

UNIVERSITÄTSKLINIKUM HAMBURG-EPPENDORF

Aus der Poliklinik für Parodontologie, präventive Zahnmedizin und Zahnerhaltung

Univ.-Prof. Dr. med. Dr. med. dent. Thomas Beikler

Der Einfluss nutrigenetischer Polymorphismen auf Entstehung und Verlauf einer Parodontitis

Dissertation

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Zahnmedizin
an der Medizinischen Fakultät der Universität Hamburg.

vorgelegt von:

Laura Damaschin
aus Wuppertal

Hamburg 2020

Annahmevermerk

Angenommen von der Medizinischen Fakultät am: 05.08.2020

**Veröffentlicht mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der Universität
Hamburg.**

Prüfungsausschuss, der Vorsitzender: Prof. Dr. Dr. Thomas Beikler

Prüfungsausschuss, zweiter Gutachter: Prof. Dr. Dr. Ralf Smeets

INHALTSVERZEICHNIS

ANNAHMEVERMERK.....	I
INHALTSVERZEICHNIS.....	II
1 EINLEITUNG.....	1
1.1 Parodontitis.....	1
1.1.1 Epidemiologie.....	1
1.1.2 Ätiologie und Pathogenese	3
1.1.3 Klassifikation.....	4
1.1.4 Therapie	5
1.1.5 Prävention.....	6
1.2 Nutrigenetik.....	8
1.2.1 Nutrigenetische Polymorphismen	9
1.2.2 TAS2R43.....	9
1.2.3 TAS2R19.....	11
1.2.4 TAS2R38.....	12
1.2.5 Apolipoprotein E (ApoE)	14
1.2.6 SLC30A8.....	16
1.2.7 Laktosetoleranz (LP) und Laktoseintoleranz (LNP).....	18
1.3 Zielsetzung und Arbeitshypothese.....	19
2 MATERIAL UND METHODE.....	20
2.1 Studiendesign.....	20
2.2 Probanden	20
2.3 Studienablauf.....	21
2.4 Erhebung der klinischen Daten	22
2.5 Molekularbiologische Methoden	22
2.5.1 DNA Isolation aus EDTA-Vollblut.....	22
2.5.2 PCR	23

2.5.3	Gel-Elektrophorese.....	24
2.5.4	Restriktionsfragment-Längen-Polymorphismus RFLP.....	25
2.5.5	Sequenzierung.....	29
2.6	Datenverarbeitung und statistische Analyse.....	29
3	ERGEBNISSE.....	31
3.1	Demographische und klinische Parameter der Patienten.....	31
3.2	Mikrobiologische Ergebnisse.....	31
3.3	Molekulargenetische Ergebnisse/ Auswertung.....	32
3.3.1	Auswertung/ Prävalenz TAS2R43.....	32
3.3.2	Prävalenz TAS2R19.....	33
3.3.3	PrävalenzTAS2R38.....	33
3.3.4	Prävalenz ApoE.....	34
3.3.5	Prävalenz SLC30A8.....	36
3.3.6	Prävalenz LP.....	36
3.4	Zusammenfassende Ergebnisse.....	38
4	DISKUSSION.....	38
4.1	Fragestellung.....	38
4.2	Material und Methode.....	39
4.2.1	Probanden.....	39
4.2.2	Studiendesign.....	40
4.2.3	Erhebung molekularbiologischer Parameter.....	40
4.3	Nutrigenetik.....	40
4.3.1	Klinische und mikrobiologische Ergebnisse.....	42
4.3.2	TAS2R43.....	42
4.3.3	TAS2R19.....	45
4.3.4	TAS2R38.....	46
4.3.5	ApoE.....	46
4.3.6	SLC30A8.....	47
4.3.7	LP.....	48
5	SCHLUSSFOLGERUNG.....	50

ZUSAMMENFASSUNG	52
ABSTRACT.....	53
DATENTABELLEN DER STUDIENAUSWERTUNG	LIV
ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS.....	LXIV
LITERATURVERZEICHNIS	
DANKSAGUNG	
LEBENS LAUF	
EIDESSTÄTTLICHE VERSICHERUNG	

1 Einleitung

1.1 Parodontitis

1.1.1 Epidemiologie

In der Bundesrepublik ist laut der 2007 erhobenen Studie zu „Ursachen des Zahnverlustes in Deutschland“ der häufigste Extraktionsgrund bei Erwachsenen ≥ 18 Jahren Parodontitis geschädigte Zähne. (1)

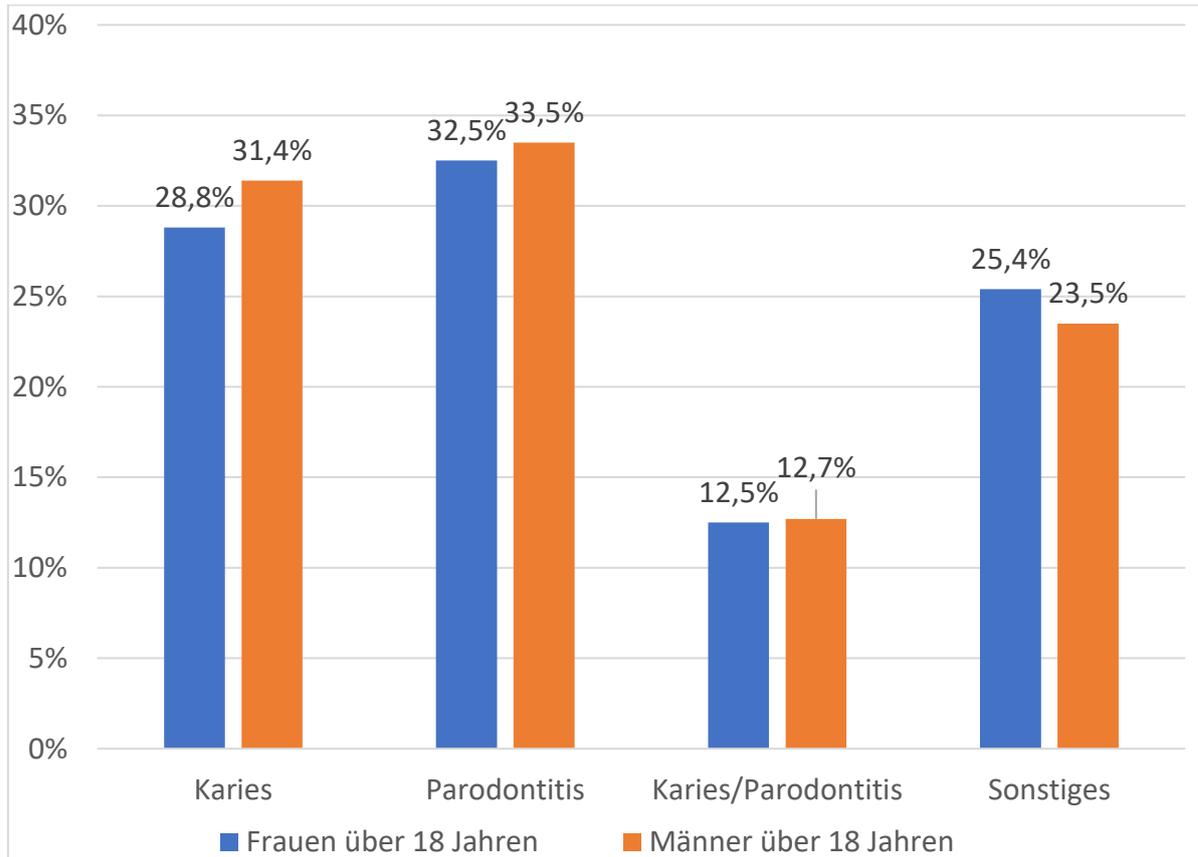


Abbildung 1: Ursachen für Zahnverlust in Deutschland 2007 (modifiziert nach Glockmann et. al 2007)

Die Parodontitis kann sich in jedem Alter manifestieren, jedoch steigt die Prävalenz mit dem Alter an. In der fünften deutschen Mundgesundheitsstudie 2014 wurde unter anderem die Häufigkeit der Parodontitis in der deutschen Bevölkerung untersucht. Der Anteil an Patienten, die an einer schweren Parodontitis litten, ist in den Jahren von 2005 bis 2014 stark zurückgegangen. Dieser Trend ist vor allem erfreulich, da hierdurch ältere Menschen immer mehr Zähne bis in das hohe Alter behalten. Dennoch waren immer noch in den Altersgruppen ab 35 Jahren über die Hälfte aller Patienten parodontal erkrankt.

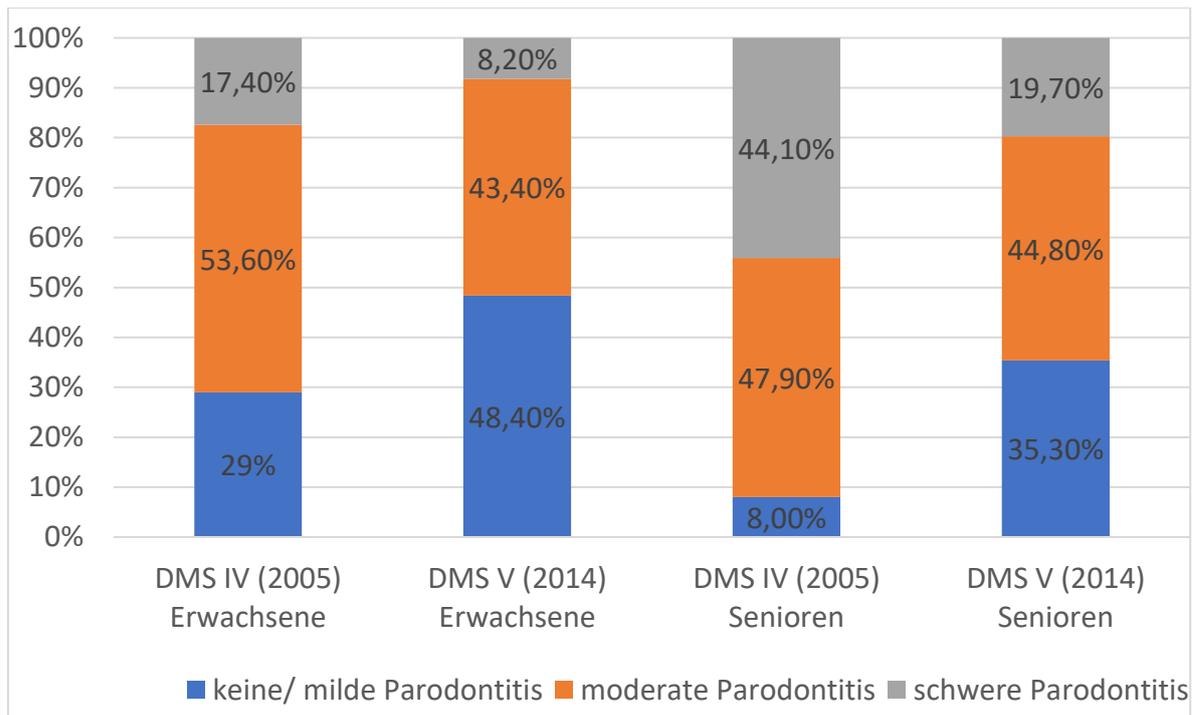


Abbildung 2: Auftreten von Parodontitis bei Erwachsenen (35-44 Jahre) und Senioren (65-74 Jahre) in Deutschland 2005 und 2014 im Vergleich. (modifiziert nach der IV und V Deutschen Mundgesundheitsstudie 2005 und 2016)

Aufgrund des demographischen Wandels wird zudem mit einem erhöhten Behandlungsbedarf in den nächsten Jahren gerechnet. Im Jahr 2030 wird eine Großzahl der Bevölkerung Senioren sein, was zu einem quantitativen Zuwachs an Parodontitispatienten führen wird (2). Trotz der hohen Anzahl an Parodontitis-Erkrankungen, ist die Bevölkerung dennoch schlecht über das eigentliche Krankheitsbild aufgeklärt. Eine 2007 durchgeführte Studie der IDZ zeigte, dass nur 10 Prozent der 65-74-jährigen und 14 Prozent der 35-44-jährigen die genaue Definition einer Parodontitis kannten. Zudem konnte nur ein Drittel der Bevölkerung „Plaque- und Zahnsteinbeläge“ als Hauptrisiko für die Entstehung einer Parodontitis nennen. Die deutsche Bevölkerung ist ebenfalls wenig über die Folgerisiken einer Parodontitis aufgeklärt. Spontan konnte fast keiner der Befragten „Schäden am Kieferknochen“ oder „Zahnausfall“ als größtes Folgerisiko benennen. Auch die Risiken für die Allgemeingesundheit waren nur wenigen Befragten bekannt (3). Die Ergebnisse dieser Befragung zeigen eindeutig, dass bundesweit die Aufklärung über Parodontitis mangelhaft ist.

