bei -20 °C eingefroren.

Für die DNA-Isolation wurde das QIAamp DNA Mini Kit (Qiagen, Hilden, Deutschland) eingesetzt. Das Bakterienpellet wurde aufgetaut und in 180 µl ATL-Puffer gelöst. Dabei durften keine Kristalle im Puffer sichtbar sein. Als Positivkontrolle der Bakterienisolation wurden je 1000 Zellen des Bakterienstamms *E.coli* XL2b (Konstrukt FL/RA, PCMV-Vektor) zur DNA-Isolation eingesetzt. 20 µl Proteinase K wurden dazugegeben und alles gevortext (Pulse-vortexing 30 s, Vortex Genie 2 Bender & Hobein AG Bruchsal, Deutschland). Der Ansatz wurde nun bei 56 °C für 6 h inkubiert. Nach Zugabe von 200 µl Puffer AL erfolgte ein Pulse-Vortexing für 15 s. Danach wurde der Ansatz für 10 min bei 70 °C inkubiert. 200 µl Ethanol (100 %, Roth, Karlsruhe, Deutschland) wurden hinzugefügt und dann für 15 s ein Pulse-Vortexing durchgeführt. Anschließend wurde alles auf eine Säule gegeben und für 1 min bei 8000 rpm zentrifugiert (Biofuge pico, Heraeus, Hanau, Deutschland). Nun wurden 500 µl Puffer AW1 dem Ansatz hinzugefügt und dieser nochmals für 1 min bei 8000 rpm zentrifugiert. Im Anschluss erfolgte die Zugabe von 500 µl Puffer AW2 und eine Zentrifugation für 3 min bei 14 000 rpm. Danach wurden 50 µl H₂O zugegeben, alles für 5 min inkubiert und anschließend ein weiterer Zentrifugationszyklus für 1 min bei 8000 rpm durchgeführt. Das Eluat wurde nun nochmals auf die Säule gegeben, für 5 min inkubiert, zentrifugiert und die DNA anschließend bei -20 °C eingefroren.

6.6.3 PCRs zum Nachweis der 5 parodontopathogenen Markerkeime in der Synovia

Nachgewiesen werden sollte die DNA der fünf parodontopathogenen Keime *A. a.*, *P. g.*, *P. i.*, *T. f.* und *T. d.*

Tabelle 1: Eingestellte Parameter des Thermocyclers (Mastercycler Gradient, Eppendorf, Hamburg, Deutschland) zur Vervielfältigung der bakterielle DNAn aus der Synovia mittels PCR

	A. a.	P. g.	P. i.	T. d.	T. f.
PCR-Gerät	Biometra1	Biometra3	Biometra1	Biometra3	Boimetra3
PCR-Programm	1: Keim 54	1: Keim60	1: Keim54	1: Keim 60	1: Keim 60
Annealing	54 °C	60 °C	54 °C	60 °C	60 °C
PCR-Produkt	557 bp	404 bp	307 bp	316 bp	641 bp

Für die PCR wurden Primer verwendet (Tab. 2), die in den für die jeweilige bakterielle 16s-rRNA spezifischen Regionen binden. Die Parameter des verwendeten Thermocyclers für die Vervielfältigung der aus der Synovialflüssigkeit isolierten bakteriellen DNA sind Tab. 1 zu entnehmen.

Tabelle 2: Forward- und Reverse-Primer für die fünf parodontopathogenen Keime

	Forward primer 3'–5'	Reverse Primer 3'–5'
<i>A. a.</i>	aaa ccc atc tct gag ttc ttc ttc	atg cca act tga cgt taa at
<i>P. g.</i>	agg cag ctt gcc ata ctg cg	act gtt agc aac tac cga tgt
<i>P. i.</i>	caa aga ttc atc ggt gga	gcc ggt cct tat tcg aag
<i>T. d.</i>	taa tac cga atg tgc tca ttt aca t	tca aag aag cat tcc ctc ttc ttc tta
<i>T. f.</i>	gcg tat gta acc tgc ccg ca	tgc ttc agt gtc agt tat acc t

6.6.4 PCR-Ansatz und Gelelektrophorese

Der PCR-Ansatz bestand aus Mastermix, Wasser, Primer 1 und Primer 2 und ein-prozentigem Formamid. Verwendete Chemikalien und Puffer sind in Tabelle 3 aufgelistet.

Tabelle 3: Im Rahmen der PCRs zur Vervielfältigung bakterieller DNA aus der Synovialflüssigkeit verwendete Chemikalien und Puffer

Verwendete Chemikalien und Puffer	Zusammensetzung
0,5 x TBE-Puffer	45 mM Tris-HCl (Merck, Darmstadt, Deutschland), 45 mM Borsäure (Roth, Karlsruhe, Deutschland), 0,5 mM EDTA pH 8,3 (Serva, Heidelberg, Deutschland)
Puffer für Taq-Polymerase:	
• Eppendorf (Hamburg)	1,5 mM MgCl ₂ , 50 mM KCl, 10 mM Tris-HCl pH

	8,3, 15 mM Mg(OAc) ₂
• Fermentas (Leon-Rot)	2 mM MgCl ₂ , 20 mM (NH ₄) ₂ SO ₄ , 75 mM Tris-HCl pH 8,8, 0,01 % Tween
• Invitek (Berlin)	1,5 mM MgCl ₂ , 16 mM (NH ₄) ₂ SO ₄ , 50 mM Tris-HCl pH 8,8, 0,1 % Tween
• Promega (Mannheim)	1,5 M MgCl ₂ , 0,05 % W-1, 50 mM KCl, 20 mM Tris-HCl pH 8,4
Puffer für reverse Transkriptase	50 mM Tris-HCl pH 8,3 (Merck, Darmstadt, Deutschland), 50 mM KCl (Merck, Darmstadt, Deutschland), 10 mM MgCl ₂ (Aldrich, Steinheim, Deutschland), 10 mM Dithiothreitol, 0,5 mM Spermidin
Master Mix	50 U/ml Taq-Polymerase in Reaktionspuffer pH 8,5, 400 µM dATP, 400 µM dGTP, 400 µM dCTP, 400 µM dTTP, 3 mM MgCl ₂ , Firma Progema, Mannheim, Deutschland
Stopper	50 % Glyzerin (Roth, Karlsruhe, Deutschland), 0,05 % Bromphenolblau (Amersham-Pharmacia, Freiburg, Deutschland), 0,05 % Xylenykanol (Sigma, Deisenhofen, Deutschland) in 0,5 x TBE-Puffer, 45 mM Tris-HCl (Merck, Darmstadt, Deutschland), 45 mM Borsäure (Roth, Karlsruhe, Deutschland), 0,5 mM EDTA pH 8,3 (Serva, Heidelberg, Deutschland)

Je PCR wurde für jeden Markerkeim die Verdünnung von 10 000, 1000, 100 bzw. 10 Molekülen des entsprechenden Standards mitgeführt. Das PCR-Produkt wurde im Agarosegel nachgewiesen. Zur Agarosegelherstellung wurden 0,3 g Agarose (Biozym, Oldendorf, Deutschland) in 30 ml 0,5 x TBE-Puffer gegeben, das Gemisch in der Mikrowelle erhitzt, um dann mit 90 µl Ethidiumbromidlösung (Amersham-Pharmacia, Freiburg, Deutschland) versetzt zu werden. Zur Elektrophorese wurden jeweils 1 µl Stop-Mix und 5 µl genomische DNA verwendet. Als Laufpuffer diente 0,5 x TBE-Puffer. Die Laufzeit betrug ca. 20 min bei 175 V. Eine UV-Anregung erfolgte bei 320 nm auf dem UV-Transilluminator (UV-Transilluminator AGS, Heidelberg, Deutschland). Das Gel wurde mit einer Digitalkamera fotografiert.

Folgendes PCR-Programm wurde benutzt:

94 °C	2 min
92 °C	40 sec
54 o. 60 °C	40 sec 15 Zyklen
72 °C	1 min
1 sec	delay
92 °C	40 sec
50 o. 55 °C	40 sec 25 Zyklen
72 °C	1 min
1 sec	delay
72 °C	5 min
4 °C	hold

Die Nachweisgrenze für jeden Keim lag bei 10 DNA-Kopien pro Milliliter Synovialflüssigkeit.

6.7 Statistische Methoden

Das Programm SPSS 17.0 (SPSS 17.0 package, Chicago, IL) wurde zur statistischen Auswertung genutzt. Um Zusammenhänge zwischen kategorialen Variablen zu testen, wurde der Chi-Quadrat-Test mit Yates-Korrektur angewendet. Waren die erwarteten Häufigkeiten kleiner als fünf, wurden die p-Werte mit dem exakten Test nach Fisher berichtigt. Wurden Mehrfachvergleiche durchgeführt, erfolgte eine Korrektur der signifikanten p-Werte nach Bonferroni. Dabei wurden die p-Werte mit der Anzahl der durchgeführten Vergleiche multipliziert.

Um mögliche Zusammenhänge zwischen einerseits metrischen parodontalen und mikrobiologischen Daten sowie andererseits der Anzahl erkrankter Gelenke zu untersuchen, wurde der Spearman-Korrelationskoeffizient berechnet.

Metrische Daten wurden mithilfe des Kolmogorov-Smirnov-Tests auf Normalverteilung und mittels Levene-Test auf Varianzhomogenität geprüft. Beim Vergleich metrischer Variablen zwischen beiden Kohorten auf signifikante Unterschiede wurde bei Normalverteilung der T-Test angewendet. Beim Vergleich nicht normal verteilter metrischer Variablen kam der Mann-Whitney-U-Test zur Anwendung.

Bei allen statistischen Vergleichen wurde das Signifikanzniveau auf $p \leq 0,05$ festgelegt.

7 Ergebnisse

Es wurden 51 Patienten mit einer entzündlich-rheumatischen Erkrankung untersucht. Der größte Anteil von ihnen (n = 43, 84,31 %) entfiel auf Patienten mit einer Rheumatoidarthritis. Bei 4 (7,84 %) der Rheumapatienten wurde ein Morbus Bechterew, bei 3 (5,88 %) eine Psoriasisarthritis und bei einem Patienten (1,96 %) eine Monarthritis diagnostiziert. Die Kontrollgruppe setzte sich zusammen aus 28 (24,56 %) lebenden und 86 (75,44 %) verstorbenen Probanden. Bei den Lebenden handelte es sich um Patienten mit einer Arthrose des Kniegelenks oder Patienten, die eine Knie- oder Hüftgelenksendoprothese bekamen und wegen dieser Indikation operiert wurden. Bei den Patienten mit Arthrose war aufgrund einer Schwellung die Punktion des betreffenden Gelenks indiziert. Die Indikation zur Punktion wurde durch einen Orthopäden gestellt.

7.1 Demografische und klinische Parameter beider Kohorten im Vergleich

In beiden Studienkohorten hatten über 95 % der Probanden eine Parodontitis, d. h., sie wiesen mindestens zwei nicht aneinander grenzende Zähne mit einem CAL von ≥ 3 mm auf.

In der Rheumagruppe war im Vergleich zur Kontrollgruppe die Anzahl von Patienten mit schwerer Parodontitis signifikant vermindert. Patienten mit einer rheumatischen Erkrankung hatten einen signifikant niedrigeren Attachmentverlust sowohl nach Berücksichtigung aller Zähne (CAL_{max.}) als auch nach alleiniger Bewertung der Zähne, an denen die subgingivalen Plaqueproben für den mikrobiologischen Test abgenommen wurden (CAL_{Bakt.}). Die Anzahl fehlender Zähne und die der zahnlosen Probanden war dagegen in der Kohorte der Rheumatiker erhöht, ohne dass diese Unterschiede signifikant ausfielen (siehe Tabelle 4).

Tabelle 4: Demografische und klinische Parameter von Patienten mit rheumatischen Erkrankungen im Vergleich zu einer Kontrollgruppe ohne rheumatische Erkrankung

Variable	Rheumatische Erkrankung: n = 51	Kontrollgruppe: n = 114 (86 Probanden waren verstorben)	Signifikanz (p)
Alter, Mittelwert (SD)	52,7 ± 16,4	53,9±16,6	0,695***
Weiblich, n (%)	25 (49,1)	46 (40,4)	0,385**
Raucher, n (%) [#]			
aktuell	10 (19,6)	3 (10,7)	

ehemalig	6 (11,8)	4 (14,3)	
nein	35 (68,6)	21 (75,0)	0,524*
Häufigkeit des Zähneputzens pro Tag, Mittelwert (SD) #	1,8 (0,4)	2,0 (0,4)	0,055****
Zahnarztbesuche pro Jahr, Mittelwert (SD) #	1,8 (1,1)	1,8 (0,8)	0,741****
API, Mittelwert (SD) #	67,5 (22,0)	71,6 (20,7)	0,451***
% Sites mit BOP, Mittelwert (SD) #	26,5 (17,4)	26,8 (17,7)	0,940****
CAL(max), Mittelwert (SD)	3,6 (1,1)	4,5 (1,4)	< 0,0001****
CAL(Bakt.), Mittelwert (SD)	4,5 (1,5)	5,4 (1,9)	0,002****
Parodontitisfälle gesamt §, n (%)	43 (95,6)	105 (97,2)	0,627*
Schwere Parodontitis †, n (%)	12 (27,3)	53 (49,1)	0,022**
Anzahl fehlender Zähne, Mittelwert (SD)	11,1 (10,8)	8,2 (8,4)	0,063****
Zahnlose Patienten, n (%)	7 (13,7)	6 (5,3)	0,113*

* Chi-Quadrat-Test mit Fisher's Exact Test

** Chi-Quadrat-Test mit Yates-Korrektur

*** T-Test

**** Mann-Whitney-U-Test

Diese Daten konnten bei Verstorbenen nicht erhoben werden.

§ Parodontitisfall: mindestens zwei nicht benachbarte Zähne mit einem CAL \geq 3 mm

‡ schwere Parodontitis: CAL \geq 5 mm bei mindestens 30 % der Zähne

SD: Standardabweichung

n: Anzahl

7.2 Nachweis bakterieller DNA in Mundhöhle und Synovialflüssigkeit

DNA von allen fünf untersuchten parodontalen Bakterien wurde sowohl in der oralen Plaque als auch der Synovialflüssigkeit bei Patienten und Kontrollprobanden nachgewiesen. Die Gesamtanzahl oral nachgewiesener bakterieller DNA verschiedener Taxa war in der Gruppe der rheumatisch erkrankten Patienten signifikant verringert. In der Synovia jedoch wurde bei RA-Patienten tendenziell häufiger bakterielle DNA nachgewiesen (Tabelle 5).

Tabelle 5: Gesamtzahl der in Mundhöhle und Synovialflüssigkeit nachgewiesenen bakteriellen DNA

Bakterienanzahl pro Proband	Kontrollprobanden, n = 114 Mittelwert (SD)	Rheumatische Erkrankung, n = 51 Mittelwert (SD)	Signifikanz*
oral	1,9 (1,4)	1,7 (1,4)	0,046
synovial	0,4 (0,5)	0,6 (0,8)	0,199

* keine Normalverteilung, deshalb Vergleich mit Mann-Whitney-U-Test

SD: Standardabweichung

n: Anzahl

Wurde die Anzahl von Probanden mit nachgewiesener DNA eines bestimmten Oralpathogens separat betrachtet, fiel auf, dass bei mehr Kontroll- als Testprobanden oral der Nachweis von *P. intermedia* gelang. Dieser Befund war nur nach Chi²-Test mit Fisher's Exact Test, aber nicht nach dem Bonferroni-Test für multiple Vergleiche signifikant (Tabelle 6).