1.1.2 Ätiologie und Pathogenese

Die Parodontitis ist eine chronische, infektiöse Erkrankung des Zahnhalteapparates, ausgelöst durch eine Veränderung im Mikrobiom. Der sich bildende Biofilm führt zu einer Entzündung der Gingiva und des Parodonts, was letztendlich in einem Rückgang des Alveolarknochens resultiert. Die Parodontitis ist also durch Attachmentverluste und Knochenabbau gekennzeichnet. Bei Unterlassung einer Intervention in den Verlauf der Erkrankung kann die Infektion zu Zahnlockerung bis hin zu Zahnverlust führen.

Jeder Parodontitis geht eine plaque-assoziierte Gingivitis voraus. Die Gingivitis gilt als ein reversibler, infektiöser Zustand der Gingiva aufgrund unzureichender Mundhygiene. Sie kann, muss jedoch nicht in einer Parodontitis resultieren. So ist ein multifaktorielles Geschehen voraussichtlich an der Entstehung der Parodontitis beteiligt.

Die Zusammensetzung und Menge der subgingivalen Plaque und die individuelle Immunantwort des Wirtes sind dabei die hauptverantwortlichen Faktoren für die Entstehung und Progression einer Parodontitis. Dabei ist das Vorhandensein von parodontopathogenen Bakterien entscheidend für die Entstehung der Erkrankung. *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Tannerella forsythia*, *Treponema denticola* und vor allem *Porphyromonas gingivalis* zählen zu den am stärksten parodontopathogenen Keimen (4). Jedoch gilt alleine der Nachweis dieser parodontopathogenen Keime in der Mundhöhle nicht als Nachweis für eine Parodontitis (5, 6).

Bei einem gesunden Individuum ist ein Gleichgewicht zwischen den angreifenden Bakterien und der Immunantwort des Wirtes vorhanden. Verschiebt sich dieses Gleichgewicht, ausgelöst durch toxische Stoffwechselprodukte und Enzyme der parodontopathogenen Keime, kann eine überschießende Immunantwort des Wirtes zu destruktiven Prozessen im parodontalen Zahnhalteapparat führen. Die Entzündung breitet sich nach apikal aus. Osteoklasten werden angeregt und bauen den Alveolarknochen ab (7, 8). Der Verlauf der Erkrankung wird durch individuelle Habits, wie zum Beispiel Stress (9) und Rauchen(10), oder systemische Erkrankungen, wie beispielsweise Diabetes (11), beeinflusst.

Ein weiterer Faktor, welcher die Entstehung einer Parodontitis beeinflusst, gelangt zudem in den letzten Jahren immer mehr in den Fokus der Forschung: eine genetische Prädisposition.

Es konnte eine familiäre Häufung von chronischen und aggressiven Formen der Parodontitis beobachtet werden (12, 13). Daraus wurde geschlossen, dass die Parodontitis ebenfalls eine genetische Komponente haben muss (13). Neben epidemiologischen Studien gibt es neuere Studien, die unter anderem genetische Polymorphismen mit dem Risiko einer Parodontitis in Verbindung bringen (14-16). Dennoch gibt es in dieser Thematik immer noch viel Forschungsbedarf, um die Entstehung einer Parodontitis besser verstehen zu können.

Allgemein ist die Parodontitis keine lebensbedrohliche Erkrankung. Jedoch werden in den letzten Jahren immer mehr die systemischen Auswirkungen einer Parodontitis auf den Körper diskutiert. Es stellt sich die Frage, ob die Erkrankung an Parodontitis gleichzeitig ein erhöhtes Herzinfarkt- und Schlaganfallrisiko bedeutet (17, 18). Eine Parodontitstherapie soll zudem positive Effekte auf die Einstellung eines Diabetespatienten haben (19). Nicht zu unterschätzen sind auch die Einschränkungen der Lebensqualität eines Patienten, die eine parodontale Erkrankung mit sich bringen kann. Neben dem Zahnverlust, der die Nahrungsaufnahme erschweren kann, sind zudem mögliche soziale Auswirkungen einer Parodontitis für den Patienten zu bedenken. Sowohl die Ästhetik kann durch Zahnwanderung, Zahnverlust und Zahnfleischrückgang negativ beeinflusst werden, wie auch Mundgeruch durch parodontale Taschen hervorgerufen werden kann.

1.1.3 Klassifikation

Die Parodontitis wird, je nach Krankheitsbild, weiter klassifiziert. Dabei spielen vor allem die chronischen und aggressiven Parodontitiden eine große Rolle. Zur Diagnose einer Parodontitis wird die Taschentiefe an insgesamt sechs Stellen pro Zahn (mesiobuccal, buccal, distobuccal, distooral, oral und mesiooral) gemessen. Dadurch können die Parodontitiden in lokalisierte (unter 30 Taschen) oder generalisierte (über 30 Zahnflächen betroffen) eingeteilt werden.

Der Schweregrad wird anhand des klinischen Attachmentverlust (CAL) wie folgt charakterisiert:

Leichte = 1-2 mm CAL

Moderate = 3-4 mm CAL

Schwere \geq 5 mm CAL

I	Chronic Periodontitis*	IV	Necrotizing Periodontal Diseases
A	lokalized (< 30 sites involved)	A	Necrotizing ulcerative gingivitis (NUG)
B	generalized (> 30 sites involved)	B	Necrotizing ulcerative periodontitis
II	Aggressive Periodontitis*	V	Abscesses of the Periodontium
A	lokalized (< 30 sites involved)	A	Gingival abscess
B	generalized (> 30 sites involved)	B	Periodontal abscess
III	Periodontitis as a Manifestation of Systemic Diseases	C	Pericoronal abscess
A	associated with hematological disorders	VI	Periodontitis Associated With Endodontic Lesions
	1 Acquired neutropenia	A	Combined periodontic-endodontic lesions
	2 Leukemias	VII	Developmental or Acquired Deformities and Conditions
	3 Other	A	Localized tooth-related factors that modify or predispose to plaque-induced gingival diseases/periodontitis
B	associated with genetic disorders	B	Mucogingival deformities and conditions around teeth
	1 Familial and cyclic neutropenia	C	Mucogingival deformities and conditions on edentulous ridges
	2 Down syndrome	D	Occlusal trauma
	3 Leukocyte adhesion deficiency syndromes		
	4 Papillon-Lefèvre syndrome		
	5 Chediak-Higashi syndrome		
	6 Histiocytosis syndromes		
	7 Glycogen storage disease		
	8 Infantile genetic agranulocytosis		
	9 Cohen syndrome		
	10 Ehlers-Danlos syndrome (IV und VIII)		
	11 Hypophosphatasia		
	12 Others		
C	Not otherwise specified (NOS)		

Abbildung 3: Klassifikationen der Parodontitis (20)

1.1.4 Therapie

Eine etablierte Parodontitis kann laut heutigem Wissenstands nicht geheilt werden. Aufgrund von irreversiblen Gewebszerstörungen ist eine *restitutio ad integrum* nicht möglich. Die Therapie der Erkrankung liegt daher in der Prävention von weiteren Gewebszerstörungen durch die Eindämmung der Infektion.

Die konventionelle primäre Therapie einer Parodontitis ist die Entfernung der harten und weichen Beläge durch supra- und subgingivale mechanische Reinigung. Ziel der Behandlung ist eine Reduktion von parodontopathogenen Keimen und dadurch eine Veränderung der subgingivalen Mikroflora. Zu den unterstützenden Maßnahmen der mechanischen Reinigung zählt die Irrigation mit antiseptischen Lösungen, wie zum Beispiel 2%ige Chlorhexidin-Spülung. Zudem kann die lokal begrenzte Applikation von Antibiotika oder die systemische Antibiotikagabe, unter strenger Indikation, die parodontale Therapie unterstützen (21). Je nach Schwere der Fälle, können resektive oder regenerative Maßnahmen durchgeführt werden, um die orale Hygienefähigkeit und die zukünftige zahnärztliche Reinigung der Taschen zu erleichtern.

Trotz der vielen Therapieansätze ist in einem Zeitraum von drei bis sechs Monaten nach Therapie jedoch mit einer erneuten Vermehrung der parodontopathogenen Keime zu rechnen (22). Die parodontale Mikroflora wird wieder pathogen. Daher ist ein essenzieller Bestandteil einer jeden Parodontitis-Therapie ein effizientes Recall-System zu etablieren. Je nach Schweregrad der Erkrankung sollte der Patient alle

drei bis sechs Monate zur supra- und subgingivalen Reinigung kommen. Dabei sollten auch die Taschentiefen an sechs Punkten pro Zahn (mesiobuccal, buccal, distobuccal, distooral, oral und mesiooral) gemessen werden, um den Verlauf der Erkrankung über einen längeren Zeitraum beobachten zu können.

1.1.5 Prävention

In der Zahnmedizin gewinnt die Prävention immer mehr an Wichtigkeit. Die konventionellen Prophylaxemaßnahmen umfassen regelmäßigen Kontrollen, professionelle Zahnreinigungen, Maßnahmen zur Verbesserung der oralen Mundhygiene und Aufklärungen zu zahngesunder Ernährung, sowie Fluoridierungsmaßnahmen. Dadurch konnte die durchschnittliche Karieserfahrung einzelner Individuen bundesweit maßgeblich reduziert werden. Dieser Trend konnte in der fünften deutschen Mundgesundheitsstudie weiter bestätigt werden. Noch 2006 waren 70 Prozent, 2014 schon über 80 Prozent der Jugendlichen kariesfrei. Verglichen mit 1997 ist eine Verdopplung der Kariesfreiheit bei Jugendlichen zu beobachten. Ähnliche Tendenzen sind bei Erwachsenen und Senioren festzustellen (2, 23).

Die momentanen Präventionsstrategien scheinen auch immer mehr die Prävalenz einer Parodontitis in der Bevölkerung zu senken (2), dennoch gibt es vor allem in diesem Bereich noch ein hohes Verbesserungspotential. Die konventionellen Prophylaxekonzepte, wie Zahnreinigungen und Mundhygieneinstruktionen, können zwar die Quantität der sich bildenden Plaque beeinflussen, jedoch ist eine Infektion mit parodontopathogenen Keimen nicht zu verhindern. Auf lange Sicht sollte das Ziel eine Elimination der besiedelnden parodontopathogenen Keime sein. Die momentanen Präventionsstrategien unterbrechen nicht die Infektionskette von einer Gingivitis zu einer Parodontitis (24, 25). Zudem ist die Entstehung einer Parodontitis, neben der Induktion durch Plaque, von weiteren individuellen, zum Beispiel genetischen Faktoren abhängig. Daher wäre ein Prophylaxesystem, welches an das einzelne Individuum angepasst ist, wünschenswert. Die Früherkennung von Patienten mit erhöhtem Risiko an einer Parodontitis zu erkranken, ist essenziell für eine individuelle Betreuung.

Trotz dieser Erkenntnisse ist die individuelle Prophylaxe bei Erwachsenen in Zahnarztpraxen immer noch nicht etabliert. Wo die Prophylaxe bei unter 18-jährigen schon ein gut etabliertes System darstellt, nicht zuletzt da diese schon seit Jahren

mit den gesetzlichen Krankenkassen gut abrechenbar ist, ist die Prophylaxe bei Erwachsenen noch stark ausbaufähig. Zwar geben die meisten Zahnärzte an, häufig bis immer die Patienten über Erkrankungsursachen aufzuklären und zur Prophylaxe zu motivieren, jedoch werden diese Hinweise von den Patienten wenig angenommen. Daher wird von Seiten der Zahnärzte auch wenig (77 Prozent nie und 18 Prozent wenig) eine individuelle Ernährungsberatung angeboten (26).

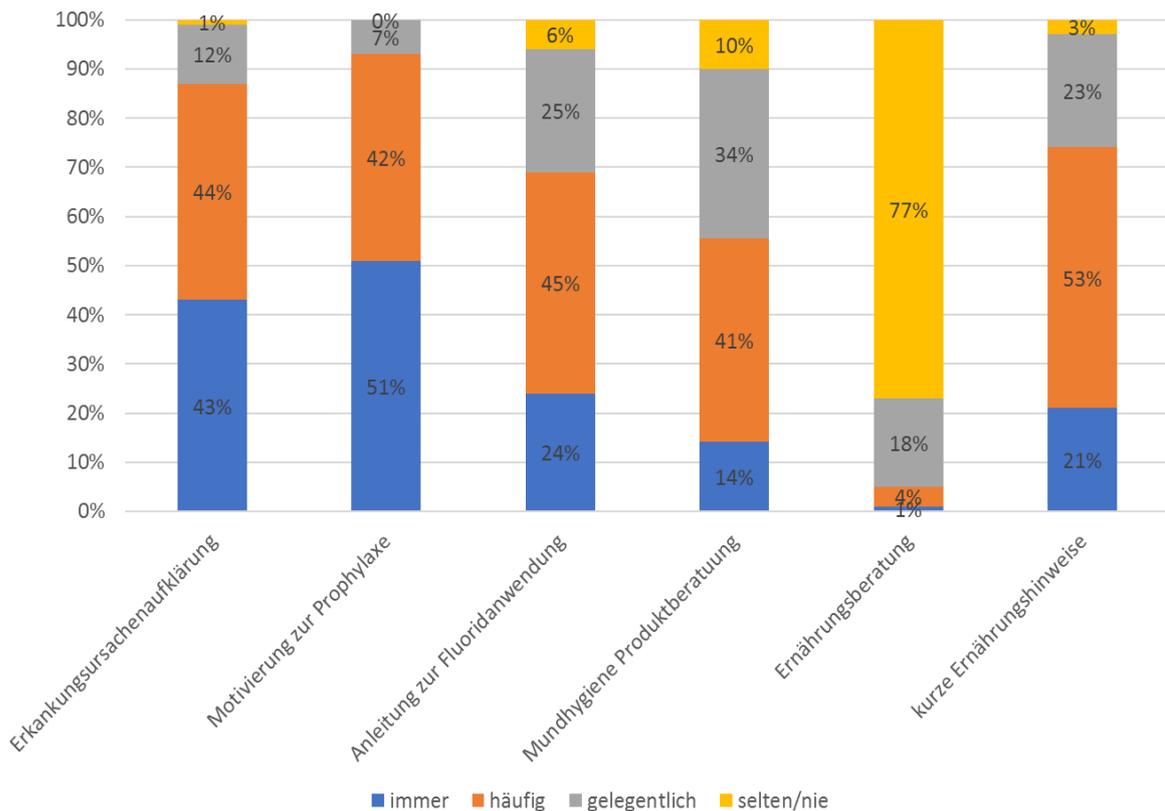


Abbildung 3: Häufigkeit von prophylaktischen Beratungen in deutschen Zahnarztpraxen anhand von Angaben der behandelnden Zahnärzte. (modifiziert nach Schneller et. al 2001)

Aufgrund von schlechter Aufklärung der Bevölkerung über die Parodontitis-Erkrankung (3), lassen sich vor allem oral gesunde Patienten schwer zu einem umgehenden Prophylaxeprogramm motivieren (26). Somit ist auch künftig mit keiner Verbesserung der Prophylaxe bei Erwachsenen zu rechnen. Hier fehlen Möglichkeiten den Patienten, schon vor Beginn einer Parodontitiserkrankung, auf sein individuelles Risiko aufmerksam machen zu können. Gerade in der Ernährungsberatung kann der Zahnarzt zu heutigem Zeitpunkt schwer den Patienten zu einer Ernährungsumstel-

lung motivieren. Dies könnte sich mit gezielten Tests, die dem Patienten seine individuellen Problembereiche aufzeigen, grundlegend ändern. Ein Ansatz, der möglichen Erfolg verspricht, ist die Nutrigenetik.

1.2 Nutrigenetik

Durch die technischen Möglichkeiten der Molekulargenetik ist in der Ernährungsforschung ein neuer Zweig entstanden: die Nutrigenetik.

Die Nutrigenetik untersucht den Zusammenhang zwischen dem Genom und der Ernährung. Die Abläufe im Körper werden auf „allen molekularen Ebenen von der Kontrolle der Genexpression bis zum Stoffwechsel des gesamten Organismus“ (27) untersucht. Das Forschungsziel liegt in der Erklärung von ernährungsbedingten Krankheiten aufgrund von unterschiedlichen Genvarianten (27).

Auch im Zusammenhang mit der Parodontitis könnten nutrigenetische Faktoren eine Rolle spielen. Das therapeutische Potenzial von natürlich biologisch aktiven Substanzen aus der Pflanzenwelt wird schon stark erforscht (28). Da diese Substanzen jedoch in der natürlichen Nahrung enthalten sind, könnten diese auf unbewusstem Weg, durch die individuelle Nahrungsauswahl, das Entstehen oder den Verlauf einer Parodontitis beeinflussen. Dasselbe gilt für andere Substanzen, welche die Entstehung einer parodontalen Erkrankung begünstigen könnten. Da die Nahrungsaufnahme stark durch das individuelle Geschmackempfinden gesteuert wird, ist ein Teilgebiet der Nutrigenetik, genetische Unterschiede in Geschmacksrezeptoren zu erforschen.

Jedoch kann nicht nur die Aufnahme von Parodontitis begünstigenden oder präventiven Substanzen untersucht werden. Auch genetisch bedingte Unterschiede in der Verstoffwechslung von Substanzen sind ein Teilgebiet der Nutrigenetik und könnten im Zusammenhang mit Parodontitis eine Rolle spielen. Somit könnten neue Erkenntnisse darüber gewonnen werden, welche genetischen Faktoren eine Rolle in der Pathogenese der Parodontitis spielen.

In dieser Studie wurden nutrigenetische Polymorphismen, welche hypothetisch Einfluss auf die Parodontitis haben könnten, untersucht.

1.2.1 Nutrigenetische Polymorphismen

Polymorphismen sind die molekulare Grundlage für die genetische Variation in einer Population. Dabei muss definitionsgemäß „die Allelfrequenz für das variante Allel bei >1% in der Bevölkerung sein“. Sonst spricht man von einer Mutation (29).

Bei Single Nucleotide Polymorphismen (SNPs) sind einzelne Nukleotide ausgetauscht. Dies gleicht einer Punktmutation, die sich über Generationen hinweg durchgesetzt hat. Dabei führen die wenigsten Austausche zu einer funktionellen Veränderung. Wenn der Polymorphismus in einem kodierenden Bereich einer Gensequenz liegt kann es zu einem Aminosäuren-Austausch kommen (29). Solch ein Aminosäuren-Austausch kann grundlegend die Konfiguration und damit auch Funktion eines Proteins verändern. Ist die Funktionsänderung zu groß, kann dies zu einem Verlust oder Gewinn der Funktion des Proteins führen.

In der Nutrigenetik werden Genvarianten und ihre Auswirkungen auf die molekularen Prozesse im Körper untersucht (27). Mit diesem Hintergrund, wurden in dieser Studie Parodontitispatienten auf sechs verschiedene nutrigenetische SNPs getestet. Die getesteten Polymorphismen könnten aus unterschiedlichen Gründen mit der Parodontiserkrankung in Zusammenhang gebracht werden. In den folgenden Abschnitten werden die einzelnen Gene und ihre Relevanz im parodontalen Geschehen vorgestellt.

1.2.2 TAS2R43

Das TAS2R43-Gen codiert für einen Bitterrezeptor. Der rs71443637 und rs35720106 Polymorphismus auf dem TAS2R43 Gen konnte 2014 von Pirastu et al. in direkten Zusammenhang mit der Vorliebe für Koffein gebracht werden. Dies trifft vor allem auf die Variante rs71443637 zu (30). Der rs71443637 Polymorphismus hat die zwei Allele den Wildtyp T und die Variation C mit Funktionsverlust. Der Basenaustausch von T zu C führt zu einem Aminosäureaustausch von Histidin zu Arginin (31). Das T-Allel zeigte eine stärkere Wahrnehmung von bitterem Geschmack. Da die Wahrnehmung „bitter“ in der menschlichen Evolution ein Warnsignal ist, wird dieser Geschmack eher gemieden. Die sensitivere Wahrnehmung durch Träger des T-Allels führt also zu einer größeren Meidung von bitteren Nahrungsmitteln. Die Gruppe mit dem C-Allel zeigte umgekehrt eine stärkere Vorliebe für Kaffee (30). Koffein (*1,3,7-trimethylanthine*) ist in vielen Konsummitteln enthalten, unter anderem in den nach Wasser am meisten konsumierten Getränken der Welt: Kaffee

und Tee (32). Einige Studien zeigen, dass der Konsum von Kaffee und grünem Tee (*Camellia sinensis*) vor vielen Volkskrankheiten schützen kann. So wird ihnen ein positiver Effekt bei Herz-Kreislauf-Krankheiten (33, 34), Bluthochdruck (34) sowie Diabetes Typ 2 (35, 36) nachgesagt. Dies legt vor allem an der antioxidativen und antiinflammatorischen Wirkung. Der Einfluss von Koffein auf die parodontale Erkrankung bleibt dennoch unklar (32, 37, 38). Eine 2014 veröffentlichte Studie aus Japan zeigte, dass der Konsum von mehr als einer Tasse Kaffee in der Erhaltungsphase parodontaler Erkrankungen, das Risiko für eine parodontale Verschlechterung bei schweren Parodontitiden minimieren könnte (38). Aufgrund von erhöhten PGE₂-Werten bei Patienten mit Parodontitis wurden ebenfalls Untersuchungen über die Interaktion von Koffein und PGE₂ im Parodont durchgeführt. Dem Koffein konnte in dieser Studie signifikant die Unterdrückung der Zellproliferation nachgewiesen werden (32).

Gerade grünem Tee werden immer mehr positive Effekte auf die parodontale Erkrankung zugeschrieben. So konnte ein kleiner Zusammenhang zwischen der Menge an getrunkenem grünem Tee und der parodontalen Gesundheit gefunden werden (39). Die Anwendung von grünem Tee-haltiger Zahncreme in Tierversuchen, wies auf ein entzündungshemmendes Potential dieses Tees hin (40).

Ebenfalls sollen Polyphenole, in grünem Tee enthaltene Substanzen, die Adhäsion von *P.g.* an bukkalen Epithelzellen verhindern. Der genaue Mechanismus ist noch nicht bekannt, jedoch könnten die Phenole an Fimbrien binden, welche für die Zelladhäsion von *P.g.* an Epithelzellen verantwortlich sind, und somit diese Adhäsion verhindern (41).

Jedoch gibt es auch Indizien dafür, dass Koffein den Verlauf der parodontalen Erkrankung negativ beeinflussen könnte. Immer mehr Studien zeigen auf, dass Koffein den Knochenstoffwechsel beeinflusst (32, 42, 43). Daher wird ein negativer Einfluss des Koffeins auf den Alveolarknochen diskutiert. So soll der Konsum von Kaffee nach einer Extraktion die Heilung der Alveole verzögern (43). Zudem soll Koffein Einfluss auf die Expression des Vitamin-D-Rezeptors und die Osteoklastenaktivität haben. Somit konnte Koffein in direkten Zusammenhang mit molekularen Mechanismen, die zur Bildung von Osteoporose führen können, gebracht werden (32). Die Osteoporose kann als ein Risikofaktor für die Parodontitis angesehen werden.

Des Weiteren konnte bei Ratten gezeigt werden, dass die Gabe von Koffein während der Schwangerschaft und im Wachstum zu einer Verzögerung der Knochenregeneration nach Zahnextraktionen führte (43). Letztendlich zeigte eine 2013 an Ratten durchgeführte Studie, dass regelmäßiger Kaffeekonsum möglicherweise signifikant das Risiko an Parodontitis zu erkranken erhöht. In dieser Studie wurde erstmals die Möglichkeit aufgezeigt, dass habitueller Kaffeekonsum das Fortschreiten einer parodontalen Erkrankung beschleunigt (37).