Tabelle 6: Anzahl von Patienten mit einer rheumatischen Erkrankung, bei denen ein bestimmtes Oralpathogen nachgewiesen wurde im Vergleich zu Kontrollprobanden; orale Ergebnisse

Bakterien oral	Kontrollprobanden Kein Rheuma n = 114 n %	Rheumatische Erkrankung n = 51 n %	p	OR (95 % CI)
A. a.	13 (11,4)	4 (7,8)	0,588*	0,7 (0,2–2,1)
P. g.	40 (35,1)	15 (29,4)	0,592**	0,8 (0,4–1,6)
P. i.°	39 (34,2)	9 (17,6)	0,048*	0,4 (0,2–0,9)
T. f.	70 (61,4)	33 (64,4)	0,817**	1,2 (0,6–2,3)
T. d.	53 (46,5)	24 (47,1)	1,000**	1,0 (0,5–2,0)

* Chi-Quadrat-Test korrigiert mit Fisher's Exact Test

** Chi-Quadrat-Test und Yates-Korrektur

° Bonferroni-Korrektur: p = 0,24

OR: Odds Ratio

CI: Confidence Interval

n: Anzahl

In der Synovialflüssigkeit rheumatisch erkrankter Patienten wurde dagegen signifikant häufiger die DNA von *P. gingivalis* nachgewiesen. Dieses Ergebnis blieb auch nach Bonferroni-Korrektur signifikant (Tabelle 7).

Tabelle 7: Häufigkeit des Nachweises bakterieller DNA bei Patienten mit einer rheumatischen Erkrankung im Vergleich zu Individuen ohne rheumatische Erkrankung; synoviale Ergebnisse

Bakterien synovial	Kontrollprobanden, n = 114 n %	Rheumatische Erkrankung, n = 51 n %	p	OR (95 % CI)
A. a	2 (1,8)	2 (3,9)	0,588*	2,3 (0,3–16,7)
P. g.°	4 (3,5)	8 (15,7)	0,009*	5,1 (1,5–17,9)
P. i.	15 (13,2)	8 (16,0)	0,849**	1,2 (0,5–3,1)

T. f.	14 (12,3)	7 (13,7)	0,996**	1,1 (0,4–3,0)
T. d.	8 (7,0)	5 (9,8)	0,543*	1,4 (0,4–4,6)

* Chi-Quadrat-Test mit Fisher's Exact Test

** Chi-Quadrat-Test mit Yates-Korrektur

° Bonferroni-Korrektur: $p = 0,045$

OR: Odds ratio

CI: Confidence interval

n: Anzahl

Ein signifikant häufigeres Vorkommen von *P. gingivalis* in der Synovialflüssigkeit im Vergleich zu Kontrollprobanden konnte auch beobachtet werden, wenn in die Testgruppe nur Patienten mit Rheumatoïdarthritis, aber nicht die mit einer anderen rheumatischen Erkrankung einbezogen wurden (Tabelle 8).

Tabelle 8: Häufigkeit des Nachweises bakterieller DNA bei Patienten mit Rheumatoïder Arthritis im Vergleich zu Individuen ohne rheumatische Erkrankung; synoviale Ergebnisse

Bakterien synovial	Kontrollprobanden, n = 114, n %	Rheumatoïde Arthritis, n = 43, n %	p*	OR (95 % CI)
A. a.	2 (1,8)	1 (2,3)	0,588	2,3 (0,3–16,7)
P. g.°	4 (3,5)	7 (16,3)	0,010	5,3 (1,5–19,3)
P. i.	15 (13,2)	8 (16,6)	0,543	1,5 (0,5–3,9)
T. f.	14 (12,3)	7 (16,3)	0,694	1,4 (0,4–3,7)
T. d.	8 (7,0)	5 (11,6)	0,346	1,7 (0,5–5,7)

* Chi-Quadrat-Test und Fisher's Exact Test

° Bonferroni-Korrektur: $p = 0,05$

OR: Odds ratio

CI: Confidence interval

n: Anzahl

7.3 Assoziationen von bakteriellem Mund- zum Synovialbefund

Bei mehr Rheumapatienten als Kontrollprobanden wurde die DNA von *P. gingivalis* gleichzeitig sowohl in der Mundhöhle als auch in der Synovialflüssigkeit nachgewiesen. Dieser Befund war jedoch nicht nach Bonferroni-Korrektur signifikant (Tabelle 9).

Tabelle 9: Anzahl und Prozentsatz der Probanden, bei denen orale und synoviale Nachweise bei mindestens einem Bakterium übereinstimmten

Bakterielle DNA oral/synovial	Kontrollprobanden, n = 114 n %	Rheumatische Erkrankungen n = 51 n %	p*	OR (95 % CI)
A. a.	0	0	-	-
P. g. [°]	1 (0,9)	5 (9,8)	0,011	12,3 (1,4–108,0)
P. i.	9 (7,9)	4 (8,0)	1,000	1,0 (0,3–3,4)
T. f.	12 (10,5)	4 (8,0)	0,778	0,7 (0,2–2,4)
T. d.	5 (4,4)	4 (8,0)	0,460	1,9 (0,5–7,2)

* Chi-Quadrat-Test korrigiert mit Fisher's Exact-Test

° Bonferroni-Korrektur: p = 0,055

OR: Odds ratio

CI: Confidence interval

n: Anzahl

7.4 Subgruppe der zahnlosen Patienten

Die zahnlosen Patienten beider Gruppen wurden in Form von Subgruppen berücksichtigt. Eine Rheumapatientin mit implantatgetragendem, herausnehmbarem Zahnersatz im Ober- und Unterkiefer wurde als zahnlos gewertet. Die mikrobiologischen Proben wurden bei ihr an den vier Implantaten gewonnen. Sowohl unter Testpatienten als auch unter Kontrollprobanden konnte aus oralen Schleimhäuten (Tabelle 10) sowie der Synovialflüssigkeit (Tabelle 11) bakterielle DNA isoliert werden. Bei zahnlosen Rheumapatienten konnte in der Synovialflüssigkeit insgesamt mehr bakterielle DNA nachgewiesen werden, ohne dass diese Unterschiede zu den Kontrollprobanden signifikant waren (Tabelle 12).

Tabelle 10: Häufigkeit des Nachweises bakterieller DNA bei zahnlosen Patienten mit einer rheumatischen Erkrankung im Vergleich zu Individuen ohne rheumatische Erkrankung; orale Ergebnisse

Bakterien oral	Kontroll- probanden	Rheumatische Erkrankungen	p	(95 % CI)
	n = 6	n = 7		
	n %	n %		
A. a.	1 (16,7)	0	0,462	0,2–0,8
P. g.	0	0	-	-
P. i.	0	0	-	-
T. f.	1 (16,7)	1 (14,3)	1,000	0,04–17,0
T. d.	1 (16,7)	0	0,462	0,2–0,8

p: Chi-Quadrat-Test mit Fisher's Exact Test

CI: Confidence interval

n: Anzahl

Tabelle 11: Häufigkeit des Nachweises bakterieller DNA bei zahnlosen Patienten mit einer rheumatischen Erkrankung im Vergleich zu Individuen ohne rheumatische Erkrankung; synoviale Ergebnisse

Bakterien synovial	Kontroll- probanden	Rheumatische Erkrankungen	p	(95 % CI)
	n = 6	n = 7		
	n %	n %		
A. a.	0	0	-	-
P. g.	0	1 (14,3)	1,000	0,3–0,9
P. i.	1 (16,7)	2 (28,6)	1,000	0,1–29,8
T. f.	0	1 (14,3)	1,000	0,3–0,9
T. d.	0	1 (14,3)	1,000	0,3–0,9

n: Anzahl

p: Chi-Quadrat-Test mit Fisher's Exact Test

CI: Confidence interval

Tabelle 12: Häufigkeit des Nachweises bakterieller DNA von oralen Schleimhäuten und in der Synovialflüssigkeit bei zahnlosen Patienten mit rheumatischen Erkrankungen im Vergleich zu zahnlosen Kontrollprobanden

Bakterienzahl pro Patient	Kontrollprobanden, n = 6 Mittelwert (SD)	Rheumatische Erkrankungen, n = 7 Mittelwert (SD)	Signifikanz*
orale Schleimhäute	0,5 (0,8)	0,1 (0,4)	nicht signifikant
synovial	0,2 (0,4)	0,7 (0,5)	nicht signifikant

* keine Normalverteilung, deshalb wurde der Mann-Whitney-U-Test angewandt

SD: Standardabweichung

n: Anzahl

7.5 Assoziationen parodontaler und mikrobiologischer Parameter zur Anzahl rheumatisch betroffener Gelenke innerhalb der Rheumagruppe

Innerhalb der Rheumagruppe war der API signifikant mit der Anzahl von Gelenken mit Bewegungseinschränkungen korreliert. Die mikrobiologische Belastung in der Mundhöhle, gemessen als Mittelwert der oral nachgewiesenen Bakterien, war mit der Anzahl geschwollener und schmerzender Gelenke assoziiert. Die Anzahl fehlender Zähne war positiv assoziiert mit allen erhobenen Gelenkbefunden einschließlich der Gesamtanzahl betroffener Gelenke (Tabelle 13).

Tabelle 13: Korrelationen klinischer und mikrobiologischer Variablen mit der Anzahl rheumatisch betroffener Gelenke innerhalb der Testgruppe

Variable		Geschwollene Gelenke	Gelenke mit Schmerzen	Gelenke mit Bewegungseinschränkungen	Gesamtanzahl befallener Gelenke
API	r	0,24	0,105	0,304	0,187
	p	0,116	0,497	0,047	0,224

Anzahl fehlender Zähne	r	0,350	0,324	0,387	0,366
	p	0,012	0,020	0,005	0,008
Anzahl oral nachgewiesener Bakterien, MW	r	0,287	0,296	0,160	0,187
	p	0,041	0,035	0,266	0,190

r: Korrelationskoeffizient (Spearman)

Der Nachweis der DNA von *P. gingivalis*, *P. intermedia* und *T. forsythia* in der Mundhöhle war innerhalb der Rheumagruppe positiv assoziiert mit der Anzahl geschwollener Gelenke oder Gelenken mit Schmerzen (Tabelle 14). Alle anderen parodontalen und mikrobiologischen Befunde waren nicht mit der Anzahl rheumatisch betroffener Gelenke assoziiert.

Tabelle 14: In der Mundhöhle nachgewiesene bakterielle DNA in Assoziation zu rheumatisch betroffenen Gelenken bei Patienten mit rheumatischen Erkrankungen

Oral nachgewiesene bakterielle DNA		Geschwollene Gelenke, MW (SD)	Gelenke mit Schmerzen, MW (SD)	Gelenke mit Bewegungseinschränkungen, MW (SD)	Gesamtzahl befallener Gelenke, MW (SD)
A. a	Ja	4,5 (5,1)	8,1 (5,9)	3,0 (2,2)	6,8 (5,9)
	Nein	6,2 (4,5)	6,8 (5,9)	5,5 (6,3)	9,3 (7,2)
	p	0,299	0,778	0,287	0,562
P. g.	Ja	7,9 (5,3)	9,9 (5,9)	5,9 (4,8)	10,1 (5,8)
	Nein	5,3 (4,0)	7,2 (5,7)	5,1 (6,6)	8,7 (7,6)
	p	0,047	0,089	0,239	0,205
P. i.	Ja	7,4 (3,5)	9,8 (4,4)	5,1 (3,0)	9,8 (4,4)
	Nein	5,8 (4,7)	7,6 (6,1)	5,4 (6,6)	9,0 (7,6)
	p	0,127	0,029	0,429	0,229

T. f.	Ja	6,7 (4,3)	8,7 (5,6)	4,8 (2,9)	9,1 (5,4)
	Nein	4,9 (4,8)	6,6 (6,2)	6,2 (9,6)	9,3 (9,7)
	p	0,036	0,087	0,284	0,347
T. d	Ja	7,4 (5,7)	9,8 (7,0)	5,4 (4,2)	10,2 (6,8)
	Nein	5,0 (2,8)	6,3 (4,0)	5,2 (7,5)	8,2 (7,4)
	p	0,137	0,066	0,235	0,158

p: Mann-Whitney-U-Test

SD: Standardabweichung

MW: Mittelwert

7.6 Zusammenfassung der Ergebnisse

Es konnte nicht nachgewiesen werden, dass Individuen mit einer rheumatischen Erkrankung häufiger an einer schwereren Form der Parodontitis leiden als Personen ohne rheumatische Erkrankung. Der Anteil der an Parodontitis Erkrankten war sowohl in der Testgruppe als auch in der Kontrollgruppe sehr hoch. Tendenziell hatten an Rheuma erkrankte Probanden im Vergleich zur Kontrollgruppe mehr fehlende Zähne oder waren zahnlos.

Die DNA aller fünf untersuchten Parodontopathogene konnte sowohl in oralen Plaqueproben als auch in der Synovialflüssigkeit nachgewiesen werden. Hinsichtlich des Mittelwerts der Anzahl der oral und synovial nachgewiesenen bakteriellen DNA konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen Test- und Kontrollprobanden beobachtet werden. Wurden die Bakterien separat betrachtet, konnte in der Synovialflüssigkeit rheumatisch erkrankter Patienten signifikant häufiger die DNA von *P. gingivalis* nachgewiesen werden. Dieser Unterschied blieb auch signifikant, wenn nur Patienten mit Rheumatoidarthritis aber nicht die mit einer anderen rheumatischen Erkrankung in die Analysen einbezogen wurden. Hinsichtlich *P. gingivalis* gab es bei Patienten mit rheumatischen Erkrankungen auch mehr Übereinstimmungen zwischen dem oralen und synovialen Befund als bei Kontrollprobanden.

Innerhalb der Kohorte der rheumatisch erkrankten Patienten waren der approximale Plaqueindex und die Höhe der oralen Keimbelastung positiv mit der Anzahl rheumatisch betroffener Gelenke korreliert. Als relevant erwiesen sich dabei die oral nachgewiesenen Bakterien *P. gingivalis*, *P.*

intermedia und *T. forsythia*. Zusätzlich war die Anzahl fehlender Zähne mit allen erhobenen Gelenkbefunden positiv assoziiert.

8 Diskussion

Es ist bekannt, dass es bei Parodontitispatienten durch die entzündliche Zerstörung des Saumeithels zu einem Kontakt zwischen parodontalem Bindegewebe und subgingivalem Biofilm kommt. Bereits wenige Minuten nach einem normalen Kauvorgang wurden bei Probanden mit Parodontitis vermehrt bakterielle Endotoxine im peripheren Blut nachgewiesen (160). In Abhängigkeit vom Entzündungsgrad der Gingiva und der Plaquebesiedlung kommt es beim Zähneputzen zur Ausschwemmung oraler Bakterien in den Blutkreislauf (161). Sowohl im Anschluss an die Anwendung von Zahnseide als auch nach Scaling/Root Planing im Rahmen einer Parodontitistherapie war die absolute Zahl von Bakterien im Blut der Patienten erhöht (162). Auch im Mund-Rachen-Raum vorkommende Streptokokkenspezies waren nach Zahnseideanwendung und Scaling/Root-Planing vermehrt in peripheren Blutproben von Parodontitispatienten nachweisbar (162). Die Bakterien wurden auf Nährböden kultiviert, aber ein spezifischer Nachweis von Parodontopathogenen fand nicht statt. Vor und nach einer nicht chirurgischen Parodontitisbehandlung wurde aus peripheren Blutproben von Probanden mit schwerer chronischer und aggressiver Parodontitis bakterielle DNA isoliert und anschließend mit spezifischen Primern für parodontopathogene Bakterien amplifiziert. Zusätzlich fand eine Kultivierung anaerober Bakterien aus den Blutproben statt. Bei 16,6 % der getesteten Probanden mit Parodontitis konnten vor und bei 54,8 % der Probanden nach Scaling/Root Planing Parodontopathogene im peripheren Blut nachgewiesen werden. Die DNA von *A. actinomycetemcomitans* und *P. gingivalis* wurde in diesem Zusammenhang am häufigsten im Blutkreislauf vor und nach Scaling/Root Planing detektiert (163). Bei männlichen Probanden bestand eine Assoziation zwischen einem nicht letalen Myokardinfarkt zur Anzahl extrahierter Zähne aufgrund parodontaler oder apikaler Infektionen (164). Die Anzahl extrahierter Zähne könnte ein Marker für lang anhaltende Infektionen in der Mundhöhle sein. Möglicherweise triggerten hier aus der Mundhöhle stammende und ins Blut gelangte Bakterien die Thrombusbildung und damit eine Infarktentstehung. Die DNA von Parodontopathogenen konnte auch aus Thromben von Patienten mit Zustand nach Myokardinfarkt isoliert und mithilfe spezifischer Primer und PCRs vervielfältigt werden (165, 166). Dabei wurde die DNA von *A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis*, *T. denticola* und *Camphylobacter rectus* nachgewiesen. Auch die Anzucht parodontopathogener Bakterien aus atherosklerotischen Plaques ist schon gelungen (167). Mit der Immunfluoreszenzanalyse wurden in der oralen Mukosa und in artherosklerotischen Plaques vermehrt dendritische Zellen nachgewiesen, die als Träger oraler Bakterien zu deren Überleben

im Blutkreislauf beitragen könnten. Durch Sequenzanalyse wurde hochspezifische 16s-rRNA unter anderem des parodontopathogenen Bakteriums *P. gingivalis* innerhalb der dendritischen Zellen detektiert (168). Der Einfluss von Parodontopathogenen bei der Entstehung und Progression von Allgemeinerkrankungen wie der koronaren Herzkrankheit (166, 169) und dem Diabetes mellitus (170, 171) wurde in weiteren zahlreichen Studien diskutiert und belegt. Es mussten Methoden entwickelt werden, um Parodontopathogene via PCR in verschiedenen Geweben, zum Beispiel in arteriosklerotischen Plaques (165), nachweisen zu können. Da dieser Nachweis gelang, liegt die Möglichkeit nahe, dass Parodontopathogene auch in Gelenken von Individuen mit rheumatischen Erkrankungen nachgewiesen werden können. Dies würde die Hypothese stützen, dass eine Infektion mit parodontalen Leitkeimen direkt oder indirekt über Autoimmunprozesse rheumatische Schädigungen in Gelenken triggern könnte.