Aufgrund dieser kontroversen Thesen über den Einfluss von Koffein auf die parodontale Gesundheit, wurde in der hier vorliegenden Studie das TAS2R43 Gen untersucht. Dabei wurde getestet, ob Parodontitispatienten in der Verteilung des rs71443637 Polymorphismus einen signifikanten Unterschied zur Normalverteilung aufweisen und dieser einen positiven oder negativen Risikofaktor darstellen könnte.

1.2.3 TAS2R19

Das TAS2R19 Gen auf Chromosom 12 codiert für einen Bitterrezeptor, welche u.a. mit der Geschmackswahrnehmung von Grapefruit in Zusammenhang gebracht wird. Der SNP rs10772420 führt zu einem Allelaustausch von A zu G an der Position 299 des Gens. Homozygote A-Allel-Träger empfinden, im Gegensatz zu homozygoten oder heterozygoten G-Allel-Trägern, den Saft der Grapefruit als doppelt so bitter (44, 45).

Reaktive Sauerstoffspezies (ROS), zu denen unter anderem das Hydroxyl-Radikal und das Hyperoxid-Anion gehören, entstehen im Körper in Mitochondrien als Nebenprodukt der Zellatmung. Sie werden auch von Entzündungszellen zur Schädigung von Bakterien und Viren hergestellt. Eine Überproduktion von ROS im Körper führt jedoch zu oxidativem Stress, welcher zu Schädigungen der DNA, sowie Lipiden und Proteinen führt (46). Im parodontalen Gewebe kann, wie auch im restlichen Körper, oxidativer Stress zu Gewebeschädigungen führen (47). So konnten ebenfalls Zusammenhänge zwischen oxidativem Stress und chronischem inflammatorischen Geschehen im Parodont festgestellt werden (48-51). Daraus lässt sich schlussfolgern, dass oxidativer Stress einen Einfluss auf die Pathogenese der Parodontitis hat. Substanzen, die den oxidativen Stress im Gewebe reduzieren, könnten somit in die parodontale Destruktion bei an Parodontitis erkrankten Patienten grundlegend eingreifen.

Der gesundheitliche Nutzen der Zitrusfrucht Grapefruit wurde in den letzten Jahren viel diskutiert. Die Grapefruit enthält eine Vielzahl an Flavonoiden, welche antioxidative und antiinflammatorische Eigenschaften besitzen. Einige Flavonoide sind jedoch auch für Arzneimittelinteraktionen, aufgrund von Reaktionen mit Cytochrom P450 Enzymen, verantwortlich (52, 53). Aufgrund dieser enzymbeeinflussenden Eigenschaften und ihren antioxidativen, sowie antiinflammatorischen Eigenschaften könnte sich die Grapefruit als wirksamer Stoff zur Bekämpfung von oxidativem Stress im parodontalen Gewebe eignen.

Personen, die weniger sensibel für den bitteren Geschmack von Grapefruit sind, nehmen die Grapefruit, sowie ihre Citrusverwandten eventuell in erhöhtem Maße zu sich. Dadurch könnten sie sich auf natürliche Weise gegen die parodontale Entzündungen schützen. Aufgrund der positiven Eigenschaften der Grapefruit wird in dieser Studie das TAS2R19 Gen untersucht. Es wurde getestet, ob Parodontitispatienten eine unterschiedliche Allel-Verteilung verglichen zur Normalverteilung aufweisen.

1.2.4 TAS2R38

TAS2R38 ist ein Gen, welches für einen Bitterrezeptor der Zunge codiert. Heute ist bekannt, dass die Substanzen Phenylthiocarbamide (PTC) und Propylthiouracil (PROP) in der Lage sind, diesen Bitterrezeptor zu aktivieren (45).

Drei SNPs auf dem TAS2R38 Gen führen dazu, dass einzelne Individuen diese Substanzen unterschiedlich stark wahrnehmen können. Aus den drei Polymorphismen rs713598, rs1726866 und rs10246939 ergeben sich Kombinationsmöglichkeiten zu insgesamt sechs Haplotypen (siehe Tabelle 1). Die Allele PAV und AVI sind laut heutigen Erkenntnissen die am meisten vertretenen Allele in Mitteleuropa. (54, 55) Daher wird in dieser Studie hauptsächlich auf ihren Einfluss auf die Parodontitis eingegangen.

SNPs	rs713598	rs1726866	rs10246939	Häufigkeit in der europäischen Bevölkerung
Positionen im Genom	145	758	886	
Nucleotide (Auftrittshäufigkeit)	G (58%) / C (42%)	T (54%) / C (46%)	A (54%) / G (46%)	
Haplotypen				
AAI	G	C	A	<1%
AAV	G	C	G	3%
AVI	G	T	A	47%
PAV	C	C	G	49%
PVI	C	C	A	<1%

Tabelle 1: Es werden insgesamt fünf Haplotypen durch insgesamt drei SNPs auf dem TAS2R38-Gen definiert. (modifiziert nach Behrens et al, 2013)

Aufgrund des diploiden Genoms muss zudem zwischen homozygoten und heterozygoten Individuen unterschieden werden. Homozygote mit dem PAV-Allel sind sensibel für den bitteren Geschmack von PROP und PTC. Sie werden als „Taster“ bezeichnet. Im Gegensatz dazu, sind homozygote AVI-Träger weniger sensibel für den bitteren Geschmack von PROP und PTC und werden daher als „Non-taster“ bezeichnet. Das PAV-Allel ist dominant zum AVI-Allel. Somit können heterogene PAV/AVI Individuen ebenfalls PROP und PTC wahrnehmen. Es wird jedoch vermutet, dass ihre Wahrnehmung herabgesetzt ist, weshalb sie als „Intermediate-taster“ bezeichnet werden. (56)

	Phänotyp	Allel-Kombination
AVI/AVI	„Non-taster“	Homozygot
PAV/AVI	„Intermediate-taster“	Heterozygot
PAV/PAV	„Taster“	Homozygot

Tabelle 2: Auflistung der drei häufigsten Diploidtypen Kombination der drei SNPs (rs713598, rs1726866 und rs10246939) auf dem TAS2R38-Gen mit ihrem Phänotyp und ihrer Allel-Kombination. (In Anlehnung an Keller et. al 2013 und Sharma et. al 2014)

Wie die Wahrnehmung bei Individuen mit anderen Genotypen ist, ist in der Literatur noch nicht beschrieben worden. Dies liegt wohl unter anderem an den geringen Fallzahlen dieser Gruppen.

PROP und PTC sind keine in der Natur vorkommenden Substanzen und werden nur zu Laborzwecken genutzt, um den TAS2R38-Rezeptor zu aktivieren. Jedoch aktivieren viele bittere, in der Natur vorkommende Substanzen über ähnliche Mechanismen den TAS2R38-Rezeptor.

Eine Studie in Indien zeigte, dass „Taster“ und „Non-Taster“ unterschiedliche Vorlieben in ihrer Ernährungsweise aufweisen. PTC „Taster“ sollen weniger rohes Gemüse und bitteres Essen bevorzugt haben als PTC „Non-Taster“. Die „Taster“ sollen süße Nahrung bevorzugen. Dieselbe Studie warf die Frage auf, ob PTC „Non-Taster“ über einen besseren Calciummetabolismus verfügen (57). Auch konnte in den letzten Jahren immer mehr ein Zusammenhang zwischen dem Zigarettenkonsum und dem TAS2R38 Polymorphismus festgestellt werden. (56, 58, 59)

Sowohl die Aufnahme von süßer Nahrung, wie auch Rauchen, der Calciummetabolismus und die Aufnahme von rohem Gemüse haben individuelle Einflüsse auf die Entstehung einer Parodontitis. Daher wurde in der hier vorliegenden Studie Parodontitispatienten auf den TAS2R38 Polymorphismus getestet und untersucht, ob eine signifikante Abweichung bei diesen Parodontitispatienten im Vergleich mit der Normalverteilung auftritt.

1.2.5 Apolipoprotein E (ApoE)

Apolipoproteine sind Proteinanteile von Lipoproteinen des Blutes. Die Lipoproteine sind für den Transport von wasserunlöslichen Lipiden, wie Triacylglyceride, Phospholipide und Cholesterol, im Blut zuständig. Das ApoE ist ein Ligand des LDL-Rezeptors, weshalb es sowohl den Lipid-, wie auch Cholesterolstoffwechsel beeinflusst. Es bindet hauptsächlich LDL, aber auch HDL und VLDL aus dem Plasma und ist damit für die Versorgung von Zellen mit Cholesterol verantwortlich (60). Erhöhte LDL-Werte im Blutplasma, wie auch erniedrigte HDL-Blutplasmawerte werden als Risikofaktoren für kardiovaskuläre Erkrankungen angesehen (61, 62).

Durch zwei Polymorphismen (rs429358 und rs7412) auf dem ApoE-Gen unterscheidet man zwischen den drei häufigsten ApoE-Isoformen: ApoE2, ApoE3 und ApoE4

SNPs	rs429358	rs7412	Häufigkeit
Positionen im Genom	401	501	
Nucleotide	C/T	C/T	
Haplotypen			
ApoE2	T	T	8%
ApoE3	T	C	75%
ApoE4	C	C	15%

Tabelle 3: Definition der drei ApoE-Allele und ihre Häufigkeit in der europäischen Bevölkerung. (In Anlehnung an Daniel UK, 2013)

Genotypen der ApoE-Isoformen	Genotyp an Position 401	Genotyp an Position 501	Häufigkeit
2/2	T/T	T/T	0,6%
2/3	T/T	C/T	12%
2/4	C/T	C/T	2,4%
3/3	T/T	C/C	56,25%
3/4	T/C	C/C	22,5%
4/4	C/C	C/C	2,25%

Tabelle 4: Genotypen der drei wichtigsten ApoE-Isoformen sowie die Genotypen an den Positionen 401 und 501 im Genom. (In Anlehnung an Daniel UK, 2013)

Die Auswirkungen des ApoE Polymorphismus sind recht gut erforscht. Die einzelnen Subtypen des ApoE unterscheiden sich in ihrer Bindungsaffinität für LDL, VLDL und HDL. ApoE2 und ApoE3 binden bevorzugt HDL. Im Gegensatz dazu bindet ApoE4 bevorzugt VLDL und LDL (63).

Durch die strukturellen und funktionellen Unterschiede der einzelnen ApoE-Subtypen, konnten in den letzten Jahren genetische Risikogruppen ermittelt werden. Individuen, mit der ApoE4-Isoform haben ein erhöhtes Risiko an Alzheimer (64), Arteriosklerose, anderen kardiovaskulären Erkrankungen und Diabetes zu erkranken (65-67). Der negative Einfluss einer etablierten Parodontitis auf kardiovaskuläre Erkrankungen und Arteriosklerose ist gut erforscht (68, 69). Jedoch gibt es wenige

Studien darüber, ob umgekehrt auch Faktoren, die das Entstehen von kardiovaskulären Erkrankungen und Arteriosklerose begünstigen, die Pathogenese der parodontalen Erkrankung beeinflussen.

Zudem gibt es Hinweise, dass ApoE auch direkten Einfluss auf das Immunsystem nimmt (70) und entzündliche Prozesse wie Sepsis und Inflammationen beeinflusst (71). 2001 haben Baitsch et al. festgestellt, dass ApoE möglicherweise in der Lage ist, den Phänotyp von Makrophagen von einem proinflammatorischen zu einem antiinflammatorischen Phänotyp zu ändern. ApoE soll durch bestimmte ApoE-Rezeptoren (VLDL-R und ApoER2) an Makrophagen diesen Makrophagen das Signal zum Phänotyp-Wechsel geben. Durch eine reduzierte Produktion von freien Radikalen und proinflammatorischen Cytokinen scheint ApoE das inflammatorische Geschehen im Körper zu senken (72). Ebenfalls konnte nachgewiesen werden, dass ApoE die angeborene Immunität gegen bestimmte Viren und Bakterien unterstützen kann (73).

2015 konnten Gao et al einen Zusammenhang zwischen der aggressiven Parodontitis und Serum-Lipid-Konzentrationen in der chinesischen Population feststellen. Ein direkter Zusammenhang zwischen dem ApoE Polymorphismus und Parodontitis wurde jedoch bisher nicht untersucht (74).

Aufgrund des Einflusses von ApoE bei entzündlichen Prozessen und dem komplexen Eingreifen bei vielen schwerwiegenden Erkrankungen, wurde beschlossen im Rahmen der hier vorliegenden Studie die ApoE Polymorphismen rs429358 und rs7412 in Bezug auf die Parodontitis zu untersuchen.