Unsere Hypothese war, dass mehr DNA von Parodontopathogenen in der Synovialflüssigkeit von Patienten mit rheumatischen Erkrankungen im Vergleich zu Kontrollprobanden ohne rheumatische Erkrankung gefunden wird. Eine Übereinstimmung des oralen und synovialen Bakterienbefunds in einem Individuum spräche ferner für einen oralen Ursprung der in der Synovialflüssigkeit nachgewiesenen Bakterien.

Um bakterielle DNA in subgingivaler Plaque zu detektieren, wurde in dieser Studie ein kommerziell erhältliches Testverfahren (micro-IDent®-Test) genutzt (172). Da in der Synovialflüssigkeit im Vergleich zur subgingivalen Plaque mit wesentlich geringeren Konzentrationen bakterieller DNA zu rechnen war, musste im Rahmen dieser Arbeit ein im Vergleich zum micro-IDent®-Test sensitiveres Verfahren entwickelt werden.

Die Untersuchung der Patienten mit entzündlich rheumatischen Erkrankungen und der Kontrollen nahm einen vergleichsweise langen Zeitraum von 7 Jahren in Anspruch. Dies ist wahrscheinlich der Tatsache geschuldet, dass die Zahl medizinisch indizierter Gelenkpunktionen bei RA-Patienten rückläufig ist. Möglicherweise besteht hier ein Zusammenhang mit der Einführung von Biologika, wie z. B. den TNF- α -Blockern, in der Therapie der Rheumatoiden Arthritis (173). Innerhalb der Gruppe der Probanden mit einer entzündlich rheumatischen Erkrankung wurden neben Individuen mit Rheumatoider Arthritis auch Patienten mit Psoriasisarthritis, Morbus Bechterew und Monarthritis eingeschlossen, da orale Bakterien bei allen diesen Rheumaformen eine Rolle spielen könnten. Da die Gruppe mit Rheumatoider Arthritis unter den Probanden mit einer rheumatischen Erkrankung am größten war, wurde sie beim Vergleich der Anzahl nachgewiesener bakterieller DNA in der Synovialflüssigkeit, auch unter dem Gesichtspunkt einer homogenen Entität, separat betrachtet. Weitere Studien über die Bedeutung parodontaler Bakterien in der Ätiologie und Pathogenese der Psoriasisarthritis und des Morbus Bechterew sind daher notwendig.

Um die Anzahl der Kontrollprobanden zu erhöhen wurden auch verstorbene Individuen einbezogen. Das Nichtvorliegen einer rheumatischen Erkrankung wurde dabei im Gespräch mit Angehörigen der Verstorbenen oder im Rahmen einer Autopsie verifiziert. Die Zerstörung bakterieller DNA in der Synovialflüssigkeit der Verstorbenen durch Fäulnisprozesse ist eher unwahrscheinlich, da die Kniegelenkshöhle einen relativ abgeschlossenen Raum bildet und die durchschnittliche Zeit bis zur Entnahme des Punkts 3 Tage post mortem betrug.

In dieser Studie wiesen Patienten mit rheumatischen Erkrankungen im Vergleich zu den Kontrollprobanden keine höhere Parodontitisprävalenz auf, jedoch war die Anzahl fehlender Zähne und unbezahnter Patienten in der Testgruppe erhöht. Obwohl mögliche Ursachen für Zahnverlust bei den Probanden nicht eruiert worden sind, ist der Verlust oder die Extraktion einer Vielzahl der Zähne aufgrund von Parodontitis anzunehmen. Deshalb ist eine erhöhte Prävalenz von Parodontitis in der Gruppe mit rheumatischen Erkrankungen – wie auch in anderen Studien (10, 174) bereits nachgewiesen – wahrscheinlich. DNA aller durch das Testverfahren untersuchten Bakterien wurde in der Synovialflüssigkeit sowohl bei Patienten mit rheumatischen Erkrankungen als auch in der Kontrollgruppe nachgewiesen. In der Kontrollgruppe war im Vergleich zur Testgruppe oral eine signifikant höhere Bakterienzahl nachweisbar. Zusätzlich wurde das Bakterium *P. intermedia* in oralen Plaqueproben der Kontrollprobanden signifikant häufiger detektiert als bei an Rheuma erkrankten Probanden.

Die höhere Detektionsfrequenz von bakterieller DNA aus subgingivalen Plaqueproben in der Kontrollgruppe kann dadurch erklärt werden, dass an den Zähnen, an denen die Plaque für den mikrobiologischen Test entnommen wurde, bei den Kontrollprobanden ein signifikant höherer Attachmentverlust gemessen wurde. Zusätzlich wurde die Diagnose schwere Parodontitis in der Kontrollgruppe signifikant häufiger gestellt. Der Nachweis von subgingivalen Bakterien ist nachweislich von der Höhe des Attachmentverlusts abhängig (194). In der Testgruppe dagegen war die Anzahl fehlender Zähne signifikant erhöht. Auch die Reduktion der mikrobiellen Belastung in der Mundhöhle aufgrund der Extraktion von parodontal nicht erhaltungswürdigen Zähnen wurde bereits nachgewiesen (187).

Trotz des geringeren Nachweises der DNA von parodontopathogenen Bakterien in der Mundhöhle von Patienten der Testgruppe wurde die DNA von *P. gingivalis* häufiger in der Synovialflüssigkeit von Patienten mit einer rheumatischen Erkrankung nachgewiesen. Dieses Ergebnis blieb auch signifikant wenn nur Patienten mit Rheumatoïdarthritis in den Vergleich einbezogen wurden. Bei den Testpatienten wurde *P. gingivalis* auch häufiger sowohl in den oralen Plaqueproben als auch in der dazugehörigen Probe der Synovialflüssigkeit detektiert. Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit werden durch eine nach Beginn dieser Studie veröffentlichte Fall-Kontroll-Analyse bestä-

tigt, in der DNA von *P. gingivalis* in der Synovialflüssigkeit von Individuen mit Rheumatoider Arthritis und Psoriasisarthritis, nicht jedoch bei gesunden Kontrollprobanden nachgewiesen wurde (18). In einer weiteren Querschnittsstudie ausschließlich an Probanden mit Rheumatoider Arthritis und Parodontitis konnte bei allen Probanden bakterielle DNA parodontopathogener Bakterien in der Synovialflüssigkeit nachgewiesen werden, wobei die DNA von *P. gingivalis* und *P. intermedia* am häufigsten in oralen Plaqueproben und in der Synovialflüssigkeit detektiert wurde (175). Unsere Ergebnisse unterstützen die Hypothese, dass DNA von Parodontopathogenen aus der Mundhöhle in Gelenke gelangen und *P. gingivalis* eine Rolle in der Ätiologie von entzündlich rheumatischen Erkrankungen, besonders der Rheumatoiden Arthritis, spielen kann.

In einer Zellkulturstudie konnte gezeigt werden, dass kultivierte humane Chondrozyten von *P. gingivalis* infiziert werden konnten. Zunächst erfolgte eine Adhäsion des Bakteriums auf der Oberfläche der Knorpelzellen. Die Bakterieninvasion in die Knorpelzelle wurde mithilfe der Rasterelektronenmikroskopie und Immunfluoreszenztechnik nachgewiesen. Die Beeinflussung des Zellzyklus und daraus resultierend die Erhöhung der Apoptoserate der Chondrozyten durch *P. gingivalis* konnte ebenfalls belegt werden (176, 177). *P. gingivalis* konnte auch in aus Mausschädeln gewonnene Osteoblastenkulturen eindringen und die Differenzierung und Mineralisation dieser Zellen hemmen (178, 179). Durch Western Blot und TUNEL-Verfahren konnte später nachgewiesen werden, dass eine Infektion mit *P. gingivalis* die Apoptoserate von Osteoblasten gegenüber nicht infizierten Zellen erhöht (180). TUNEL steht für Tdt-mediated dUTP-biotin nick end labeling. Die Methode dient der Darstellung apoptotischer Zellkerne durch Markierung bei der Aufspaltung von DNA-Strängen entstehender Hydroxygruppen (195).

Die in Zellkulturstudien generierten Ergebnisse sind Hinweise auf die mögliche direkte Beteiligung lebender oraler Bakterien an der Zerstörung von Gelenkstrukturen bei Patienten mit Rheumatoider Arthritis. Bisher ist allerdings nur aus einer Studie bekannt, dass ein Parodontopathogen, in diesem Falle *Peptostreptococcus micros*, aus der Synovialflüssigkeit eines Patienten mit Kniegelenksendoprothese isoliert und kultiviert werden konnte (181). Da gleichzeitig ein parodontaler Abszess vorlag, wurde der orale Ursprung dieser Infektion angenommen. In einer anderen Studie gelang es dagegen nicht, Parodontopathogene sowohl aus der Synovialflüssigkeit als auch peripheren Leukozyten zu kultivieren (175). Es wurde geschlussfolgert, dass parodontopathogene Bakterien nur in Form freier bakterielle DNA über den Blutkreislauf in die Gelenke gelangen können.

Neben den vermuteten direkten Einflüssen parodontopathogener Bakterien auf die Gelenkzerstörung bei rheumatischen Erkrankungen sind auch Einflüsse auf das Immunsystem des Wirts in zahlreichen Studien dokumentiert. So könnte eine Infektion mit *P. gingivalis* die Bildung von Rheu-

mafaktoren triggern, indem eine *P. gingivalis* eigene Protease die Fc-Region von IgG-Molekülen so verändert, dass diese dann vom Organismus als fremd angesehen werden und eine Antikörperbildung gegen die IgG-Moleküle eingeleitet wird. Auch HLA-DR-Moleküle, welche *P. gingivalis* und *T. forsythia* binden, könnten durch deren Proteasen modifiziert werden (19). Weiterhin ist beschrieben worden, dass *P. gingivalis* über Virulenzfaktoren verfügt, die nicht nur für die Parodontitis sondern auch die Pathogenese rheumatischer Erkrankungen von Bedeutung sind. *P. gingivalis* verfügt als einziges Bakterium über eine eigene PAD (140), die bakterielle endogene (182, 183), aber auch Wirtspeptide (29) citrullinieren kann. Zunächst werden die Peptide dabei mithilfe der *P. gingivalis* eigenen Protease Gingipain so zerlegt, dass freie Argininendigungen entstehen. Anschließend wird Arginin irreversibel in Citrullin unter Ammoniakfreisetzung umgewandelt. Dadurch wird das saure Entzündungsmilieu neutralisiert, was *P. gingivalis* offenbar als Wachstumsvorteil dient (140). Durch die Citrullinierung verändert sich die Ladung, Konformation und Antigenität des Peptids, sodass *P. gingivalis* Autoimmunreaktionen gegen körpereigene Proteine triggern kann. Aktuelle Studien konnten zeigen, dass bei Patienten mit Rheumatoider Arthritis die Antikörpertiter gegen *P. gingivalis* und gegen citrullinierte Peptide positiv miteinander korrelieren (17, 132). Dies ist von klinischer Bedeutung, da der Nachweis von Anti-CCP-Antikörpern ein wichtiger Baustein in der frühen Diagnose der Rheumatoiden Arthritis ist (185). Antikörper gegen citrullinierte Peptide, aber auch gegen PAD 2 und 4 wurden vermehrt in entzündeter Gingiva im Vergleich zu nicht entzündeter Gingiva nachgewiesen. Erhöhte Anti-CCP-Titer waren auch in der Sulkusflüssigkeit von Patienten mit Parodontitis gegenüber solchen ohne Parodontitis nachweisbar (142). Weiterhin ist bekannt, dass citrullinierte Peptide besser durch bestimmte positiv zur RA assoziierte HLA-Moleküle (HLA-DRB1*0101, -DRB1*0401, -DRB1*0404) gebunden werden können (184), die Autoimmunreaktion auf citrullinierte Peptide also von der individuellen genetischen Konstellation abzuhängen scheint. Interessanterweise wurde nachgewiesen, dass diese HLA-Moleküle auch zur aggressiven Parodontitis assoziiert waren (26) und sie möglicherweise ein genetisches Bindeglied zwischen Parodontitis und RA darstellen.

Der Zusammenhang von Parodontitis und RA kann auch auf die Koexistenz gemeinsamer Risikofaktoren zurückzuführen sein. Das Rauchen gilt als gemeinsamer Risikofaktor für Parodontitis und RA. Die Citrullinierung von Peptiden in der Lunge wird auch durch Rauchen befördert. Es wurde gezeigt, dass Rauchen die Apoptose von Makrophagen und damit die Kalziumfreisetzung und Aktivierung der PAD triggern kann. Auch eine direkte PAD2-Aktivierung durch Rauchen wird vermutet. Die nach Autoimmunprozessen gebildeten Antigen-Antikörperkomplexe können von der Lunge über den Blutkreislauf in Gelenke gelangen und eine Entzündungsreaktion auslösen (138, 139).