1.2.6 SLC30A8

Parodontitis und Diabetes mellitus sind zwei häufig vorkommende chronische und genetisch beeinflusste Erkrankungen. Eine gegenseitige Beeinflussung wird viel diskutiert. So weisen eine Vielzahl von epidemiologischen Studien auf ein erhöhtes Parodontitisrisiko bei Patienten mit Diabetes Typ 1 und 2 hin (75-78). Diabetes ist eine der häufigsten Erkrankungen in Deutschland. Laut der „Studie zur Gesundheit Erwachsener in Deutschland“ (DEGS1, 2008–2011) wurden 7,2% der erwachsenen Deutschen zwischen 18 und 79 Jahren mit Diabetes diagnostiziert (79). Aufgrund

dieser großen Anzahl an Diabetes Erkrankten in Deutschland und der Assoziationen von Diabetes mit der Parodontitis, ist ein weiterer nutrigenetischer Polymorphismus, der auf dem SLC30A-Gen liegt, interessant.

Mehrere Studien weisen darauf hin, dass der rs13266634 Polymorphismus auf dem SLC30A-Gen stark mit der Diabetes mellitus assoziiert ist (80, 81). Somit könnte auch eine Assoziation mit einer Parodontitis vorliegen.

Das SLC30A8-Gen codiert für einen Zink-Transporter (ZnT-8) in insulinsekretorischen Vesikeln der β -Zellen des Pankreas. Der Znt-8 ist für die Anreicherung von Zink aus dem Cytoplasma in die insulinsekretorischen Vesikel verantwortlich (82). Die insulinsekretorischen Vesikel benötigen Zink-Ionen für die Lagerung von Insulin in Hexameren (83). Jedoch ist die genaue Funktion von Zink in β -Zellen des Pankreas und damit ebenfalls der Einfluss von Znt8 in der Pathogenese von Diabetes nicht bekannt (84). Der SNP (von C zu T) auf dem SLC30A8-Gen führt zu einem Aminosäuren-Austausch von Arginin zu Tryptophan an der Position 325 des Proteins. Dieser Aminosäuren-Austausch führt zu einer veränderten Proteinstruktur, wodurch der Transporter in seiner Funktion eingeschränkt ist (85). Aufgrund von fehlendem Zink, wird die Insulinlagerung in den Vesikeln auf noch unbekannt Weise gestört.

Auch in Bezug auf das SLC30A8-Gen gibt es Autoren, die einen Zusammenhang zwischen dem SNP, dem Diabetes und der Parodontitis aufzeigen (86, 87). So fand eine Studie 2014 heraus, dass erhöhte extrazelluläre Zink-Konzentrationen sich positiv auf die Glukose-induzierte Insulinsekretion auswirken können. Somit kann das Risiko einer Typ-2-Diabetes durch erhöhte Zinkaufnahme reduziert werden. Die Autoren wiesen zudem darauf hin, dass dadurch ebenfalls das Risiko einer Parodontitis gesenkt werden könnte (86). Obwohl viele Autoren auf den Forschungsbedarf hinweisen, gibt es keine Studie, die einen direkten Zusammenhang zwischen dem SNP auf dem SLC30A8-Gen und der Parodontitis untersucht. Daher wurde im Rahmen dieser Studie untersucht, ob Parodontitispatienten verglichen zu der Normalverteilung vermehrt das C-Allel des SLC30A8-Gens aufweisen, welches mit einem erhöhten Diabetes-Risiko assoziiert wird.

1.2.7 Laktosetoleranz (LP) und Laktoseintoleranz (LNP)

Milch und Milchprodukte sind die Hauptquelle für die Kalziumaufnahme. Die Kalzium-Aufnahme ist bei diesen Produkten hoch, da das Kalzium hier frei vorliegt und nicht an das Fett gebunden ist. Die Aufnahme von Kalzium aus pflanzlichen Lebensmitteln ist möglich, jedoch ist dort das Kalzium an Ballaststoffe gebunden und wird daher schlechter vom Körper aufgenommen. (88)

Kalzium ist ein Mineral, welches maßgeblich am Knochenstoffwechsel des Skeletts beteiligt ist. Das Skelett übernimmt neben der Stützfunktion auch die Funktion eines Kalziumspeichers und eines Säure-Base-Puffers. (88) Die empfohlene Kalzium-Tageszufuhr ist altersabhängig. Die deutsche Gesellschaft für Ernährung EV empfiehlt Erwachsenen eine Zufuhr von 1000 mg/Tag.(89) Laut einer Ernährungsstudie im Jahr 2012 nehmen vor allem nicht in Deutschland geborene und arbeitslose Männer und Frauen viel zu wenig Kalzium auf. Die Tageszufuhr liegt zwischen 678 mg/Tag und 758 mg/Tag. (90)

Ein Kalziummangel im Körper kann zu einer Mobilisierung des Skelettkalziums führen, um die Kalzium-Konzentration im Blutkreislauf aufrecht zu erhalten. Ein Säureüberschuss im Blutkreislauf kann diese Mobilisierung noch begünstigen. Dies kann zu einer Destabilisierung des Knochens auf lange Sicht führen.(88) Ein Kalziumüberschuss hingegen ist nicht schädlich. Ist der nötige Kalziumschwellenwert überschritten hat dieser keinen Einfluss mehr auf den Knochenmineralgehalt. Das überschüssige Kalzium wird über die Niere oder das Darmsystem ausgeschieden.(89)

Bei Patienten mit Laktosetoleranz (LP) ist das Enzym Laktase (LCT) auch über das kindliche Alter hinaus aktiv. Hier führt der SNP rs49882359 dazu, dass die Produktion des Enzyms Laktase im Bürstensaum der Dünndarmzotten nicht abgeschaltet wird. Diese Patienten können dadurch Lactose, welche in Milchprodukten enthalten ist spalten.(91) Dabei handelt es sich ausschließlich um eine europäische Variante der Lactosetoleranz. In anderen Teilen der Welt haben ähnliche Mutationen stattgefunden, jedoch sind diese nicht so weit verbreitet.

Bei Patienten mit Laktoseintoleranz (LNP) wird noch im Kindesalter die Laktaseproduktion durch das MCM6 Gen supprimiert. Dadurch wird die Laktase unzureichend oder gar nicht produziert.

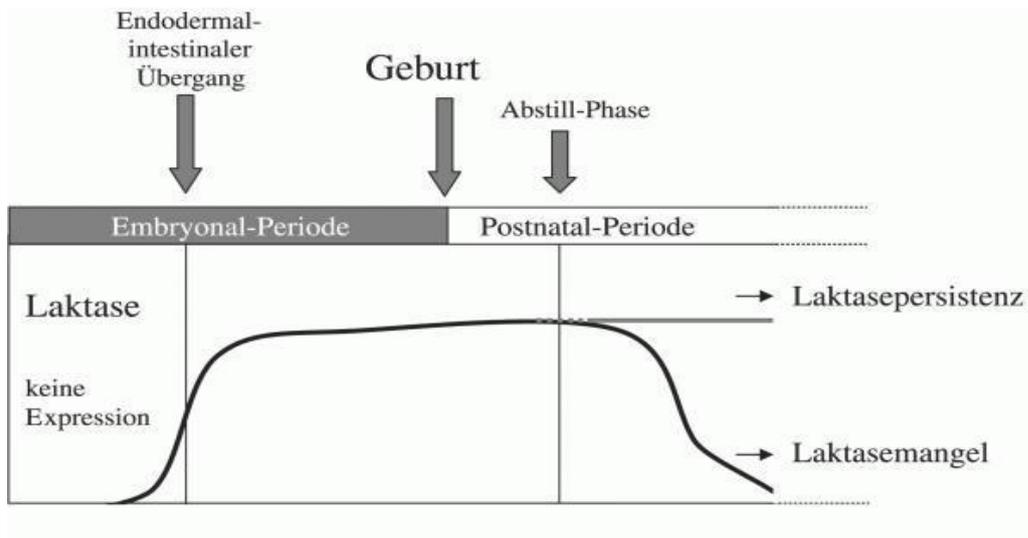


Abbildung 4: Entwicklung der Laktaseexpression im Darm während der ontogenetischen Entwicklung. Aus dem Journal für Mineralstoffwechsel und Muskuloskelettale Erkrankungen. (Obermayer-Pietsch B, 2004)

Der LCT Polymorphismus wird mit einer subjektiven Milchintoleranz, sowie einer reduzierten Milch-Kalzium-Aufnahme assoziiert. Ebenfalls konnte eine Prädisposition für Frakturen nachgewiesen werden. (92) Eine Studie im Jahr 2002 von Di Stefano et al. mit 103 teilnehmenden Jugendlichen zeigte, dass eine ausgeprägte Laktoseintoleranz zu einer verminderten Kalziumaufnahme führt. Daher wiesen diese Jugendlichen eine geringere Knochenspitzenmasse (peak bone mass, PBM) auf als Jugendliche mit Laktosetoleranz. In dieser Untersuchung schlussfolgerten die Autoren, dass Laktoseintoleranz ein Risikofaktor für eine geringere Knochenspitzenmasse darstellt.(93)

Da die Knochendichte und der Knochenabbau ein Hauptproblem in der Parodontitis darstellen, wurde im Rahmen dieser Studie untersucht, ob Parodontitispatienten eine höhere Prävalenz des LCT-Gens aufweisen als die Normalverteilung in Mitteleuropa

1.3 Zielsetzung und Arbeitshypothese

Diese Studie wird den Zusammenhang zwischen nutrigenetischen SNPs und der Parodontitis untersuchen. Dabei werden SNPs auf den Genen TAS2R43, TAS2R19, TAS2R38, ApoE, SLC30A8 und LP bei Parodontitispatienten untersucht. Die Ergebnisse werden mit der für Europa normalen Verteilung der SNPs verglichen.

Das Ziel der Studie ist herauszufinden, ob ein signifikanter Unterschied zwischen der Verteilung der SNPs bei Parodontitispatienten und der Normalverteilung in Europa besteht.

Folgende Arbeitshypothese wird dieser Arbeit zugrunde gelegt:

Die untersuchten Parodontitispatienten weisen verglichen zu der Normalverteilung in Europa bei einigen oder allen untersuchten SNPs eine signifikant veränderte Verteilung auf.

2 Material und Methode

2.1 Studiendesign

Diese experimentelle Studie verwendete Patientenproben und -daten die im Rahmen einer 2001-2005 am UKM in Münster gelaufenen Studie gewonnen wurden. Die Ethikkommission der Ärztekammer Westfalen-Lippe erteilte unter der Studiennummer 1VB am 12.06.2001 hierfür ihr positives Votum.

2.2 Probanden

152 nicht miteinander verwandte Patienten der Abteilung für Parodontitis des UKM, mit chronischer oder aggressiver Parodontitis wurden im Rahmen dieser Longitudinalstudie rekrutiert.

Die Einschlusskriterien:

- Alterslimit (6-80 Jahre)
- Positive Diagnose einer chronischen oder aggressiven Parodontitis.
- Kein Verwandtschaftsgrad der Patienten untereinander

Die Ausschlusskriterien:

- Ein erhöhtes infektiöses Endokarditis-Risiko
- Bestehende oder in der Vergangenheit vorhandene infektiöse Krankheiten
- Bestehende Krankheiten, welche eine regelmäßige intravenöse Antibiotikaprophylaxe erfordern
- Eine Antibiotikatherapie in den vergangenen sechs Monaten vor Studienbeginn
- Eine regelmäßig erforderliche Dialyse

- Medikamentöse Therapie, welche die immunologischen Parameter beeinflusst
- Ein Status, welcher zu einer Beeinflussung des immunologischen Systems führt
- Genetische und erworbene Blutkrankheiten
- Momentane Schwangerschaft oder Stillungszeit
- Mentale und physische Unterentwicklung.

Die Diagnose der Parodontitis basierte auf der zahnmedizinischen Vergangenheit, klinischen Parametern und radiologischen Bildern über den alveolaren Knochenverlust. Zu den klinischen Parametern zählten Bluten auf Sondierung (BOP), Taschentiefe (PPD), welche jeweils an sechs Seiten des Zahns (mesiobuccal, buccal, distobuccal, mesiolingual, lingual, distolingual), mit Hilfe einer kalibrierten Messung, ermittelt wurden. Zudem wurde der modifizierte Plaque Index (PI) für glatte Oberflächen und der proximale Plaque Index (API) für proximale Oberflächen aufgenommen. Die Diagnose Parodontitis wurde mittels der in Kapitel 1.1.3 definierten Klassifikation gestellt (20).