Angesichts steigender Evidenz für einen Zusammenhang von Parodontitis und rheumatischen Erkrankungen könnte die Parodontistherapie das therapeutische Outcome bei rheumatischen Erkrankungen ebenfalls beeinflussen. Dass eine nicht chirurgische Parodontitisbehandlung mit Debridement, Wurzelglättung und Mundhygieneinstruktion die Schwere einer bestehenden rheumatischen Erkrankung reduziert, konnte bereits nachgewiesen werden. So sanken nach Scaling/Root Planing und Mundhygieneunterweisung bei Probanden mit Rheumatoider Arthritis und Parodontitis die Werte des DAS28 (5, 20) und der Blutsenkungsgeschwindigkeit (20, 186) signifikant im Vergleich zu Probanden ohne entsprechende Therapie. Die komplette Extraktion aller parodontal befallenen Zähne dürfte jedoch nicht zur vollständigen Erradikation aller parodontopathogenen Bakterien in Mundhöhle und Synovialflüssigkeit führen, denn Bakterien-DNA wurde in unserer Studie bei Zahnlosen sowohl in der Mundhöhle als auch in der Synovialflüssigkeit nachgewiesen. Van Assche und Mitarbeiter konnten durch den Nachweis parodontopathogener Bakterien-DNA mit quantitativen PCRs zeigen, dass die absolute Zahl der Bakterien in der Mundhöhle nach Extraktion aller Zähne zwar signifikant abnimmt, aber nicht die Anzahl der positiv auf ein oder mehrere Bakterien getesteten Individuen (187). Dies steht in Einklang mit Ergebnissen vorhergehender Arbeiten. Die DNA von Parodontopathogenen konnte in der Wangenschleimhaut und auf dem Zungenrücken von Neugeborenen und Zahnlosen mithilfe spezifischer PCRs nachgewiesen werden (188). Bei Trägern von OK/UK-Totalprothesen wurde die DNA von *A. actinomycetemcomitans* und *P. gingivalis* in Proben der Mundschleimhaut und der Zunge sowie im Speichel per Checkerboard-Hybridisation nachgewiesen (189). *P. gingivalis* und *A. actinomycetemcomitans* sind in der Lage, in Epithelzellen zu invadieren (69, 136). Das könnte ihren Verbleib in der Mundhöhle nach Extraktion aller Zähne möglicherweise erklären. Über die Epithelzellen könnten die Parodontopathogene Zugang zur Blutbahn bekommen und so in die Gelenke gelangen. Mögliche Transportmechanismen sind noch nicht hinreichend geklärt. Ein intrazellulärer Transport in dendritischen Zellen wäre denkbar (168). Auch wenn die Unterschiede hinsichtlich des Nachweises bakterieller DNA in der Synovialflüssigkeit zahnloser Probanden mit einer rheumatischen Erkrankung im Vergleich zu Zahnlosen ohne rheumatische Erkrankung in dieser Studie nicht signifikant waren, sprechen die Ergebnisse dieser Arbeit für einen Verbleib parodontopathogener Mikroorganismen in der Mundhöhle und ihren Transport in die Gelenke der Individuen auch nach Verlust aller Zähne (188, 189).

In dieser Studie wurde innerhalb der Testgruppe eine positive Korrelation zwischen der Anzahl fehlender Zähne und Gelenken mit Bewegungseinschränkungen gezeigt. Die Anzahl fehlender Zähne könnte ein Indikator für eine über Jahre bestehende orale Infektion mit nachfolgender Erhöhung systemischer Entzündungsparameter sein, die artikuläre Entzündungen triggern könnten. Allgemein gesunde Individuen mit chronischer Parodontitis wiesen z. B. im peripheren Blut

höhere Konzentrationen an CRP, IL-6, Leukozyten und neutrophilen Granulozyten auf als Probanden ohne Parodontitis (190). In Blutzellkulturen systemisch gesunder Probanden verursachte eine 48-stündige Stimulation mit *P. gingivalis* einen Anstieg systemisch wirksamer Entzündungsmediatoren wie IL-10, TGF- β und IFN- γ (191). Eine Assoziation von Zahnverlust zur Rheumatoiden Arthritis konnte auch durch andere Studien belegt werden (6, 7, 13).

In der Gruppe der rheumatisch Erkrankten wurde auch eine Korrelation zwischen dem API und der Anzahl von Gelenken mit Bewegungseinschränkungen nachgewiesen. Ein erhöhter API könnte in diesem Zusammenhang ein Indikator für eine höhere mikrobielle Belastung in der Mundhöhle sein, die sich wie ein Anstieg von Entzündungsparametern negativ auf die Schwere einer rheumatischen Erkrankung auswirken könnte. Dafür spricht auch das Ergebnis, dass innerhalb der Testgruppe der Mittelwert der Anzahl oral nachgewiesener Bakterien positiv mit der Anzahl geschwollener und schmerzender Gelenke assoziiert war. Die Korrelation zwischen dem API und der Anzahl von Gelenken mit Bewegungseinschränkungen könnte aber auch Folge eines schlechteren Putzvermögens der von Bewegungseinschränkungen betroffenen Individuen sein.

Liegt tatsächlich eine Beteiligung anaerober parodontopathogener Bakterien in der Ätiologie rheumatischer Erkrankungen vor, so könnte der Einsatz von Antibiotika in der Parodontitistherapie zusätzlich zu Scaling und Root Planing zu einer Verbesserung auch des rheumatologischen Outcomes führen. Therapeutisch positive Effekte durch die Anwendung von Antibiotika auf therapieresistente und nicht auf die klassische Therapie mit Disease-modifying anti-rheumatic drugs ansprechende rheumatische Erkrankungen konnten bereits gezeigt werden (31, 32, 33).

Zusammengefasst zeigen die Daten dieser Studie, dass ein Nachweis oraler bakterieller DNA in der Synovialflüssigkeit möglich ist und dass dies bei Patienten mit rheumatischen Erkrankungen häufiger der Fall ist im Vergleich zu Kontrollprobanden. Dieser Nachweis war auch bei zahnlosen Patienten und Kontrollprobanden möglich. Der gleichzeitige Nachweis von *P. gingivalis* sowohl in der subgingivalen Plaque als auch aus der Synovialflüssigkeit bei einem Individuum gelang in der Testgruppe signifikant öfter. Diese Untersuchungsergebnisse erhärten die Hypothese, dass parodontale Bakterien in der Ätiologie und Pathogenese rheumatischer Erkrankungen eine Rolle spielen dürften.

In der Testgruppe korrelierten die Anzahl fehlender Zähne, der API und die Detektionsfrequenz bakterieller DNA in der Mundhöhle mit der Anzahl von rheumatisch betroffenen Gelenken. Somit ist plausibel, dass eine Parodontitis auch die Schwere einer rheumatischen Erkrankung beeinflussen kann. Daneben können Bewegungseinschränkungen der oberen Extremitäten und ein Anstieg

der Entzündungsparameter infolge einer rheumatischen Erkrankung auch die Mundhygiene und parodontale Symptome beeinflussen.

9 Zusammenfassung

Parodontitis und entzündlich-rheumatische Erkrankungen weisen ätiologische und pathogenetische Gemeinsamkeiten auf. Unter Einfluss proinflammatorischer Zytokine und Mediatoren kommt es bei beiden Erkrankungen zu einem entzündlich bedingten Abbau von Bindegewebe und Knochen (42, 122, 123, 124, 125, 190). Eine Assoziation zu HLA-DR4-Subtypen ist für Parodontitis und RA dokumentiert worden (14, 192, 193). Das Rauchen spielt als gemeinsamer Risikofaktor für Parodontitis und RA eine Rolle bei der Forcierung bestimmter pathogenetischer Abläufe beider Erkrankungen (138, 139, 149). Die Parodontitisprävalenz zeigte sich bei Individuen mit einer rheumatischen Erkrankung erhöht im Vergleich zu Kontrollprobanden (10). Darüber hinaus konnte bei Individuen mit Parodontitis im Vergleich zu Individuen ohne parodontale Erkrankung eine in Bezug zur Gesamtbevölkerung höhere Prävalenz der Rheumatoiden Arthritis nachgewiesen werden (15). Klinische Parameter der Parodontitis wie fehlende Zähne und erhöhte Sondierungstiefen fanden sich bei Patienten mit Rheumatoider Arthritis im Vergleich zu Gesunden in einem erhöhten Ausmaß (7, 16, 21). Im Blutserum und in der Synovialflüssigkeit von Patienten mit Rheumatoider Arthritis wurden darüber hinaus Antikörper gegen parodontopathogene Bakterien nachgewiesen (28). Ferner existieren Epitopgemeinschaften zwischen der Membran parodontopathogener Bakterien und humanem IgG, die die Bildung von Rheumafaktoren triggern könnten. (30). Da es bereits beim Kauen, Zähneputzen oder der Anwendung von Zahnseide zur Bakteriämie kommt und Parodontopathogene in Epithelzellen invadieren und Endothelzellen durchwandern können, ist eine Verschleppung oraler Bakterien über die Blutbahn in die Gelenke als prinzipiell möglich anzusehen (9, 141, 160, 161, 162). Sowohl eine nicht chirurgische Parodontistherapie als auch eine Therapie mit Antibiotika gegen Anaerobier konnte das therapeutische Outcome bei an Rheumatoider Arthritis Erkrankten verbessern (5, 20, 33). Dies spricht für eine Beteiligung anaerober Bakterien, zu denen auch die Mehrzahl parodontaler Leitbakterien zählt, in der Pathogenese der RA. Das parodontopathogene Bakterium *P. gingivalis* war in vitro in der Lage, in humane Chondrozyten zu invadieren und die Apoptoserate dieser Zellen zu erhöhen (176, 177). Seine besondere enzymatische Ausstattung mit einer Peptidylarginindeiminase (140) erlaubt es *P. g.*, humane Gelenkpeptide zu citrullinieren und damit eine Autoimmunantwort auszulösen. Tatsächlich wurden bei Individuen mit im Vergleich zu Kontrollprobanden ohne Parodontitis vermehrt Anti-CCP-Antikörper in der Sulkusflüssigkeit gefunden (142).

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, DNA fünf parodontopathogener Bakterien in der Mundhöhle und der Gelenkflüssigkeit von Probanden mit einer rheumatischen Erkrankung im Vergleich zu Probanden ohne rheumatische Erkrankung nachzuweisen. Es sollte untersucht werden, ob an Rheuma erkrankte Probanden häufiger bakterielle DNA in ihren Gelenken und in der Mundhöhle aufweisen als Kontrollprobanden und ob klinische Gelenkbefunde mit dem Nachweis oraler und synovialer bakterieller DNA in Zusammenhang stehen. Weiterhin wurde geprüft, ob klinisch parodontologische Befunde mit Befunden an Gelenken von Patienten mit rheumatischen Erkrankungen assoziiert sind.

51 Probanden mit entzündlich rheumatischen Erkrankungen (davon 49,1 % weiblich, Durchschnittsalter: 52,7 Jahre) und 114 Kontrollprobanden (darunter 86 Verstorbene, 40,4 % weiblich, Durchschnittsalter: 53,9 Jahre) wurden in die Studie einbezogen. Die Probanden der Kontrollgruppe wiesen einen signifikant höheren Attachmentverlust auf, sowohl bei Betrachtung aller Zähne ($p < 0,0001$) als auch nach Bewertung der Zähne, an denen Proben für den mikrobiologischen Test entnommen wurden ($p = 0,002$). Auch trat eine schwere Parodontitis (definiert als ≥ 30 % der Zähne mit approximalen CAL ≥ 5 mm) signifikant häufiger in der Kontrollgruppe im Vergleich zur Testgruppe auf ($p = 0,022$). Oral wurde in der Gruppe der Rheumapatienten insgesamt signifikant weniger bakterielle DNA nachgewiesen als bei den Kontrollprobanden ($p = 0,046$). Bei separater Betrachtung der einzelnen Bakterien wurde *P. intermedia* bei Kontrollprobanden im Vergleich zur Testgruppe signifikant häufiger detektiert ($p = 0,048$ bei Berechnung mit Chi²-Test und Korrektur mit Fisher's Exact Test; $p = 0,24$ nach Bonferroni-Korrektur). DNA des parodontopathogenen Bakteriums *P. gingivalis* wurde dagegen signifikant öfter in der Synovialflüssigkeit von Individuen mit einer entzündlich rheumatischen Erkrankung nachgewiesen ($p = 0,009$ bei Berechnung mit Chi²-Test und Korrektur mit Fisher's Exact Test; $p = 0,045$ nach Bonferroni-Korrektur). Auch bei ausschließlicher Betrachtung von Testprobanden mit Rheumatoider Arthritis blieb dieses Ergebnis signifikant ($p = 0,010$ nach Chi²-Test und Korrektur mit Fisher's Exact-Test; $p = 0,05$ nach Bonferroni-Korrektur). Ergänzend gab es beim Nachweis von *P. gingivalis* signifikant häufiger Übereinstimmungen zwischen oralem und synovialen Befund bei Patienten mit rheumatischer Erkrankung als unter den Kontrollpersonen ($p = 0,011$ nach Chi²-Test mit Fisher's Exact Test; $p = 0,055$ nach Bonferroni-Korrektur). Der approximale Plaqueindex korrelierte bei Probanden mit einer rheumatischen Erkrankung signifikant mit der Anzahl von Gelenken mit Bewegungseinschränkungen ($p = 0,047$). Ferner war der Mittelwert der Anzahl oral nachgewiesener Bakterien-DNA in der Rheumakohorte positiv assoziiert mit der Anzahl geschwollener und schmerzender Gelenke ($p = 0,041$ für geschwollene Gelenke und $p = 0,035$ für Gelenke mit Schmerzen). Als relevant bezüglich ihrer Assoziation zu Gelenken mit Schmerzen und Schwellung bei Patienten mit rheumatischer Erkrankung erwiesen sich die oral nachgewiesenen Bakterienspezies des so-

nannten roten Komplexes (*P. gingivalis*, *P. intermedia* und *T. forsythia*). Die Zahl fehlender Zähne war bei Rheumapatienten positiv assoziiert mit allen erhobenen Gelenkbefunden sowie der Gesamtzahl befallener Gelenke ($p = 0,008$ für die Assoziation zur Gesamtzahl an befallenen Gelenken bei Probanden mit Rheuma). Eine Assoziation synovial dedektierter bakterieller DNA mit Gelenkbefunden bei Patienten mit einer rheumatischen Erkrankung wurde dagegen nicht nachgewiesen.

Die Ergebnisse vorliegender Studie zeigen, dass die DNA von Parodontalpathogenen in rheumatisch erkrankte Gelenke gelangen kann. In weiteren Studien muss geprüft werden, ob diese Bakterien noch vital sind und direkt artikuläres Gewebe schädigen können, wie das schon in Zellkulturstudien nachgewiesen wurde. Daneben kann *P. gingivalis* durch die Citrullinierung sowohl endogener als auch humaner Peptide möglicherweise Autoimmunprozesse auslösen. Erhöhte Antikörperspiegel gegen citrullinierte Peptide wurden in der Sulkusflüssigkeit, in Gingivabiopsien als auch serologisch bei Patienten mit Parodontitis nachgewiesen. Da die Anzahl von Probanden mit Psoriasisarthritis und Morbus Bechterew in dieser Studie sehr gering war, wären für die Zukunft Studien wünschenswert, die einen biologisch plausiblen Zusammenhang von Parodontopathogenen zu diesen entzündlich rheumatischen Erkrankungen aufzeigen.

Literaturverzeichnis

1. Jepsen S, Kebschull M, Deschner J: Wechselwirkungen zwischen Parodontitis und systemischen Erkrankungen. Bundesgesundheitsblatt Gesundheitsforschung Gesundheitsschutz 54 (2011) 1089–1096
2. Lockhart PB, Bolger AF, Papapanou PN, Osinbowale O, Trevisan M, Levison ME, Taubert KA, Newburger JW, Gornik HL, Gewitz MH, Wilson WR, Smith SC Jr, Baddour LM; American Heart Association Rheumatic Fever, Endocarditis, and Kawasaki Disease Committee of the Council on Cardiovascular Disease in the Young, Council on Epidemiology and Prevention, Council on Peripheral Vascular Disease, and Council on Clinical Cardiology: Periodontal disease and atherosclerotic vascular disease: does the evidence support an independent association?: a scientific statement from the American Heart Association. Circulation 125 (2012) 2520–2544
3. Blaizot A, Vergnes JN, Nuwwareh S, Amar J, Sixou M: Periodontal diseases and cardiovascular events: meta-analysis of observational studies. Int Dent J 59 (2009) 197–209
4. Teeuw WJ, Gerdes VE, Loos BG: Effect of periodontal treatment on glycemic control of diabetic patients: a systematic review and meta-analysis. Diabetes Care 33 (2010) 421–427
5. Al-Katma MK, Bissada NF, Bordeaux JM, Sue J, Askari AD: Control of Periodontal Infection Reduces the Severity of Active Rheumatoid Arthritis. J of Clinical Rheumatology 13 (2007) 134–137
6. de Pablo P, Chapple IL, Buckley CD, Dietrich T: Periodontitis in systemic rheumatic diseases. Nat Rev Rheumatol 5 (2009) 218–224
7. de Pablo P, Dietrich T, McAlindon TE: Association of Periodontal Disease and Tooth Loss with Rheumatoid Arthritis in the US Population. The Journal of rheumatology 35 (2008) 70–76
8. Demmer RT, Molitor JA, Jacobs DR Jr, Michalowicz BS: Periodontal disease, tooth loss and incident rheumatoid arthritis: results from the First National Health and Nutrition Examination Survey and its epidemiological follow-up study. J Clin Periodontol 38 (2011) 998–1006
9. Detert J: Pathogenese der Parodontitis bei rheumatologisch erkrankten Patienten. Dental Tribune German Edition 3 (2013) 4–6
10. Dissick A, Redman RS, Jones M, Rangan BV, Reimold A, Griffiths GR, Mikuls TR, Amdur RL, Richards JS, Kerr GS: Association of periodontitis with rheumatoid arthritis: a pilot study. J Periodontol 81 (2010) 223–230
11. Erciyas K, Sezer U, Ustün K, Pehlivan Y, Kisacik B, Senyurt SZ, Tarakçioğlu M, Onat AM: Effects of periodontal therapy on disease activity and systemic inflammation in rheumatoid arthritis patients. Oral Dis 19 (2013) 394–400

12. Havemose-Poulsen A, Westergaard J, Stoltze K, Skjødt H, Danneskiold-Samsøe B, Locht H, Bendtzen K, Holmstrup P: Periodontal and hematological characteristics associated with aggressive periodontitis, juvenile idiopathic arthritis, and rheumatoid arthritis. *J Periodontol* 77 (2006) 280–288
13. Kässer UR, Gleissner C, Dehne F, Michel A, Willershausen-Zönnchen B, Bolten WW: Risk for periodontal disease in patients with longstanding rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 40 (1997) 2248–2251
14. Katz J, Goultschin J, Benoliel R, Brautbar C: Human leukocyte antigen (HLA) DR4. Positive association with rapidly progressing periodontitis. *J Periodontol* 58 (1987) 607–610
15. Mercado F, Marshall RI, Klestov AC, Bartold PM: Is there a relationship between rheumatoid arthritis and periodontal disease? *J Clin Periodontol* 27 (2000) 267–272
16. Mercado FB, Marshall RI, Klestov AC, Bartold PM: Relationship between rheumatoid arthritis and periodontitis. *J Periodontol* 72 (2001) 779–787
17. Mikuls TR, Payne JB, Reinhardt RA, Thiele GM, Maziarz E, Cannella AC, Holers VM, Kuhn KA, O'Dell JR: Antibody responses to *Porphyromonas gingivalis* (*P. gingivalis*) in subjects with rheumatoid arthritis and periodontitis. *Int Immunopharmacol* 9 (2009) 38–42
18. Moen K, Brun JG, Valen M, Skartveit L, Eribe EK, Olsen I, Jonsson R: Synovial inflammation in active rheumatoid arthritis and psoriatic arthritis facilitates trapping of a variety of oral bacterial DNAs. *Clinical and experimental rheumatology* 24 (2006) 656–663
19. Ogrendik M, Kokino S, Ozdemir F, Bird PS, Hamlet S: Serum antibodies to oral anaerobic bacteria in patients with rheumatoid arthritis. *Med Gen Med* 7 (2005), Published online 2005 June 16
20. Ortiz P, Bissada NF, Palomo L, Han YW, Al-Zahrani MS, Panneerselvam A, Askari A: Periodontal therapy reduces the severity of active rheumatoid arthritis in patients treated with or without tumor necrosis factor inhibitors. *J Periodontol* 80 (2009) 535–540
21. Pischon N, Pischon T, Kröger J, Gülmez E, Kleber BM, Bernimoulin JP, Landau H, Brinkmann PG, Schlattmann P, Zernicke J, Buttgereit F, Detert J: Association among rheumatoid arthritis, oral hygiene, and periodontitis. *J Periodontol* 79 (2008) 979–986
22. Rosenstein ED, Greenwald RA, Kushner LJ, Weissmann G: Hypothesis: the humoral immune response to oral bacteria provides a stimulus for the development of rheumatoid arthritis. *Inflammation* 28 (2004) 311–318
23. Scher JU, Ubeda C, Equinda M, Khanin R, Buischi Y, Viale A, Lipuma L, Attur M, Pillinger MH, Weissmann G, Littman DR, Pamer EG, Bretz WA, Abramson: Periodontal disease and the oral microbiota in new-onset rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 64 (2012) 3083–3094

24. Smit MD, Westra J, Vissink A, Doornbos-van der Meer B, Brouwer E, van Winkelhoff AJ: Periodontitis in established rheumatoid arthritis patients: a cross-sectional clinical, microbiological and serological study. *Arthritis Res Ther* 17 (2012), published online on Oct 17 2012
25. Bergstrom J: Tobacco smoking and chronic destructive periodontal disease. *Odontology* 92 (2004) 1–8
26. Bonfil JJ, Dillier FL, Mercier P, Reviron D, Foti B, Sambuc R, Brodeur JM, Sedarat C: A „case control“ study on the role of HLA-DR4 in severe periodontitis and rapidly progressive periodontitis. Identification of types and subtypes using molecular biology (PCR.SSO). *J Clin Periodontol* 26 (1999) 77–84
27. Nepom GT, Byers P, Seyfried C, Healey LA, Wilske KR, Stage D, Nepom BS: HLA genes associated with rheumatoid arthritis. Identification of susceptibility alleles using specific oligonucleotide probes. *Arthritis Rheum* 32 (1989) 15–21
28. Moen K, Brun JG, Madland TM, Tynning T, Jonsson R: Immunoglobulin G and A antibody responses to *Bacteroides forsythus* and *Prevotella intermedia* in sera and synovial fluids of arthritis patients. *Clin Diagn Lab Immunol* 10 (2003) 1043–1050
29. Wegner N, Wait R, Sroka A, Eick S, Nguyen KA, Lundberg K, Kinloch A, Culshaw S, Potempa J, Venables PJ: Peptidylarginine deiminase from *Porphyromonas gingivalis* citrullinates human fibrinogen and α -enolase: implications for autoimmunity in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 62 (2010) 2662–2672
30. Thé J, Ebersole JL: Rheumatoid factor from periodontitis patients cross-reacts with epitopes on oral bacteria. *Oral Dis* 2 (1996) 253–262
31. Ogrendik M, Hakguder A, Keser N: Treatment of rheumatoid arthritis with ornidazole. A randomized, double-blind, placebocontrolled study. *Rheumatology* 45 (2006) 636–637
32. Ogrendik M: Effects of clarithromycin in patients with active rheumatoid arthritis. *Curr Med Res Opin* 23 (2007) 515–522
33. Ogrendik M: Levofloxacin treatment in patients with rheumatoid arthritis receiving methotrexate. *South Med J* 100 (2007) 135–139
34. Micheelis W, Hoffmann T, Holtfreter B, Kocher T, Schroeder E: Zur epidemiologischen Einschätzung der Parodontitislast in Deutschland-Versuch einer Bilanzierung. *Dtsch Zahnärztl Z* 63 (2008) 464–472
35. Micheelis W: Zur Mundgesundheit in Deutschland. Ein oralepidemiologischer Umriss. *Bundesgesundheitsblatt Gesundheitsforschung Gesundheitsschutz* 54 (2011) 1022–1026
36. Holtfreter B, Schwahn C, Biffar R, Kocher T: Epidemiology of periodontal diseases in the Study of Health in Pomerania. *J Clin Periodontol* 36 (2009) 114–123

37. Albandar JM, Rams TE: Global epidemiology of periodontal diseases: an overview. *Periodontol* 2000 29 (2002) 7–10
38. Mutschelknauss Ralf E: *Lehrbuch der klinischen Parodontologie*, Quintessenz Verlag Berlin, 2000, S. 69–92, 95–137
39. Wolf Herbert F, Edith M, Rateitschak Klaus H: *Farbatlanten der Zahnmedizin Parodontologie* 3. Vollständig überarbeitete und erweiterte Auflage, Thieme, Stuttgart, 2012, S. 7–20, 21–66
40. Heidmann D: *Praxis der Zahnheilkunde Parodontologie* 4. Auflage, Urban und Fischer, München, 2004, S. 34–70
41. Loe H, Theilade E, Jensen SB, Schiott CR: Experimental gingivitis in man. *J Periodontol* 36 (1965) 177–187
42. Hikiji H, Takato T, Shimizu T, Ishii S: The roles of prostanoids, leukotrienes, and platelet-activating factor in bone metabolism and disease. *Prog Lipid Res* 47 (2008) 107–126
43. Tatakis DN: Interleukin-1 and bone metabolism: a review. *J Periodontol* 64 (1993) 416–431
44. Stashenko P, Fujiyoshi P, Obernesser MS, Probst L, Haffajee AD, JSS: Levels of interleukin 1 beta in tissue from sites of active periodontal disease. *J Clin Periodontol* 18 (1991) 548–554
45. Corrado A, Neve A, Maruotti N, Cantatore FP: Bone effects of biologic drugs in rheumatoid arthritis. *Clin Dev Immunol* 2013; 2013:945945. doi: 10.1155/2013/945945. Epub 2013 Jun 20
46. Costerton JW, Stewart PS, Greenberg EP: Bacterial biofilms: A common cause of persistent infections. *Science* 284 (1999) 1318–1322
47. Donlan RM: Biofilms: microbial life on surfaces. *Emerg Infect Dis* 8 (2002) 881–890
48. Wood SR, Kirkham J, Marsh PD, Shore RC, Nattress B, Robinson C: Architecture of intact natural human plaque biofilms studied by confocal laser scanning microscopy. *J Dent Res* 79 (2000) 21–27
49. Reese S, Guggenheim B: A novel TEM contrasting technique for extracellular polysaccharides in in vitro biofilms. *Microsc Res Tech* 70 (2007) 816–822
50. Stewart PS, Costerton JW: Antibiotic resistance of bacteria in biofilms. *Lancet* 358 (2001) 135–138
51. Furukawa S, Kuchma SL, O'Toole GA: Keeping Their Options Open: Acute versus Persistent Infections. *J Bacteriol* 188 (2006) 1211–1217
52. Chambless JD, Hunt SM, Stewart PS: A Three-Dimensional Computer Model of Four Hypothetical Mechanisms Protecting Biofilms from Antimicrobials. *Appl Environ Microbiol* 72 (2006) 2005–2013

53. Zijngje V, van Leeuwen MB, Degener JE, Abbas F, Thurnheer T, Gmür R, Harmsen HJ: Oral biofilm architecture on natural teeth. *PloS One* 5 (2010), Published online 2010 Feb. 24. doi: 10.1371/journal.pone.0009321
54. Li J, Helmerhorst EJ, Leone CW, Troxler RF, Yaskell T, Haffajee AD, Socransky SS, Oppenheim FG: Identification of early microbial colonizers in human dental biofilm. *J Appl Microbiol* 97 (2004) 1311–1318
55. Yao Y, Berg EA, Costello CE, Troxler RF, Oppenheim FG: Identification of protein components in human acquired enamel pellicle and whole saliva using novel proteomics approaches. *J Biol Chem* 278 (2003) 5300–5308
56. Newman MG, Socransky SS, Savitt ED, Propas DA, Crawford A: Studies of the microbiology of periodontosis. *J Periodontol* 47 (1976) 373–379
57. Eickholz P, Dannewitz B: Glossar der Grundbegriffe für die Praxis. *Parodontologische Diagnostik. Teil 3: Mikrobiologie. Parodontologie* 19 (2008) 165–174
58. Slots J: Subgingival microflora and periodontal disease. *J Clin Periodontol* 6 (1979) 351–382
59. Socransky SS, Haffajee AD, Cugini MA, Smith C, Kent RL Jr: Microbial complexes in subgingival plaque. *J Clin Periodontol* 25 (1998) 134–44
60. Socransky SS, Haffajee AD: Periodontal microbial ecology. *Periodontol* 2000 38 (2005) 135–187
61. Socransky SS, Haffajee AD: The bacterial etiology of destructive periodontal disease: Current concepts. *J Periodontol* 63 (1992) 322–331
62. Tatakis DN, Kumar PS: Etiology and pathogenesis of periodontal diseases. *Dent Clin North Am* 49 (2005) 491–516
63. Imamura T: The role of gingipains in the pathogenesis of periodontal disease. *J Periodontol* 74 (2003) 111–118
64. Liu R, Desta T, Raptis M, Darveau RP, Graves DT: *P. gingivalis* and *E. coli* lipopolysaccharides exhibit different systemic but similar local induction of inflammatory markers. *J Periodontol* 79 (2008) 1241–1247
65. Johansson A: *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* Leukotoxin: A Powerful Tool with Capacity to Cause Imbalance in the Host Inflammatory Response. *Toxins* 3 (2011) 242–259
66. Matangkasombut O, Wattanawaraporn R, Tsuruda K, Ohara M, Sugai M, Mongkolsuk S: Cytotoxic distending toxin from *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* induces DNA damage, S/G2 cell cycle arrest, and caspase-independent death in a *Saccharomyces cerevisiae* model. *Infect Immun* 78 (2010) 783–792
67. Sandros J, Papapanou PN, Nannmark U, Dahlén G: *Porphyromonas gingivalis* invades human pocket epithelium invitro. *J Periodont Res* 29 (1994) 62–69

68. Guo Y, Nguyen KA, Potempa J: Dichotomy of gingipains action as virulence factors: from cleaving substrates with the precision of a surgeon's knife to a meat chopper-like brutal degradation of proteins. *Periodontol 2000* 54 (2010) 15–44
69. O'Brien-Simpson NM, Veith PD, Dashper SG, Reynolds EC: Porphyromonas gingivalis gingipains: the molecular teeth of a microbial vampire. *Curr Protein Pept Sci* 4 (2003) 409–426
70. Saini R, Marawar PP, Sujata Shete, Saini S: Periodontitis, a true infection. *J Glob Infect Dis* 1 (2009) 149–150
71. Kesim S, Unalan D, Esen C, Ozturk A: The relationship between periodontal disease severity and state-trait anxiety level. *J Pak Med Assoc* 62 (2012) 1304–1308
72. Löe H, Anerud A, Boysen H, Morrison E: Natural history of periodontal disease in man. Rapid, moderate and no loss of attachment in Sri Lankan laborers 14 to 46 years of age. *J Clin Periodontol* 13 (1986) 431–445
73. Tu YK, D'Aiuto F, Lin HJ, Chen YW, Chien KL: Relationship between metabolic syndrome and diagnoses of periodontal diseases among participants in a large Taiwanese cohort. *J Clin Periodontol* 8 (2013) doi: 10.1111/jcpe.12157
74. Yang NY, Zhang Q, Li JL, Yang SH, Shi Q: Progression of periodontal inflammation in adolescents is associated with increased number of Porphyromonas gingivalis, Prevotella intermedia, Tannerella forsythensis, and Fusobacterium nucleatum. *Int J Paediatr Dent* 9 (2013) doi: 10.1111/ipd.12065.
75. Dommisch H: Ätiologie parodontaler Erkrankungen. *Quintessenz* 63 (2012) 1119–1123
76. Reichert S, Altermann W, Stein JM, Schaller HG, Machulla HK, Schulz S: Individual composition of human leukocyte antigens and periodontopathogens in the background of periodontitis. *J Periodontol* 84 (2013) 100–109
77. Deng JS, Qin P, Li XX, Du YH: Association between interleukin-1 β C (3953/4)T polymorphism and chronic periodontitis: evidence from a meta-analysis. *Hum Immunol* 74 (2013) 371–378
78. Pretzl B, El Sayed N, Cosgarea R, Kaltschmitt J, Kim TS, Eickholz P, Nickles K, Bäumer A: IL-1-polymorphism and severity of periodontal disease. *Acta Odontol Scand* 70 (2012) 1–6
79. Scapoli L, Girardi A, Palmieri A, Carinci F, Testori T, Zuffetti F, Monguzzi R, Lauritano D: IL6 and IL10 are genetic susceptibility factors of periodontal disease. *Dent Res J (Isfahan)* 9 (2012) 197–201
80. Sugita N, Kobayashi T, Ando Y, Yoshihara A, Yamamoto K, Vande-Winkel JG: Increased frequency of increased gamma RIIIb-NA1 allele in periodontitis resistant subjects in an elderly Japanese population. *J Dent Res* 30 (2001) 914–918
81. Tarannum F, Faizuddin M: Effect of gene polymorphisms on periodontal diseases. *Indian J Hum Genet* 18 (2012) 9–19