Peripheres venöses Blut (10ml) wurde jedem Patienten während seines ersten Besuchs durch eine standardisierte venöse Blutabnahme entnommen. (DNA-Isolation s. 2.5.1)

2.3 Studienablauf

In dieser Studie wurde die schon vorhandene DNA der Patienten auf sechs verschiedene Polymorphismen getestet. Zunächst wurden mittels PCR die bestimmten DNA-Sequenzen, in denen die Polymorphismen vorkommen, vervielfältigt. Daraufhin wurden die einzelnen Varianten der Polymorphismen auf dem TAS2R43, TAS2R19, SLC30A8 und LP-Gen mittels Restriktion bestimmt. Die Varianten der Polymorphismen auf den Genen TAS2R38 und ApoE wurden mit Hilfe von Sequenzierung ermittelt. Die einzelnen molekularbiologischen Analysen werden im 2.4. Abschnitt erklärt. Zur Auswertung wurden die gewonnen Daten an die Statistikfirma .05 Statistikberatung, (Life Science Center, Düsseldorf) geschickt.

2.4 Erhebung der klinischen Daten

Die klinischen Daten wurden im Rahmen der in Münster gelaufenen Studie erhoben. Dabei wurden die Taschentiefen (TST) an sechs Stellen pro Zahn gemessen, der Blutungsindex (BOP) erhoben und mikrobiologische Untersuchungen vorgenommen. Man testete die Patienten auf die acht parodontal relevantesten Bakterien (*Aa*, *Pg*, *Ec*, *Pi*, *Pn*, *Bf*, *TD* und *Sm/Si*).

2.5 Molekularbiologische Methoden

2.5.1 DNA Isolation aus EDTA-Vollblut

Zunächst wurden 10 ml EDTA-Blut in ein 50 ml Flacon-Tube gefüllt und mit 4°C kaltem Lysis-Puffer (155 mM NH₄Cl, 10 mM KHCO₃, 0,1 mM EDTA) auf 50ml aufgefüllt. Daraufhin wurde das Flacon-Tube für 15 Minuten auf Eis inkubiert und dabei leicht geschwenkt. Dies führt zur Lyse der Erythrozyten.

Dann wurden die Lymphozyten für 15 Minuten bei 4°C mit 1000rpm abzentrifugiert und der Überstand verworfen.

Das Pellet wurde mit einer 1000er Pipettenspitze in 1 ml Lysis-Puffer resuspendiert und daraufhin mit Lysis-Puffer auf 30 ml aufgefüllt. Die Probe wurde mehrmals geschwenkt, dann für fünf Minuten auf Eis inkubiert und abermals für 15 Minuten bei 4°C mit 1000rpm abzentrifugiert. Der Überstand wurde abgesaugt und verworfen.

Zum entstandenen Lymphozytenpellet wurden folgende Substanzen in angegebener Reihenfolge hinzu pipettiert:

250 µl	SDS 20%
25 µl	Proteinase K 10 mg/ml (auf Eis auftauen)
5 ml	SE-Puffer (75 mM NaCl, 25 mM EDTA)

Die entstandene Mischung wurde gevortext und über Nacht bei 55°C im Wasserbad inkubiert. Am nächsten Tag wurden 1,5 ml 5 M NaCl hinzugegeben und gevortext. Daraufhin wurde die Probe für 30 Minuten im Kühlschrank inkubiert.

Die entstandenen Zelltrümmer wurden für 20 Minuten bei 4°C mit 4500rpm ohne Bremse abzentrifugiert.

Der entstandene Überstand mit der gelösten DNA wurde in ein neues 50 ml Flacon-Tube abgeschüttet und mit dem zweifachen Volumen 4°C abs. EtOH aufgefüllt und leicht geschwenkt. Dadurch fällt die DNA aus.

Je nachdem wie das Ergebnis war, konnte nach zwei Methoden weiter verfahren werden:

Wenn die DNA als weißer Faden ausgefallen ist, wurde dieser mit einer Pipettenspitze in ein Eppendorf-Cup mit Schraubverschluss übergeführt. Als nächstes wurde die DNA mit 1ml 4°C kaltem 70%igem EtOH gewaschen und für 10 Minuten mit 14000rpm abzentrifugiert. Das EtOH wurde in einem letzten Schritt abgezogen.

Wenn die DNA nicht sichtbar wurde, musste die Probe nochmals für 5 Minuten mit 3500rpm abzentrifugiert werden. Der Überstand wurde verworfen und das Pellet mit 1ml 70%igem EtOH in ein Eppendorf-Cup mit Schraubverschluss überführt. Die DNA wurde ebenfalls für 10 Minuten mit 14000rpm abzentrifugiert und das EtOH verworfen. Das entstandene DNA-Pellet wurde bei RT im offenen Gefäß getrocknet. Als letztes wurde das DNA-Pellet in 500µl 1xTE-Puffer oder doppelt destilliertem Wasser gelöst. Die DNA-Probe wurde bei 4°C gelagert.

2.5.2 PCR

Standard PCR-Ansatz hat ein Gesamtvolumen von 25µl.

10x PCR Buffer	2,5 µl	(QIAGEN, Hilden, Deutschland)
Primer F (10 pmol/µl)	1,0 µl	(eurofins MWG Synthesis GmbH)
Primer R (10 pmol/µl)	1,0 µl	(eurofins MWG Synthesis GmbH)
H ₂ O	17,3 µl	
dNTP (200 µM)	1,0 µl	(CARL ROTH)
<i>Taq</i> (5 U/µl)	0,2 µl	(QIAGEN, Hilden, Deutschland)
DNA (100ng/µl)	2,0 µl	

Bei ApoE wurden 4 µl DNA und 13,3µl H₂O verwendet.

Bei LP und TAS2R38 wurde zusätzlich 51mM (QIAGEN, Hilden, Deutschland) hinzugegeben.

Die Primer wurden lyophilisiert geliefert und mit TE-Puffer zu einer Stocklösung mit 100 pmol gelöst. Aus dieser wurden nach Bedarf Arbeitslösungen mit 10 pmol hergestellt.

Standard PCR-Protokoll:

Denaturierung	95°C	3min	
Denaturierung	95°C	20sec	} 35 Zyklen
Anneling	55°C	20sec	
Elongation	72°C	45sec	
Ende	12°C		

Bei jeder PCR-Reaktion wurde eine Negativkontrolle mit destilliertem Wasser als Target und bei dem LP-Gen zusätzlich eine Positivkontrolle mit bekannter DNA mitgeführt. Bei der PCR wurde ein 1,5% Agarose-Gel verwendet.

SNP	Primer F	Primer R	Produktgröße	Annealingtemperatur
TAS2R43	GTCTTCTCTC- CTTTCACCCAG	GTACCCTTCA- CTCTGACCCTAC	362 bp	55 °C
TAS2R19	TAAAATG TTC- CAGACACCATC	ATGGATGAGA- GAGTGTGGAC	551 bp	55 °C
TAS2R38	GTTGACTCTA- ACTCGCATCCG	CGGCTCTTAC- CTTCAGGCTG	967 bp	55 °C
ApoE	CGCTGATGGA- CGAGACCATG	GCCCCGGCCT- GGTACAC	312 bp	55 °C
SCL30A8	AATGTAGCTG- ATTATCAGAG	ACGGTGTGAC- TGAGCTAGTCA	322 bp	55 °C
LP	CGGAGACGAT- CACGTCATAG	TACCCACTGA- CCTATCCTCG	245 bp	55 °C

Tabelle 5: Übersicht der verwendeten Primer

2.5.3 Gel-Elektrophorese

Bei der Gel-Elektrophorese werden in einem elektrischen Feld DNA-Fragmente nach ihrer Größe aufgetrennt. Es wurden Agarosegele mit TBE-Puffer und Ladepuffer mit 30% Glycerin und Bromphenolblau verwendet. Der Farbstoff war Midori Green Advanced DNA Stain 12 µl. Bei der PCR-Kontrolle wurde für 45 Minuten eine Spannung von 160V angelegt (PowerPac Basic Power Supply, Bio-Rad Laboratories GmbH, München, Deutschland). Die Gelbildaufnahme erfolgte durch UV-

Licht mit Hilfe zweier UV-Geldokumentationen (Gel Doc XR System, Bio-Rad Laboratories GmbH, München, Deutschland / E-Box CX5, VILBER LOURMAT Deutschland GmbH, Eberhardzell, Deutschland).

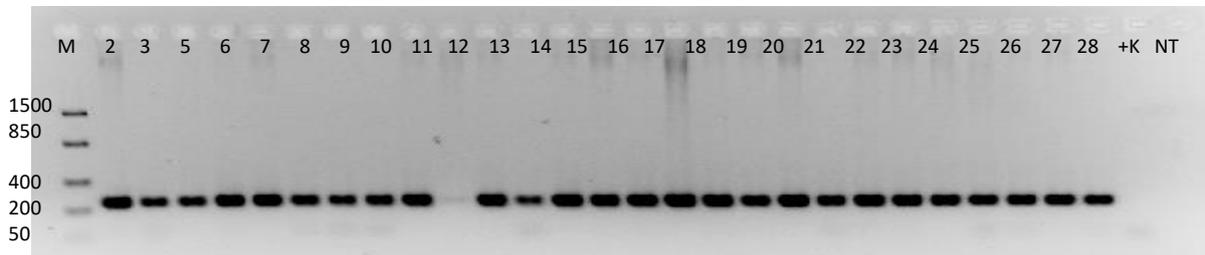


Abbildung 5: Kontroll-Gel einer LP PCR. M = Marker (Referenzleiter 10µl FastRuler Low Range DNA-Ladder 50-1500bp/Thermo Fisher Scientific, Waltham, U.S.A.), K = Positivkontrolle, NT = Negativkontrolle

2.5.4 Restriktionsfragment-Längen-Polymorphismus RFLP

Bei einer Restriktion werden Restriktionsenzyme genutzt um DNA-Abschnitte an einer bestimmten Stelle zu schneiden. Restriktionsenzyme setzen an ihrer spezifischen Erkennungssequenz von 4-8 Basenpaare an und schneiden nur diese Sequenz. Dadurch treten bei Polymorphismen innerhalb einer Erkennungssequenz unterschiedliche DNA Fragmente auf (RFLP). Diese Methode wurde genutzt, um die Probanden auf SNPs der Gene TAS2R43, TAS2R19, SLC30A8 und LP auf Polymorphismen zu untersuchen.

Nach folgendem Schema wurde für die Restriktion ein Ansatz mit 25 µl Gesamtvolumen erstellt:

Spez. Restriktionspuffer	2,50 µl
H ₂ O	19,25 µl
Enzym	0,25 µl
PCR-Produkt	3,00 µl

Gen	Enzym	Hersteller
TAS2R43	Nla III	NEW ENGLAND BioLabs, USA
TAS2R19	Nsp I Xcel (Nsp I)	NEW ENGLAND BioLabs, USA Thermo Scientific
SLC30A8	Pvu II	Thermo Scientific
LP	BsmF I	NEW ENGLAND BioLabs, USA

Tabelle 6: Untersuchte RFLP

Die Master Mixe wurden nach folgendem Protokoll in einem Thermo-Cycler (Mastercycler, Eppendorf, Hamburg, Deutschland) inkubiert:

Gen	Inkubations- Temperatur / Zeit	Inaktivierungs- Temperatur / Zeit	Abkühlungs- Temperatur / Zeit
TAS2R43	37°C / 90min	65°C / 20min	12°C / 3min
TAS2R19	37°C / 90 min	65°C / 20min	12°C / 3min
SLC30A8	37°C / 150min	-	12°C / 3min
LP	65°C / 60min	80°C / 20min	12°C / 3min

Tabelle 7: Angaben zur Inkubation der Restriktionen im Thermo-Cycler.

Anschließend wurden die Proben auf ein Agarose-Gel gegeben. Tabelle 10 gibt die benutzten Gel-Konzentrationen, Spannungen, sowie die abgelaufene Zeit der einzelnen Restriktionen an.