82. Clarke NG, Hirsch RS: Personal risk factors for generalized periodontitis. *J Clin Periodontol* 22 (1995) 136–145
83. Hellwig E, Attin T: Einführung in die Zahnerhaltung 3. Auflage, Urban und Fischer, München, Jena, 2006, S. 393, 439
84. Shao MY, Huang P, Cheng R, Hu T: Interleukin-6 polymorphisms modify the risk of periodontitis: a systematic review and meta-analysis. *J Zhejiang Univ Sci B* 10 (2009) 920–927
85. Keck E: Rheumatologie. Ein Basisbuch. Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH, Stuttgart, 2002, S. 217–234
86. Miehle Wolfgang: Rheumatoide Arthritis 2. überarbeitete Auflage, Thieme, Stuttgart, 1999, S. 3–6, 9, 10–94
87. Schmidt Klaus L: Checkliste Rheumatologie 2. unveränderte Auflage, Thieme, Stuttgart, 1995, S. 28–39, 40–48, 49–55
88. Hettenkofer HJ: Rheumatologie 5. Auflage, Thieme, Stuttgart, 2003, S. 52–70, 80–89
89. Allender E: Rheumatic disorders in society. Report for a WHO scientific group meeting on rheumatic diseases, 26–30 June, 1989, WHO, Geneva
90. Arnett FC, Edworthy SM, Bloch DA, McShane DJ, Fries JF, Cooper NS, Healey LA, Kaplan SR, Liang MH, Luthra HS: The American Rheumatism Association 1987 revised criteria for the classification of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 31 (1988) 315–324
91. http://dgrh.de/fileadmin/media/Praxis___Klinik/Leitlinien/2012/leitlinie_s1__medikamentose_therapie_ra.pdf (09.09.2013)
92. Segal R, Caspi D, Tishler M, Wigler I, Yaron M: Short term effects of low dose methotrexate on the acute phase reaction in patients with rheumatoid arthritis. *J Rheumatol* 16 (1989) 914–917
93. O'Callaghan JW, Forrest MJ, Brooks PM: Inhibition of neutrophil chemotaxis in methotrexate-treated rheumatoid arthritis patients. *Rheumatol Int* 8 (1988) 41–45
94. Sperling RI, Benincaso AI, Anderson RJ, Coblyn JS, Austen KF, Weinblatt ME: Acute and chronic suppression of leukotriene B4 synthesis ex vivo in neutrophils
95. George E, Kirwan JR: Corticosteroid therapy in rheumatoid arthritis. *Baillieres Clin Rheumatol* 4 (1990) 621–647
96. Fox RI, Herrmann ML, Frangou CG, Wahl GM, Morris RE, Strand V, Kirschbaum BJ: Mechanism of action for leflunomide in rheumatoid arthritis. *Clin Immunol* 93 (1999) 198–208
97. McConkey B, Amos RS, Durham S, Forster PJ, Hubball S, Walsh L: Sulphasalazine in rheumatoid arthritis. *Br Med J* 280 (1980) 442–444

98. Corrado A, Neve A, Maruotti N, Cantatore FP: Bone effects of biologic drugs in rheumatoid arthritis. *Clin Dev Immunol* 2013; 2013:945945. doi: 10.1155/2013/945945. Epub 2013 Jun 20
99. Nam JL, Winthrop KL, van Vollenhoven RF, Pavelka K, Valesini G, Hensor EM, Worthy G, Landewé R, Smolen JS, Emery P, Buch MH: Current evidence for the management of rheumatoid arthritis with biological disease-modifying antirheumatic drugs: a systematic literature review informing the EULAR recommendations for the management of RA. *Ann Rheum Dis* 69 (2010) 976–986
100. Lipsky PE, van der Heijde DM, St Clair EW, Furst DE, Breedveld FC, Kalden JR, Smolen JS, Weisman M, Emery P, Feldmann M, Harriman GR, Maini RN: Infliximab and methotrexate in the treatment of rheumatoid arthritis. Anti-Tumor Necrosis Factor Trial in Rheumatoid Arthritis with Concomitant Therapy Study Group. *N Engl J Med* 343 (2000) 1594–1602
101. Potter C, Hyrich KL, Tracey A, Lunt M, Plant D, Symmons DP, Thomson W, Worthington J, Emery P, Morgan AW, Wilson AG, Isaacs J, Barton A: Association of rheumatoid factor and anti-cyclic citrullinated peptide positivity, but not carriage of shared epitope or PTPN22 susceptibility variants, with anti-tumour necrosis factor response in rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 68 (2009) 69–74
102. Plant D, Prajapati R, Hyrich KL, Morgan AW, Wilson AG, Isaacs JD; Biologics in Rheumatoid Arthritis Genetics and Genomics Study Syndicate, Barton A: Replication of association of the PTPRC gene with response to anti-tumor necrosis factor therapy in a large UK cohort. *Arthritis Rheum* 64 (2012) 665–670
103. Al-Shakarchi I, Gullick NJ, Scott DL: Current perspectives on tocilizumab for the treatment of rheumatoid arthritis: a review. *Patient Prefer Adherence* 7 (2013) 653–666
104. Lanchbury JS: The HLA association with rheumatoid arthritis. *Clin Exp Rheumatol* 10 (1992) 301–304
105. Lang B, Peter HH: Das HLA-System und die Rheumatoide Arthritis. *Z Rheum* 49 (1990) 197–207
106. Lawrence JS: Genetics of Rheumatoid Factor and Rheumatoid Arthritis. *Clin exp Immunol* 2 (1967) 769-783
107. MacGregor A, Ollier W, Thomson W, Jawaheer D, Silman A: HLA-DRB1*0401/0404 genotype and rheumatoid arthritis: increased association in men, young age at onset, and disease severity. *J Rheumatol* 22 (1995) 1032–1036
108. Schultz DR, Arnold PI: Heat shock (stress) proteins and autoimmunity in rheumatic diseases. *Semin Arthritis Rheum* 22 (1993) 357–374

109. Hatz HJ: Rheumatologie to go. Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH, Stuttgart, 2007, S. 298–299, 302–303, 307–321, 359–374, 374–389
110. Ishikawa H, Smiley JD, Ziff M: Electron microscopic demonstration of immunoglobulin deposition in rheumatoid cartilage. *Arthritis Rheum* 18 (1975) 563–576
111. Kay J, Calabrese L: The role of interleukin-1 in the pathogenesis of rheumatoid arthritis. *Rheumatology (Oxford)* 43 (2004) 2–9
112. Nishimoto N: Interleukin-6 in rheumatoid arthritis. *Curr Opin Rheumatol* 18 (2006) 277–281
113. Xu S, Lu H, Lin J, Chen Z, Jiang D: Regulation of TNFalpha and IL1beta in rheumatoid arthritis synovial fibroblasts by leukotriene B4. *Rheumatol Int* 30 (2010) 1183–1189
114. Ganten D: Molekularmedizinische Grundlagen von altersspezifischen Erkrankungen. Springer, Berlin, Heidelberg, New York, 2004, S. 377–383
115. Preus H, Khanifam P, Koltveit K, Mork C, Gjermo P: Periodontitis in psoriasis patients: a blinded, case-controlled study. *Acta Odontol Scand* 68 (2010) 165–170
116. Partsch G, Wagner E, Leeb BF, Bröll H, Dunky A, Smolen JS: T cell derived cytokines in psoriatic arthritis synovial fluids. *Annals of the rheumatic diseases* 57 (1998) 691–693
117. Baines M, Ebringer A, Avakian H, Samuel D, James DC: The use of enzyme immunoassay (EIA) and radiobindifig assay to investigate the crossreactivity of Klebsiella antigens and HLAB27 in ankylosing spondylitis patients and healthy controls. *Scand J Rheum* 19 (1990) 341–349
118. Husby G, Tsuchiya N, Schwimbeck PL, Keat A, Pahle JA, Oldstone MB, Williams RC Jr: Cross-reactive epitope with Klebsiella pneumoniae nitrogenase in articular tissue of HLAB27 positive patients with ankylosing spondylitis. *Arthritis Rheum* 32 (1989) 437–445
119. Lee ML, Weinblatt ME: Rheumatoid arthritis. *Lancet* 358 (2001) 903–911
120. Singh A, Agarwal V, Tuli A, Khattak BP: Prevalence of chronic periodontitis in Meerut: A cross-sectional survey. *J Indian Soc Periodontol* 16 (2012) 529–532
121. Bartold PM, Marshall RI, Haynes DR: Periodontitis and rheumatoid arthritis: a review. *J Periodontol* 76 (2005) 2066–2074
122. Chen CC, Chang KL, Huang JF, Huang JS, Tsai CC: Correlation of interleukin-1 beta, interleukin-6, and periodontitis. *Kaohsiung J Med Sci* 13 (1997) 609–617
123. Deo V, Bhongade ML: Pathogenesis of periodontitis: role of cytokines in host response. *Dent Today* 29 (2010) 60–62, 64–66, 68–69
124. Feldmann M, Brennan FM, Maini RN: Role of cytokines in rheumatoid arthritis. *Annu Rev Immunol* 14 (1996) 397–440
125. Hashizume M, Mihara M: The roles of interleukin-6 in the pathogenesis of rheumatoid arthritis. *Arthritis* 2011, Published online 2011 May 26. doi: 10.1155/2011/765624

126. Seymour GJ, Gemmell E: Cytokines in periodontal disease: where to from here? *Acta Odontol Scand* 59 (2001) 167–173
127. Sharma JN, Buchanan WW: Pathogenic responses of bradykinin system in chronic inflammatory rheumatoid disease. *Exp Toxicol Pathol* 6 (1994) 421–433
128. Ogrendik M.: Rheumatoid arthritis is linked to oral bacteria: etiological association. *Mod Rheumatol* 19 (2009) 453–456
129. Ogrendik M: Periodontopathic bacteria and rheumatoid arthritis: is there a link? *J Clin Rheumatol* 14 (2008) 310–311
130. Kobayashi T, Ito S, Kuroda T, Yamamoto K, Sugita N, Narita I, Sumida T, Gejyo F, Yoshie H: The interleukin-1 and Fcγ receptor gene polymorphisms in Japanese patients with rheumatoid arthritis and periodontitis. *J Periodontol* 78 (2007) 2311–2318
131. Pischon N, Pischon T, Gülmez E, Kröger J, Purucker P, Kleber BM, Landau H, Jost-Brinkmann PG, Schlattmann P, Zernicke J, Burmester GR, Bernimoulin JP, Buttgereit F, Detert J: Periodontal disease in patients with ankylosing spondylitis. *Ann Rheum Dis* 69 (2010) 34–38
132. Mikuls TR, Thiele GM, Deane KD, Payne JB, O'Dell JR, Yu F, Sayles H, Weisman MH, Gregersen PK, Buckner JH, Keating RM, Derber LA, Robinson WH, Holers VM, Norris JM: Porphyromonas gingivalis and disease-related autoantibodies in individuals at increased risk of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 64 (2012) 3522–3530
133. Brajović G, Stefanović G, Ilić V, Petrović S, Stefanović N, Nikolić-Jakoba N, Milosević-Jovčić N: Association of fibronectin with hypogalactosylated immunoglobulin G in gingival crevicular fluid in periodontitis. *J Periodontol* 81 (2010) 1472–1480
134. Stefanović G, Marković D, Ilić V, Brajović G, Petrović S, Milosević-Jovčić N: Hypogalactosylation of salivary and gingival fluid immunoglobulin G in patients with advanced periodontitis. *J Periodontol* 77 (2006) 1887–1893
135. Lundberg K, Kinloch A, Fisher BA, Wegner N, Wait R, Charles P, Mikuls TR, Venables PJ: Antibodies to citrullinated alpha-enolase peptide 1 are specific for rheumatoid arthritis and cross-react with bacterial enolase. *Arthritis Rheum* 58 (2008) 3009–3019
136. Rudney JD, Chen R, Sedgewick GJ: Intracellular Actinobacillus actinomycetemcomitans and Porphyromonas gingivalis in buccal epithelial cells collected from human subjects. *Infect Immun* 69 (2001) 2700–2707
137. Vossenaar ER, Radstake TR, van der Heijden A, van Mansum MA, Dieteren C, de Rooij DJ, Barrera P, Zendman AJ, van Venrooij WJ: Expression and activity of citrullinating peptidylarginine deiminase enzymes in monocytes and macrophages. *Ann Rheum Dis* 63 (2004) 373–381

138. Klareskog L, Stolt P, Lundberg K, Källberg H, Bengtsson C, Grunewald J, Rönnelid J, Harris HE, Ulfgren AK, Rantapää-Dahlqvist S, Eklund A, Padyukov L, Alfredsson L: A new model for an etiology of rheumatoid arthritis: smoking may trigger HLA-DR (shared epitope)-restricted immune reactions to autoantigens modified by citrullination. *Arthritis Rheum* 54 (2006) 38–46
139. Klareskog L, Rönnelid J, Lundberg K, Padyukov L, Alfredsson L: Immunity to citrullinated proteins in rheumatoid arthritis. *Annu Rev Immunol* 26 (2008) 651–675
140. McGraw WT, Potempa J, Farley D, Travis J: Purification, characterization, and sequence analysis of a potential virulence factor from *Porphyromonas gingivalis*, peptidylarginine deiminase. *Infect Immun* 67 (1999) 3248–3256.
141. Weinberg A, Belton CM, Park Y, Lamont RJ: Role of fimbriae in *Porphyromonas gingivalis* invasion of gingival epithelial cells. *Infect Immun* 65 (1997) 313–316.
142. Harvey GP, Fitzsimmons TR, Dhamarpatni AA, Marchant C, Haynes DR, Bartold PM: Expression of peptidylarginine deiminase-2 and -4, citrullinated proteins and anti-citrullinated protein antibodies in human gingiva. *J Periodontal Res* 48 (2013) 252–261
143. Bernasconia L, Schneiderb S, Haslerb P, Andreas R: Anti-CCP: ein spezifischer Test für die rheumatoide Arthritis. *Schweiz Med Forum* 40 (2009) 712
144. <http://www.hopkinsarthritis.org/physician-corner/rheumatology-rounds/round-4-citrullinated-proteins-peptidylarginine-deiminase-pad-and-rheumatoid-arthritis/> (09.09.2013)
145. Dellabona P, Peccoud J, Kappler J, Marrack P, Benoist C, Mathis D: Superantigens interact with MHC class II molecules outside of the antigen groove. *Cell* 21 (1990) 1115–1121
146. Cuesta IA, Sud S, Song Z, Affholter JA: T-cell receptor (Vbeta) bias in the response of rheumatoid arthritis synovial fluid T cells to connective tissue antigens. *Scand J Rheumatol* 26 (1997) 166–173
147. Leung KP, Torres BA: *Prevotella intermedia* stimulates expansion of Vbeta-specific CD4(?) T cells. *Infect Immun* 68 (2000) 5420–5424
148. Mathur A, Michalowicz B, Yang C, Aeppli D: Influence of periodontal bacteria and disease status on V beta expression in T cells. *J Periodontal Res* 30 (1995) 369–373
149. Kallberg H, Padyukov L, Plenge RM, Rönnelid J, Gregersen PK, van der Helmvan Mil AH: Gene-gene and gene-environment interactions involving HLADRB1, PTPN22, and smoking in two subsets of rheumatoid arthritis. *Am J Hum Genet* 80 (2007) 867–875
150. Pers JO, Saraux A, Pierre R, Youinou P: Anti-TNF-alpha immunotherapy is associated with increased gingival inflammation without clinical attachment loss in subjects with rheumatoid arthritis. *J Periodontol* 79 (2008) 1645–1651