Restriktion des Gens	Agarose-Gel-Konzentration	Spannung	Zeit
TAS2R43	3,0%	120V	140min
TAS2R19	2,0%	140V	90min
SLC	2,0%	140V	90min
LP	1,5%	160V	50min

Tabelle 8: Benutzte Agarose-Gel-Konzentrationen (in %), Spannungen (in V) und Zeit (in min) für die bei der Restriktion benutzten Gene

Die Gelbildaufnahme erfolgte ebenfalls mit Hilfe der UV-Geldokumentationen. Im Folgenden werden beispielhaft Bilder der unterschiedlichen Restriktionen mit den dazugehörigen Tabellen dargestellt. Die Tabellen geben Aufschluss über die Basenpaarlängen nach Restriktion.

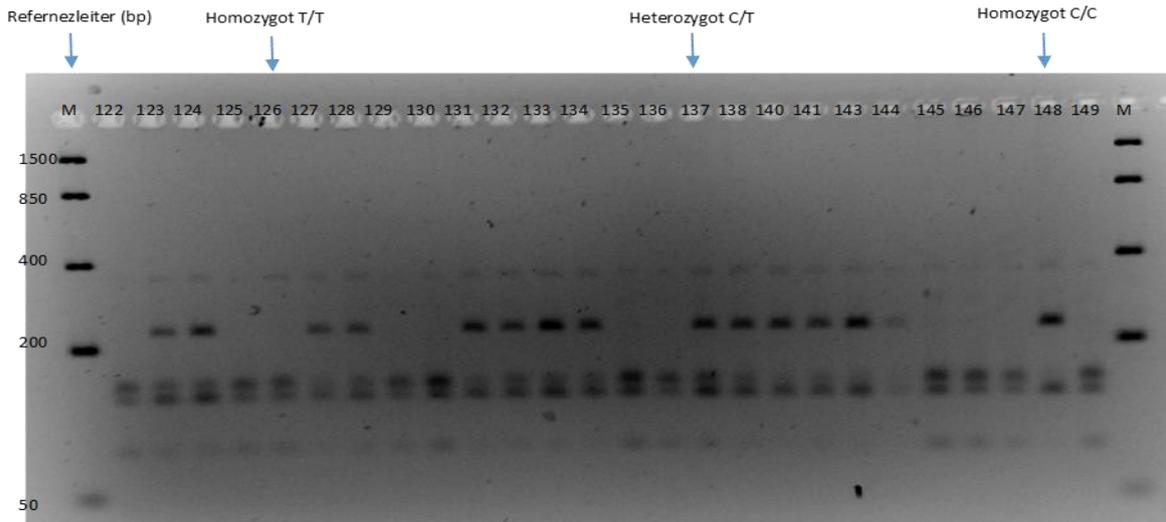


Abbildung 6: Beispielhafte Auswertung einer TAS2R43 Restriktion

Fragmente	Basenpaarlänge C-Allel	Basenpaarlänge T-Allel
NlaIII linkes Ende	135 bp	135 bp
NlaIII rechtes Ende	227 bp	78 bp
NlaIII mittleres Stück	0 bp	149 bp

Tabelle 9: Basenpaarlängen der C- und T-Allele des TAS243-Gens nach Restriktion durch das Enzym NlaIII

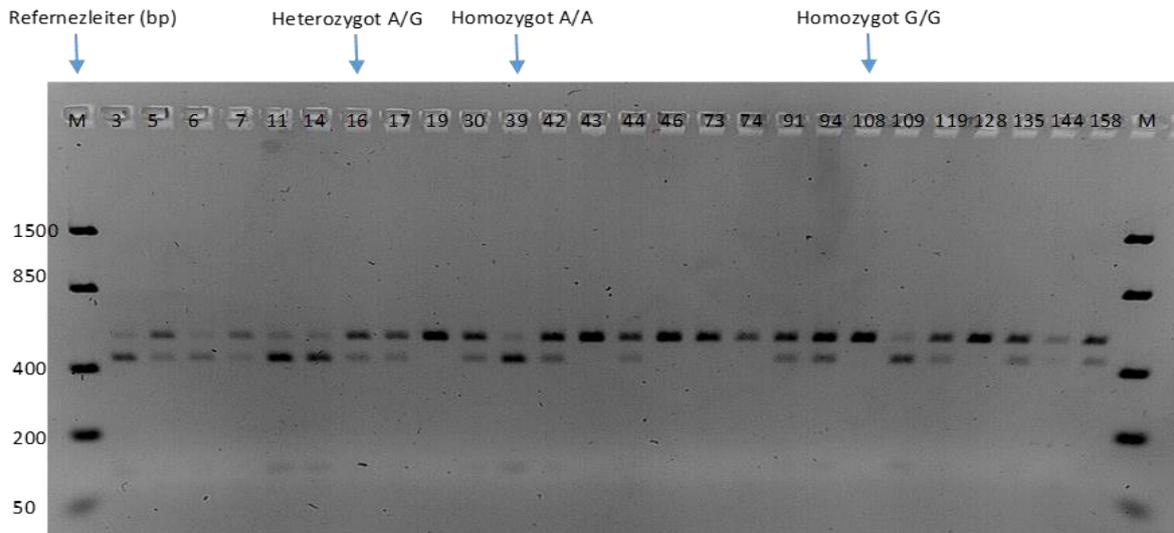


Abbildung 7: Beispielhafte Auswertung einer TAS2R19 Restriktion

Sequenzen	Basenpaarlängen
Ungeschnitten (G-Allel)	551 bp
Nsp I linkes Ende (A-Allel)	448 bp
Nsp I rechtes Ende (A-Allel)	103 bp

Tabelle 10: Basenpaarlänge der G- und A-Allele des TAS2R19-Gens nach Restriktion durch das Enzym NspI

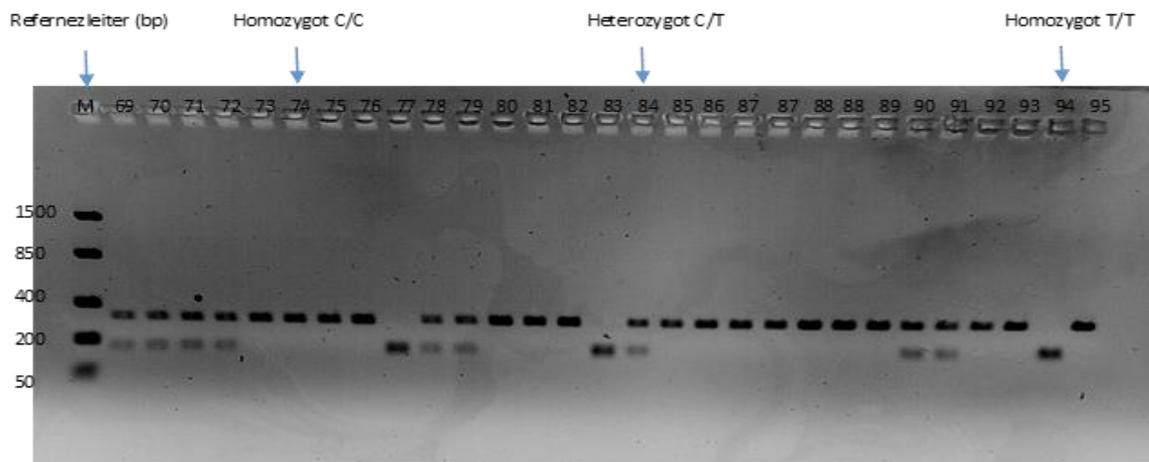


Abbildung 8: Beispielhafte Auswertung einer SLC30A8 Restriktion

Ende	Basenpaarlängen
Ungeschnitten (C-Allel)	322 bp
Pvu II Linkes Ende (T-Allel)	169 bp
Pvu II Rechtes Ende (T-Allel)	153 bp

Tabelle 11: Basenpaarlängen der C- und T-Allele des SLC30A8-Gens nach Restriktion durch das Enzym PvuII

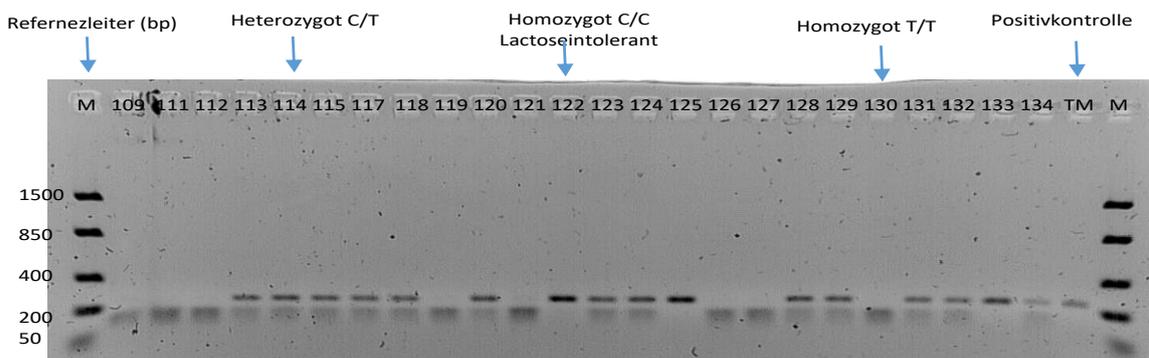


Abbildung 9: Beispielhafte Auswertung einer LP-Restriktion

Ende	Basenpaarlängen
BsmF I Ungeschnitten (C-Allel)	245 bp
BsmF I linkes Ende (T-Allel)	125 bp
BsmF I rechtes Ende (T-Allel)	120 bp

Tabelle 12: Basenpaarlängen der C- und T-Allele des LP-Gens nach Restriktion durch das Enzym BsmFI

2.5.5 Sequenzierung

Bei der Sequenzierung wird die Nukleotid-Abfolge eines bestimmten Gen-Abschnittes bestimmt. Diese Methode wurde genutzt, um die SNPs auf den Genen TAS2R38 und ApoE der Patienten zu bestimmen, da hier keine Restriktionen möglich waren. Die PCR-Produkte wurden nach enzymatischer Reinigung (Exonuclease und Alkalische Phosphatase, Thermo Scientific) direkt sequenziert. Dazu wurden die gereinigten Produkte mit dem PCR-Primer (CGGCTCTTACCTTCAGGCTG) für Tas2R38 oder einem internen Primer F (GGCACGGCTGTCCAAGGAG) für ApoE an GATC-Biotech AG, Deutschland geschickt. Die Sequenzen wurden mit dem Programm Chromas Lite ausgewertet.

2.6 Datenverarbeitung und statistische Analyse

Die Patientendaten wurden im Rahmen der in Münster durchgeführten Studie erhoben und einem bestimmten Patientencode zugewiesen. Diese Patientendaten wurden der hier vorliegenden Studie pseudonymisiert in tabellarischer Form zur Verfügung gestellt, womit die Datenschutzrichtlinien eingehalten wurden. Das hierfür verwendete Programm war Office Excel 2014 (Microsoft Corporation, Redmond, W.A., U.S.A.). Die statistische Auswertung wurde mit Hilfe der Statistikfirma punkt05 Statistikberatung und mit dem Programm IBM SPSS Statistics 21 (IBM, Armonk, N.Y., U.S.A.) durchgeführt.

Dabei wurden zunächst die schon zuvor erhobenen Taschentiefen, die Blutungsindices und das Bakterienaufkommen mit den neu erhobenen Polymorphismen in Beziehung gesetzt. Die Genotypen-Gruppen wurden immer innerhalb des jeweiligen Polymorphismus TAS2R43, TAS2R19, TAS2R38, ApoE, SLC30A8 und LP untereinander verglichen. Bei der molekulargenetischen Untersuchung wurde die Größe

der Allel- und Genotyp-Verteilung eines jeden Polymorphismus in der Patientengruppe mit der Normalverteilung in Europa verglichen.

Im Falle der klinischen Parameter Taschentiefe (mm) und der Blutung auf Sondierung (%) konnte eine Normalverteilung nicht angenommen werden, da es sich um klinisch erhobene Daten handelt. Gerade hohe Taschentiefen und stärkere Blutung sind ein Zeichen für einen schwereren Krankheitsverlauf. Trotz der hohen Stichprobengrößen von $n=152$ entschied man sich daher in beiden Fällen die Analyse mit Hilfe von nicht-parametrischen Testverfahren durchzuführen.