151. Grigoriadou ME, Koutayas SO, Madianos PN, Strub JR: Interleukin-1 as a genetic marker for periodontitis: review of the literature. *Quintessence Int* 41 (2010) 517–525
152. McCoy JM, Wicks JR, Audoly L: The role of prostaglandin E2 receptors in the pathogenesis of rheumatoid arthritis. *J Clin Invest* 110 (2002) 651–658
153. Roberts FA, Houston LS, Lukehart SA, Mancl LA, Persson GR, Page RC: Periodontitis vaccine decreases local prostaglandin E2 levels in a primate model. *Infect Immun* 72 (2004) 1166–1168
154. Emingil G, Cinarcik S, Baylas H, Coker I, Hüseyinov A: Levels of leukotriene B4 in gingival crevicular fluid and gingival tissue in specific periodontal diseases. *J Periodontol* 72 (2001) 1025–1031
155. Lange DE, Plagmann HC, Eenboom A, Promesberger A: Klinische Bewertungsverfahren zur Objektivierung der Mundhygiene. *Dtsch Zahnärztl Z* 32 (1977) 44–47
156. Eickholz P: Glossar der Grundbegriffe für die Praxis. *Parodontologische Diagnostik. Teil 1: Klinische Plaque- und Entzündungsparameter. Parodontologie* 16 (2005) 69–75
157. Ainamo J, Bay I: Problems and proposals for recording gingivitis and plaque. *Int Dent J* 25 (1975) 229–235
158. Stein JM: Diagnostik in der Parodontologie. *Quintessenz* 63 (2012) 1127–1137
159. Tonetti MS, Claffey N; European Workshop in Periodontology group C: Advances in the progression of periodontitis and proposal of definitions of a periodontitis case and disease progression for use in risk factor research. Group C consensus report of the 5th European Workshop in Periodontology. *J Clin Periodontol* 32 (2005) 10–13
160. Geerts SO, Nys M, De MP, Charpentier J, Albert A, Legrand V, Rompen EH: Systemic release of endotoxins induced by gentle mastication: association with periodontitis severity. *J Periodontol* 73 (2002) 73–78
161. Tomás I, Diz P, Tobías A, Scully C, Donos N: Periodontal health status and bacteraemia from daily oral activities: systematic review/meta-analysis. *J Clin Periodontol* 39 (2012) 213–228
162. Zhang W, Daly CG, Mitchell D, Curtis B: Incidence and magnitude of bacteraemia caused by flossing and by scaling and root planing. *J Clin Periodontol* 40 (2013) 41–52
163. Castillo DM, Sánchez-Beltrán MC, Castellanos JE, Sanz I, Mayorga-Fayad I, Sanz M, Lafaurie GI: Detection of specific periodontal microorganisms from bacteraemia samples after periodontal therapy using molecular-based diagnostics. *J Clin Periodontol* 38 (2011) 418–427
164. Håheim LL, Olsen I, Rønningen KS: Association between tooth extraction due to infection and myocardial infarction. *Community Dent Oral Epidemiol* 39 (2011) 393–397
165. Mahendra J, Mahendra L, Kurian VM, Jaishankar K, Mythilli R: 16S rRNA-based detection of oral pathogens in coronary atherosclerotic plaque. *Indian J Dent Res* 21 (2010) 248–252

166. Ohki T, Itabashi Y, Kohno T, Yoshizawa A, Nishikubo S, Watanabe S, Yamane G, Ishihara K: Detection of periodontal bacteria in thrombi of patients with acute myocardial infarction by polymerase chain reaction. *Am Heart J* 163 (2012) 164–167
167. Padilla C, Lobos O, Hubert E, González C, Matus S, Pereira M, Hasbun S, Descouvieres C: Periodontal pathogens in atheromatous plaques isolated from patients with chronic periodontitis. *J Periodontal Res* 41 (2006) 350–353
168. Carrion J, Scisci E, Miles B, Sabino GJ, Zeituni AE, Gu Y, Bear A, Genco CA, Brown DL, Cutler CW: Microbial carriage state of peripheral blood dendritic cells (DCs) in chronic periodontitis influences DC differentiation, atherogenic potential. *J Immunol* 189 (2012) 3178–3187
169. Maekawa T, Takahashi N, Honda T, Yonezawa D, Miyashita H, Okui T, Tabeta K, Yamazaki K: Porphyromonas gingivalis antigens and interleukin-6 stimulate the production of monocyte chemoattractant protein-1 via the upregulation of early growth response-1 transcription in human coronary artery endothelial cells. *J Vasc Res* 47 (2010) 346–354
170. Ebersole JL, Holt SC, Hansard R, Novak MJ: Microbiologic and immunologic characteristics of periodontal disease in Hispanic americans with type 2 diabetes. *J Periodontol* 79 (2008) 637–646
171. Makiura N, Ojima M, Kou Y, Furuta N, Okahashi N, Shizukuishi S, Amano A: Relationship of Porphyromonas gingivalis with glycemic level in patients with type 2 diabetes following periodontal treatment. *Oral Microbiol Immunol* 23 (2008) 348–351
172. Eick S, Pfister W: Comparison of microbial cultivation and a commercial PCR based method for detection of periodontopathogenic species in subgingival plaque samples. *J Clin Periodontol* 29 (2002) 638–644
173. Bazzani C, Filippini M, Caporali R, Bobbio-Pallavicini F, Favalli EG, Marchesoni A, Atzeni F, Sarzi-Puttini P, Gorla R: Anti-TNFalpha therapy in a cohort of rheumatoid arthritis patients: clinical outcomes. *Autoimmun Rev* 8 (2009) 260–265
174. Joseph R, Rajappan S, Nath SG, Paul BJ: Association between chronic periodontitis and rheumatoid arthritis: a hospital-based case-control study. *Rheumatol Int* 33 (2013) 103–109
175. Martinez-Martinez RE, Abud-Mendoza C, Patiño-Marin N, Rizo-Rodríguez JC, Little JW, Loyola-Rodríguez JP: Detection of periodontal bacterial DNA in serum and synovial fluid in refractory rheumatoid arthritis patients. *J Clin Periodontol* 36 (2009) 1004–1010
176. Pischon N, Röhner E, Hocke A, N'Guessan P, Müller HC, Matziolis G, Kanitz V, Purucker P, Kleber BM, Bernimoulin JP, Burmester G, Buttgerit F, Detert J: Effects of Porphyromonas gingivalis on cell cycle progression and apoptosis of primary human chondrocytes. *Ann Rheum Dis* 68 (2009) 1902–1907

177. Röhner E, Detert J, Kolar P, Hocke A, N'Guessan P, Matziolis G, Kanitz V, Bernimoulin JP, Kielbassa A, Burmester GR, Buttgereit F, Pischon N: Induced apoptosis of chondrocytes by *Porphyromonas gingivalis* as a possible pathway for cartilage loss in rheumatoid arthritis. *Calcif Tissue Int* 87 (2010) 333–340
178. Zhang W, Ju J, Rigney T, Tribble GD: Fimbriae of *Porphyromonas gingivalis* are important for initial invasion of osteoblasts, but not for inhibition of their differentiation and mineralization. *J Periodontol* 82 (2011) 909–916
179. Zhang W, Swearingen EB, Ju J, Rigney T, Tribble GD: *Porphyromonas gingivalis* invades osteoblasts and inhibits bone formation. *Microbes Infect* 12 (2010) 838–845
180. Zhang W, Ju J, Rigney T, Tribble G: Integrin $\alpha 5\beta 1$ -fimbriae binding and actin rearrangement are essential for *Porphyromonas gingivalis* invasion of osteoblasts and subsequent activation of the JNK pathway. *BMC Microbiol.* 2013 Jan 10;13:5. doi: 10.1186/1471–2180–13–5
181. Stoll T, Stucki G, Brühlmann P, Vogt M, Gschwend N, Michel BA: Infection of a total knee joint prosthesis by *peptostreptococcus micros* and *propionibacterium acnes* in an elderly RA patient: implant salvage with longterm antibiotics and needle aspiration/irrigation. *Clin Rheumatol* 15 (1996) 399–402
182. Quirke AM, Lugli EB, Wegner N, Hamilton BC, Charles P, Chowdhury M, Ytterberg AJ, Zubarev RA, Potempa J, Culshaw S, Guo Y, Fisher BA, Thiele G, Mikuls TR, Venables PJ: Heightened immune response to autocitrullinated *Porphyromonas gingivalis* peptidylarginine deiminase: a potential mechanism for breaching immunologic tolerance in rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis.* 2013 Mar 28. [Epub ahead of print]
183. Wegner N, Lundberg K, Kinloch A, Fisher B, Malmström V, Feldmann M, Venables PJ: Autoimmunity to specific citrullinated proteins gives the first clues to the etiology of rheumatoid arthritis. *Immunol Rev* 233 (2010) 34–54
184. Hill JA, Southwood S, Sette A, Jevnikar AM, Bell DA, Cairns E: Cutting edge: the conversion of arginine to citrulline allows for a high-affinity peptide interaction with the rheumatoid arthritis-associated HLA-DRB1*0401 MHC class II molecule. *J Immunol* 171 (2003) 538–541
185. Puszczewicz M, Iwaszkiewicz C: Role of anti-citrullinated protein antibodies in diagnosis and prognosis of rheumatoid arthritis. *Arch Med Sci* 7 (2011) 189–194
186. Ribeiro J, Leão A, Novaes AB: Periodontal infection as a possible severity factor for rheumatoid arthritis. *J Clin Periodontol* 32 (2005) 412–416
187. Van Assche N, Van Essche M, Pauwels M, Teughels W, Quirynen M: Do periodontopathogens disappear after full-mouth tooth extraction? *J Clin Periodontol* 36 (2009) 1043–1047

188. Cortelli JR, Aquino DR, Cortelli SC, Nobre Franco GC, Fernandes CB, Roman-Torres CV, Costa FO: Detection of periodontal pathogens in oral mucous membranes of edentulous individuals. *J Periodontol* 79 (2008) 1962–1965
189. Sachdeo A, Haffajee AD, Socransky SS: Biofilms in the edentulous oral cavity. *J Prosthodont* 17 (2008) 348–356
190. Gani DK, Mallineni SK, Ambalavanan, Ramakrishnan, Deepalakshmi, Emmadi P: Estimation of the levels of C-reactive protein, interleukin-6, total leukocyte count, and differential count in peripheral blood smear of patients with chronic periodontitis in a South Indian population. *West Indian Med J* 61 (2012) 826–831
191. Nogueira-Filho G, Rosa BT, Santos PF, Tunes UR, Freire SM, Meyer R, Darveau RP: Whole Blood Cultures From Patients With Chronic Periodontitis Respond Differently to Porphyromonas gingivalis but not Escherichia coli Lipopolysaccharide. *J Periodontol*. 2013 Sep 3. PMID: 24001045
192. de Vries RR, Huizinga TW, Toes RE: Redefining the HLA and RA association: to be or not to be anti-CCP positive. *J Autoimmun* 25 (2005) 21–25
193. Gran JT, Husby G, Thorsby E: The association between rheumatoid arthritis and the HLA antigen DR4. *Ann Rheum Dis* 42 (1983) 292–296
194. Petsios A, Nakou M, Manti F: Microflora in adult periodontitis. *J Periodontal Res* 30 (1995) 325–331
195. <http://de.wikipedia.org/wiki/TUNEL-Methode> (14.03.2014)

Anlagen



Aufklärungsbogen und Einverständniserklärung

Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg
Klinikum der Medizinischen Fakultät, Poliklinik für Zahnerhaltungskunde und Parodontologie,
Universitätsklinik und Poliklinik für Innere Medizin I

Thema: Nachweis von parodontopathogenen Bakterien sowie von genetischen Risikofaktoren bei Patienten mit Rheumatoidarthritis (RA) im Vergleich zu gesunden Kontrollprobanden

Patienteninformation Rheumapatient

Sehr geehrte Probandin, sehr geehrter Proband,

wir möchten Ihnen die Teilnahme an einem klinisch-wissenschaftlichen Projekt anbieten.

Ziel der Untersuchung

Ziel der Studie ist es, die Wechselbeziehung zwischen einer rheumatischen Gelenkerkrankung (Rheumatoidarthritis) und Erkrankungen des Zahnhalteapparates (Parodontitis) zu untersuchen. Durch eine mikrobiologische Untersuchung soll geprüft werden, ob Keime, die eine Parodontitis auslösen, auch für die Entstehung von rheumatischen Erkrankungen relevant sind.

Würde man Wechselwirkungen zwischen bakteriellen Keimen der Mundhöhle und rheumatischen Gelenkerkrankungen kennen, so könnten durch zusätzliche Behandlung der Keime der Mundhöhle die Therapie und damit der Verlauf der Gelenkerkrankung möglicherweise positiv beeinflusst werden.

Darüber hinaus werden genetische Marker bestimmt (z. B. Zytokinpolymorphismen), die für Entstehung und Verlauf von rheumatischen Erkrankungen und Parodontitis gleichermaßen bedeutsam sein könnten. Durch die Charakterisierung von genetischen Risikofaktoren könnte man zukünftig möglicherweise gefährdete Personen bereits vor dem Ausbruch der Gelenkerkrankung erkennen und vorbeugende Maßnahmen ergreifen.

Welche Risiken und Vorteile ergeben sich aus der Teilnahme an der Studie?

Daten zur Bestimmung der rheumatischen Erkrankung werden der Patientenakte entnommen. Die zahnärztliche und mikrobiologische Untersuchung erfolgt einmalig nicht invasiv nach zugelassenen Standardverfahren und nimmt eine Zeit von ca. 60 Minuten in Anspruch. Die Probenentnahme für die genetischen Tests erfolgt einmalig in Form eines schmerzlosen Mundschleimhautabstrichs oder durch zusätzliche Abnahme von 2,7 ml Vollblut im Rahmen der für die Routinediagnostik notwendigen Blutentnahme. Es erfolgt keine kommerzielle Nutzung der Patientenproben. Da Erbsubstanz (DNA) lagerfähig ist, ergibt sich die Möglichkeit, eventuell zu einem späteren Zeitpunkt mit einem gewachsenen Spektrum von Methoden weitergehende Untersuchungen durchzuführen.

Ein zusätzliches Gesundheitsrisiko besteht durch diese Untersuchungen für Sie nicht. Bei Notwendigkeit einer zahnärztlichen Therapie, die auch an der Universitätspoliklinik für Zahnerhaltungskunde und Parodontologie durchgeführt werden kann, können alle im Rahmen der Studie erhobenen Befunde genutzt werden. Erfolgt die Behandlung beim Heimat Zahnarzt, werden diesem alle erhobenen Befunde auf Wunsch zur Verfügung gestellt.

Vertraulichkeit der Unterlagen

Alle Daten werden streng vertraulich behandelt und unterliegen der ärztlichen Schweigepflicht.

Über Ihr Einverständnis zur vorgestellten Untersuchung würden wir uns sehr freuen!

**Patienteneinverständnis
von Patienten der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg
zur Teilnahme an einem klinischen Forschungsprojekt**

Name _____, geboren am _____

Herr/Frau _____ hat mich über die Studie „**Nachweis von parodontopathogenen Bakterien sowie von genetischen Risikofaktoren bei Patienten mit Rheumatoidarthritis (RA) im Vergleich zu gesunden Kontrollprobanden**“ ausführlich aufgeklärt. Ich bin damit einverstanden, an der oben beschriebenen Studie unter den erläuterten Bedingungen teilzunehmen.

Die Teilnahme an der Studie ist freiwillig. Ich bin weiterhin damit einverstanden, dass alle erhobenen Daten in anonymisierter Form ausgewertet werden. Ein Widerruf der Einverständniserklärung ist jederzeit ohne Angabe von Gründen oder persönliche Nachteile möglich.

Ich willige hiermit in die obengenannten Untersuchungen und Auswertungen ein.

Ich habe keine weiteren Fragen.

Datum: Halle, den _____

Unterschrift des Untersuchers

Unterschrift des Patienten



Aufklärungsbogen und Einverständniserklärung

Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg
Klinikum der Medizinischen Fakultät, Poliklinik für Zahnerhaltungskunde und Parodontologie,
Universitätsklinik und Poliklinik für Innere Medizin I

Thema: Nachweis von parodontopathogenen Bakterien sowie von genetischen Risikofaktoren bei Patienten mit Rheumatoidarthritis (RA) im Vergleich zu gesunden Kontrollprobanden

Patienteninformation (Gesunde Erwachsene)

Sehr geehrte Probandin, sehr geehrter Proband,

wir möchten Ihnen die Teilnahme an einem klinisch-wissenschaftlichen Projekt anbieten.

Ziel der Untersuchung

Wir vermuten einen Zusammenhang zwischen rheumatischen Gelenkerkrankungen (Rheumatoidarthritis) und einer Entzündung des Zahnhalteapparates (Parodontitis). Ziel der Studie ist es, die Wechselbeziehung zwischen Rheumatoidarthritis und Parodontitis zu untersuchen. Dazu untersuchen wir Personen, die an Rheumatoidarthritis erkrankt sind. Zum Vergleich ist auch die Untersuchung von gesunden Probanden notwendig, die keine Arthritis haben. Deshalb sind Sie für diese Studie geeignet.

Wie erfolgt die Untersuchung?

Die zahnärztliche Untersuchung erfolgt nach allgemeinem klinischen Standard. Darüber hinaus werden mit Papierspitzen Proben vom Zahnbelag für eine mikrobiologische Keimanalyse entnommen. Weiterhin möchten wir erbliche Entzündungsmarker (Genpolymorphismen) nachweisen. Dazu ist eine kleine Blutprobe von ca. 2 ml nötig. Alle Untersuchungen zusammen werden ca. 60 Minuten dauern.

Welche Risiken und Vorteile ergeben sich aus der Teilnahme an der Studie?

Ein Gesundheitsrisiko besteht durch diese Untersuchungen für Sie nicht. Bei Notwendigkeit einer zahnärztlichen Therapie können alle im Rahmen der Studie erhobenen Befunde zur Verfügung gestellt werden. Durch die Lagerfähigkeit der bei der genetischen Untersuchung gewonnenen Erbsubstanz (DNA) können möglicherweise zu einem späteren Zeitpunkt mit einem gewachsenen Spektrum an Methoden weitergehende Untersuchungen durchgeführt werden. Diese erfolgen ausschließlich zu den Krankheitsbildern Rheuma und Parodontitis und werden nur nach Prüfung und Genehmigung durch die Ethikkommission der Martin-Luther-Universität vorgenommen.

Wenn Sie sich für eine Teilnahme an der Studie entscheiden, können Sie mit dazu beitragen, dass neue Erkenntnisse über die Entstehung von rheumatischen Erkrankungen gewonnen werden.

Vertraulichkeit der Unterlagen

Alle Daten werden streng vertraulich behandelt und unterliegen der ärztlichen Schweigepflicht.

Über Ihr Einverständnis zur vorgestellten Untersuchung würden wir uns sehr freuen!

**Einverständnis
von Patienten der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg
zur Teilnahme an einem klinischen Forschungsprojekt**

Name _____, geboren am _____

Herr/Frau _____ hat mich über die Studie „**Nachweis von parodontopathogenen Bakterien sowie von genetischen Risikofaktoren bei Patienten mit Rheumatoidarthritis (RA) im Vergleich zu gesunden Kontrollprobanden**“ ausführlich aufgeklärt. Ich bin damit einverstanden, an der oben beschriebenen Studie unter den erläuterten Bedingungen teilzunehmen.

Die Teilnahme an der Studie ist freiwillig. Ich bin weiterhin damit einverstanden, dass alle erhobenen Daten in anonymisierter Form ausgewertet werden. Ein Widerruf der Einverständniserklärung ist jederzeit ohne Angabe von Gründen oder persönliche Nachteile möglich.

Ich willige hiermit in die obengenannten Untersuchungen und Auswertungen ein.

Ich habe keine weiteren Fragen.

Datum: Halle, den _____

Unterschrift des Untersuchers

Unterschrift des Patienten

Parodontalstatus

Patient: _____ Datum: _____ Testat: _____
 Behandler: _____

<p>Schwarz: Sondierungstiefen (Werte und Schräfflerung) Lockerungsgrad I</p>		
<p>Blau: Fehlende Zähne (ausfüllen) Lockerungsgrad II</p>		
<p>v OK p</p>		
<p>I UK v</p>		

Thesen

1. Die aktuelle Studienlage lässt vermuten, dass Parodontitis und die Infektion mit parodontopathogenen Erregern das Risiko für die Entstehung entzündlich-rheumatischer Erkrankungen erhöhen.
2. Ziel dieser Arbeit war es zu zeigen, dass die DNA parodontopathogener Bakterien aus der Mundhöhle in Gelenke gelangen kann. Damit würde die Hypothese unterstützt werden, dass parodontale Bakterien in der Lage sind, bindegewebige und knöcherne Gelenkstrukturen direkt oder nach Auslösung von Autoimmunprozessen zu schädigen. Ein Nebenziel dieser Arbeit bestand darin zu überprüfen, ob klinisch-parodontologische Parameter mit Gelenkbefunden bei Patienten mit einer rheumatischen Erkrankung assoziiert sind.
3. Subgingivale Plaqueproben und Synovialflüssigkeit wurden bei Individuen mit einer rheumatischen Erkrankung (n = 51; Alter: 52,7 ± 16,4 Jahre; 49,1 % weiblich) und bei Kontrollprobanden ohne rheumatische Erkrankung (n = 114, davon 86 Verstorbene; Alter: 53,9 ± 16,6 Jahre; 40,4 % weiblich) entnommen. Der Nachweis von DNA parodontopathogener Bakterien aus oralen Plaqueproben wurde mithilfe eines kommerziell erhältlichen Testverfahrens realisiert. Für den Nachweis bakterieller DNA in der Synovialflüssigkeit wurde ein hochsensitives molekularbiologisches Verfahren etabliert. Klinisch parodontologische Parameter wie approximaler Plaqueindex (API), Bleeding on probing (BOP), klinischer Attachmentverlust (CAL) und Anzahl fehlender Zähne wurden in Test- und Kontrollgruppe ermittelt. Ein Parodontitisfall lag vor, wenn an mindestens zwei nicht benachbarten Zähnen ein CAL von 3 und mehr Millimetern gemessen wurde. Eine schwere Parodontitis wurde definiert als approximaler CAL ≥ 5 mm an mindestens 30 % der Zähne.
4. Die Prävalenz einer schweren Parodontitis (27,3 % vs. 49,1 %; p = 0,022) und der Mittelwert für den CAL (3,6 mm vs. 4,5 mm; p < 0,0001) waren in der Testgruppe signifikant verringert im Vergleich zu den Kontrollprobanden. Tendenziell wiesen Probanden mit einer rheumatischen Erkrankung jedoch mehr fehlende Zähne auf (11,1 vs. 8,2; p = 0,063) oder waren zahnlos (13,7 % vs. 5,3 %; p = 0,113). Dadurch kann es zur Unterschätzung der Parodontitisprävalenz in der Testgruppe gekommen sein.
5. Die DNA von fünf mit Parodontitis assoziierten Bakterien (*Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Treponema denticola*, *Tannerella forsythia*) konnte in der Mundhöhle sowie in der Synovialflüssigkeit sowohl bei Patienten mit rheumatischen Erkrankungen (Rheumatoide Arthritis, Psoriasisarthritis, Morbus Bechterew, Monarthritis) als auch bei Kontrollprobanden ohne rheumatische Erkrankungen nachgewiesen werden.
6. Auch bei zahnlosen Probanden der Test- und Kontrollgruppe wurde bakterielle DNA aus Abstrichen der Mundschleimhaut und Proben mit Synovialflüssigkeit detektiert. Dies zeigt, dass eine Extraktion aller Zähne nicht zu einer vollständigen Eradikation aller parodontopathogener Bakterien in der Mundhöhle und Synovialflüssigkeit führt. Dies könnte darauf zurückzuführen sein, dass bestimmte parodontale Bakterien in die Mundschleimhaut invadieren und dort persistieren können. Durch Ausschwemmung in die Blutbahn oder intrazellulären Transport können Bakterien oder Bakterienbestandteile dann in die Gelenke gelangen.

7. Bei Patienten mit einer rheumatischen Erkrankung wurde im Vergleich zu gesunden Kontrollprobanden in oralen Plaqueproben signifikant weniger bakterielle DNA nachgewiesen (1,7 vs. 1,9; $p = 0,046$). Der orale Nachweis des parodontopathogenen Bakteriums *P. intermedia* gelang signifikant häufiger bei Kontrollprobanden ohne rheumatische Erkrankung im Vergleich zur Testgruppe (34,2 % vs. 17,6 %; $p = 0,048$). Dieser Befund war jedoch nach Bonferroni-Korrektur nicht mehr signifikant ($p = 0,24$). Der vermehrte Nachweis bakterieller DNA aus oralen Plaqueproben der Kontrollprobanden könnte auf den dort im Vergleich zur Testgruppe nachgewiesenen höheren CAL an den Zähnen, an denen die Plaqueproben entnommen wurden, zurückzuführen sein (5,4 mm vs. 4,5 mm; $p = 0,002$). Zusätzlich könnte die erhöhte Anzahl von fehlenden Zähnen in der Testgruppe im Vergleich zur Kontrollgruppe (11,1 vs. 8,2) zu einer Senkung der Bakterienlast geführt haben.
8. Hinsichtlich der Gesamtzahl der in der Synovialflüssigkeit nachgewiesenen oralen bakteriellen DNA gab es keine signifikanten Unterschiede zwischen der Gruppe der rheumatisch Erkrankten und den Individuen der Kontrollgruppe. Bei separater Betrachtung der Bakterien konnte die DNA von *P. gingivalis* dagegen signifikant häufiger in der Synovialflüssigkeit rheumatisch Erkrankter im Vergleich zu Kontrollprobanden nachgewiesen werden (15,7 % vs. 3,5 %; $p = 0,045$, Bonferroni-Korrektur). Auch bei alleiniger Betrachtung von Probanden mit Rheumatoider Arthritis wurde die DNA von *P. gingivalis* signifikant häufiger in deren Synovialflüssigkeit detektiert (16,3 % vs. 3,5 %; $p = 0,05$, Bonferroni-Korrektur).
9. Bei mehr Probanden mit einer rheumatischen Erkrankung als bei gesunden Kontrollpersonen wurde die DNA von *P. gingivalis* sowohl in der Mundhöhle als auch in der Synovialflüssigkeit nachgewiesen (9,8 % vs. 0,9 %; $p = 0,055$, Bonferroni-Korrektur). Die Ergebnisse aus der mikrobiologischen Analyse der Synovialflüssigkeit zeigen, dass die DNA parodontopathogener Bakterien in Gelenke gelangen kann. *P. gingivalis* könnte in der Ätiologie und Pathogenese von rheumatischen Erkrankungen von besonderer Bedeutung sein, da es endogene und Wirtspeptide citrullinieren und damit Autoimmunreaktionen gegen artikuläre Strukturen triggern könnte. Auch die direkte Schädigung humaner Chondrozyten wurde in Zellkulturexperimenten bereits nachgewiesen.
10. Innerhalb der Probanden mit einer rheumatischen Erkrankung korrelierte der API positiv mit der Anzahl ihrer von Bewegungseinschränkungen betroffenen Gelenke ($r = 0,304$; $p = 0,047$). Eine schlechtere Mundhygiene könnte einerseits auf eine höhere orale Belastung der Mundhöhle hindeuten, die sich möglicherweise erschwerend auf eine bestehende rheumatische Erkrankung auswirkt. Dies wird dadurch unterstrichen, dass die Anzahl schmerzender ($r = 0,296$; $p = 0,041$) und geschwollener Gelenke ($r = 0,287$; $p = 0,035$) positiv mit der Anzahl in der Mundhöhle nachgewiesenen Bakterien assoziiert war. Andererseits wäre aber auch eine Limitierung der Mundhygiene durch mangelnde Beweglichkeit der oberen Extremitäten aufgrund des rheumatischen Leidens denkbar.
11. Die Anzahl fehlender Zähne korrelierte in der Gruppe der rheumatisch Erkrankten positiv mit der Anzahl schmerzender ($r = 0,324$; $p = 0,020$), geschwollener ($r = 0,350$; $p = 0,012$) und von Bewegungseinschränkungen betroffener Gelenke ($r = 0,387$; $p = 0,005$) sowie mit der Gesamtzahl rheumatisch geschädigter Gelenke ($r = 0,366$; $p = 0,008$). Die Anzahl fehlender Zähne ist ein Parameter für lang anhaltende Entzündungsreaktionen in der Mundhöhle, die sich

erschwerend auf den Verlauf und die Ausdehnung einer rheumatischen Erkrankung auswirken könnten.

12. Aus einigen Studien ist bereits bekannt, dass eine nicht chirurgische Parodontitisbehandlung in Form von Scaling/Root Planing und Mundhygieneunterweisung den Therapieerfolg bei Rheumapatienten verbessern kann. Des Weiteren erwies sich eine gegen Anaerobier gerichtete Antibiotikagabe als wirksam bei Patienten mit Rheumatoïdarthritis, die nicht genügend auf die Standardmedikation ansprachen. Aufgrund dieser Ergebnisse sollte rheumatisch erkrankten Patienten eine parodontale Diagnostik und gegebenenfalls Therapie vorgeschlagen werden. In multizentrischen Interventionsstudien sollte geprüft werden, ob Patienten mit rheumatischen Erkrankungen von einer Parodontitistherapie profitieren können.

Lebenslauf

Name: Maximilian Haffner
Geburtstag: 05.08.1981
Geburtsort: Haldensleben
Familienstand: ledig

Schulbildung

1992–2000 Gymnasium Otto-von-Guericke Magdeburg
2000 Abitur

Studium

2001–2007 Studium der Zahnmedizin an der Martin-Luther-Universität Halle-
Wittenberg
2007 Approbation als Zahnarzt

Beruf

2008–2010 Vorbereitungsassistent in der Zahnarztpraxis Dr. med. dent. Hagen Listing,
Magdeburg
2010–2011 Angestellter Zahnarzt in der Zahnarztpraxis Dr. med. dent. Eva Wilckens,
Magdeburg
seit 2012 Angestellter Zahnarzt in der Zahnarztpraxis Dipl.-Stom. Angelika Schütte,
Arendsee

Selbstständigkeitserklärung

Hiermit erkläre ich, Maximilian Haffner, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig und nur unter Verwendung der angegebenen Hilfsmittel und Literatur erstellt habe.

Ich erkläre außerdem, dass ich den Antrag auf Eröffnung des Promotionsverfahrens der vorliegenden Arbeit erstmalig beim Dekan des wissenschaftlichen Rates der Medizinischen Fakultät an der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg stelle und in der Vergangenheit an keiner anderen Universität gestellt habe.

Salzwedel, 25.04.2014

Danksagung

Herzlich bedanken möchte ich mich bei folgenden Personen, ohne deren Hilfe die vorliegende Arbeit nicht möglich gewesen wäre:

Herrn Prof. H.-G. Schaller für die freundliche Überlassung des Themas,

Herrn PD Dr. S. Reichert für die Vergabe des Themas und die produktive Unterstützung bei der Verfassung der Dissertation sowie für die Überlassung zahlreicher Vorträge und Tabellen,

Frau Dr. S. Schulz für die mikrobiologische Auswertung der Patientenproben und die nützlichen Hinweise für das Kapitel Material und Methode,

Herrn Dr. Carlo Weimann für die Überlassung zahlreicher seiner Patienten sowie für die Entnahme und Versendung von Synovialflüssigkeit,

Frau Uta Kopsch ebenfalls für die Vermittlung zahlreicher ihrer Patienten und für die Entnahme von Synovialflüssigkeit,

Herrn Dr. Hagen Listing für die Knüpfung von Kontakten zu Magdeburger Rheumatologen und Orthopäden.

Frau Dr. A Prellwitz für die Unterstützung.