In der deskriptiven Analyse wurde sowohl der Mittelwert, das Minimum und Maximum, als auch die Streuwerte als Standardabweichung angegeben. Um alle Gruppen eines Polymorphismus zu vergleichen wurde der Kruskal-Wallis-Test angewandt. Der Mann-Whitney-U-Test wurde daraufhin angewandt um die einzelnen Gruppen untereinander zu vergleichen. Dieser ist erst interessant, wenn das Ergebnis des Kruskal-Wallis-Tests signifikant ist. Die Werte müssen durch die Anwendung der Bonferroni-Korrektur (p -Wert/ Anzahl der Tests) korrigiert werden. Mit Hilfe dieser Rangvarianzanalysen kann man aussagen, ob und in welcher Gruppe signifikant mehr höhere oder niedrigere Werte vorhanden sind.

Der Vergleich der genetischen Auswertung mit der Normalverteilung in der europäischen Bevölkerung und die mikrobiologischen Ergebnisse wurden in einer Kreuztabelle dargestellt und dann mittels des Chi-Quadrat-Tests untersucht.

Ein Chi-Quadrat-Test gibt an ob die Nullhypothese, welche von keinem signifikanten Unterschied zwischen Gruppen ausgeht, zutreffend ist, oder verworfen werden kann. Dabei zeigt ein signifikantes Ergebnis mit einer asymptotischen Signifikanz von $p \leq 0,05$ an, dass ein Unterschied vorhanden ist und die Nullhypothese verworfen werden kann. Dementsprechend gibt es bei einem nicht signifikanten Testergebnis (asymptotische Signifikanz $p > 0,05$) keinen systematischen Unterschied zwischen den Gruppen.

In allen genannten Tests ist der p -Wert entscheidend. Liegt dieser unter dem Signifikanzniveau von 0,05 (asymptotische Signifikanz $p \leq 0,05$) handelt es sich um einen signifikanten Effekt oder Unterschied. Liegt dieser Wert über dem Signifikanzniveau von 0,05 (asymptotische Signifikanz $p > 0,05$) handelt es sich um einen nicht signifikanten Effekt oder Unterschied.

Aufgrund zu geringer Fallzahlen mussten für die interferenzstatistische Analyse einige Genotyp-Gruppen vom TAS2R38- und ApoE Polymorphismen zusammengefasst werden.

3 Ergebnisse

3.1 Demographische und klinische Parameter der Patienten

Von den 152 in die Studie aufgenommenen Patientenproben konnten alle für diese experimentelle Studie verwendet werden. Die Proben waren alle nicht kontaminiert und in ausreichender Menge vorhanden. Alle 152 Patienten litten unter chronischer oder aggressiver Parodontitis.

	Patientendaten
Anzahl	152
Durchschnittliches Alter	47,66
Männer	54 (35,5%)
Raucher	53 (34,9%)

Tabelle 13: Übersicht der in die Studie aufgenommenen Patienten

Bei der statistischen Auswertung der klinischen Parameter Taschentiefe und Blutungsindex, wurden die Genotyp-Gruppen des gleichen Polymorphismus verglichen. Bei allen sechs untersuchten Polymorphismen TAS2R43, TAS2R19, TAS2R38, ApoE, SLC30A8 und LP konnte die Nullhypothese bestätigt werden. Diesen Ergebnissen ist zu entnehmen, dass keine signifikanten Unterschiede in der Taschentiefe und dem Blutungsindex zwischen den einzelnen Genotyp-Gruppen eines Polymorphismus festzustellen sind. Die einzelnen Ergebnistabellen sind dem Anhang auf den Seiten LIII bis LVIII zu entnehmen.

3.2 Mikrobiologische Ergebnisse

Die Genotypen-Gruppen wurden innerhalb des jeweiligen Polymorphismus TAS2R43, TAS2R19, TAS2R38, ApoE, SLC30A8 und LP untereinander in ihrem Bakterienaufkommen verglichen.

Bei allen sechs untersuchten Polymorphismen wurde die Nullhypothese bestätigt. Somit konnten keine signifikanten Unterschiede im Bakterienaufkommen zwischen den unterschiedlichen Genotyp-Gruppen festgestellt werden. Die einzelnen Werte sind den Tabellen auf den Seiten LIX bis LXII im Anhang zu entnehmen.

3.3 Molekulargenetische Ergebnisse/ Auswertung

3.3.1 Auswertung/ Prävalenz TAS2R43

75% der europäischen Bevölkerung sind Träger des funktionslosen C-Allels, 25% sind Träger des Wildtyps T-Allel. Verglichen mit der Allel-Verteilung der Testgruppe konnte mit Hilfe des Chi-Quadrat-Tests ein stark signifikanter Unterschied ($X^2(1)=269,754$, $p=0,0001$) festgestellt werden, da der p-Wert kleiner als das Signifikanzniveau von 0,05 ist.

Allel	Absolute Häufigkeit Patientengruppe	Prozentuale Verteilung Patientengruppe	Normalverteilung (NCBI)
T	200	65,8%	25%
C	104	34,2%	75%
Summe	304	100%	100%

Tabelle 14: Allel-Verteilung des TAS2R43 Polymorphismus. Testgruppe im Vergleich zur Normalverteilung in der europäischen Bevölkerung

Beim Vergleich der Genotypen TT, TC und CC konnte ebenfalls mit Hilfe des Chi-Quadrat-Tests ein signifikanter Unterschied ($X^2(2)=421,754$, $p=0,0001$) zwischen der Testgruppe und der Normalverteilung festgestellt werden.

Genotyp	Absolute Häufigkeit Patientengruppe	Prozentuale Verteilung Patientengruppe	Normalverteilung (NCBI)
TT	69	45,4%	6,25%
TC	62	40,8%	37,5%
CC	21	13,8%	56,25%
Summe	152	100%	100%

Tabelle 15: Genotyp-Verteilung des TAS2R43 Polymorphismus. Ergebnisse im Vergleich zur Normalverteilung in der europäischen Bevölkerung

3.3.2 Prävalenz TAS2R19

Beim TAS2R19 Polymorphismus wurde die Allel-Verteilung der Allele A und G der Patienten mit der Normalverteilung verglichen. Das Ergebnis zeigte keinen signifikanten Unterschied ($\chi^2(1)=0,159$, $p=0,6897$) in der Allel-Verteilung, da der p-Wert über dem Signifikanzniveau von 0,05 liegt.

Allel	Absolute Häufigkeit Patientengruppe	Prozentuale Verteilung Patientengruppe	Normalverteilung (NCBI)
A	157	51,6%	50,5%
G	147	48,4%	49,5%
Summe	304	100%	100%

Tabelle 16: Allel-Verteilung TAS2R19 Polymorphismus. Ergebnisse im Vergleich zur Normalverteilung der europäischen Bevölkerung

Auch bei der Genotyp-Verteilung der Genotypen AA, AG und GG konnte kein signifikanter Unterschied ($\chi^2(2)=0,827$, $p=0,6615$) zwischen der Testgruppe und der Normalverteilung festgestellt werden.

Genotyp	Absolute Häufigkeit Patientengruppe	Prozentuale Verteilung Patientengruppe	Normalverteilung (NCBI)
AA	38	25%	25,5%
AG	81	53,3%	50%
GG	33	21,7%	24,5%
Gesamt	152	100%	100%

Tabelle 17: Genotyp-Verteilung des TAS2R19 Polymorphismuses. Ergebnisse im Vergleich zur Normalverteilung der europäischen Bevölkerung

3.3.3 PrävalenzTAS2R38

Beim Vergleich der Allel-Verteilung der Patientengruppe mit der Normalverteilung ließ sich weder bei Berücksichtigung der selten vorkommenden Allele PVI und AVV ($\chi^2(3)=7,926$, $p=0,0475$), noch beim Weglassen von PVI und AVV ($\chi^2(2)=2,541$, $p=0,230$) ein signifikanter Unterschied mit Hilfe des Chi-Quadrat-Tests feststellen. Diese Allele wurden aufgrund ihres geringen Aufkommens weggelassen, da die Fallzahlen der Testgruppe zu gering waren für ein statistisch belastbares Ergebnis.

Allel	Absolute Häufigkeit Patientengruppe	Prozentuale Verteilung Patientengruppe	Normalverteilung (NCBI)	Normalverteilung (absolut)
AVI (1)	164	53,95%	47%	143,374
PAV (2)	126	41,45%	49%	149,475
AAV (3)	12	3,93%	3%	9,151
Gesamt	302	99,34%	99%	302

Tabelle 18: Allel-Verteilung TAS2R38 Polymorphismus. Ergebnisse im Vergleich zur Normalverteilung der europäischen Bevölkerung

Auch beim Vergleich der Genotyp-Verteilung der Testgruppe mit der Normalverteilung konnte weder bei Berücksichtigung der zusammengefassten seltenen Gruppen PVI/PVI, PVI/AVI, PVI/PAV, PVI/AAV, AAV/AAV, AAV/AVI und AAV/PAV ($X^2(3)=6,401$, $p=0,0937$), noch bei Nichtberücksichtigung dieser Gruppen ($X^2(2)=6,405$, $p=0,0407$) ein signifikanter Unterschied mit Hilfe des Chi-Quadrat-Tests festgestellt werden.

Genotyp	Absolute Häufigkeit Patientengruppe	Prozentuale Verteilung Patientengruppe	Normalverteilung (NCBI)	Normalverteilung (absolut) Faktor 1,518
AVI/AVI (11)	45	29,6%	22,1%	33,5575
AVI/PAV (12)	68	44,7%	46,1%	70
PAV/PAV (22)	27	17,8%	24%	36,4425
Summe kleine Gruppen ausgelassen	140	92,1%	92,2%	140
Kleine Gruppen total	12	7,9%	7,8%	/
Summe	152	100%	100%	/

Tabelle 19: Genotyp-Verteilung TAS2R38 Polymorphismus. Ergebnisse im Vergleich zur Normalverteilung der europäischen Bevölkerung

3.3.4 Prävalenz ApoE

Vergleicht man die Allel-Verteilung der Allele ApoE2, ApoE3 und ApoE4 der Patientengruppe mit der Normalverteilung in Europa, so kann bei der Verteilung kein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen festgestellt. Dies gilt sowohl für Angaben aus der Literatur ($X^2(2)=0,008$, $p=0,9960$) als auch für Angaben vom NCBI ($X^2(2)=2,671$, $p=0,2630$).

Allel	Absolute Häufigkeit Patientengruppe	Prozentuale Verteilung Patientengruppe	Normalverteilung (Literatur)	Normalverteilung (NCBI)
ApoE2	25	8,2%	8%	6%
ApoE3	232	76,3%	75%	75%
ApoE4	47	15,5%	15%	16%
andere	/	/	2%	/
Summe	304	100%	100%	100%

Tabelle 20: Allel-Verteilung ApoE Polymorphismus. Ergebnisse im Vergleich zur Normalverteilung der europäischen Bevölkerung

Beim Vergleich der Genotyp-Verteilung in der Patientengruppe mit der Normalverteilung lässt sich ebenfalls kein signifikanter Unterschied (Literatur: $X^2(2)=0,680$, $p=0,7119$; NCBI: $X^2(2)=3,500$, $p=0,1738$) feststellen. Dabei wurden die Genotypen 23 und 33 einzeln verglichen. Alle Genotypen mit einem ApoE4-Allel 24, 34 und 44 wurden zusammengefasst, da die Fallzahlen der jeweiligen Genotyp-Gruppen für ein statistisch belastbares Ergebnis zu gering waren.

Genotyp	Absolute Häufigkeit Patientengruppe	Prozentuale Verteilung Patientengruppe	Normalverteilung (Literatur)	Normalverteilung (NCBI)
23	22	14,5%	12%	9,36%
33	90	59,2%	56,25%	60,84%
ApoE4-Allel-Träger total	40	26,3%	27,15%	29,44%
Summe	152	100%	95,4%	99,64%

Tabelle 21: Genotyp-Verteilung ApoE Polymorphismus. Ergebnisse im Vergleich zur Normalverteilung der europäischen Bevölkerung

3.3.5 Prävalenz SLC30A8

Der Vergleich der Ergebnisse des SLC30A8 Polymorphismus der Allele C und T mit der Normalverteilung zeigte bei Anwendung des Chi-Quadrat-Tests keinen signifikanten Unterschied ($X^2(1)=1,917$, $p=0,1662$) in der Allel-Verteilung.

Allel	Absolute Häufigkeit Patientengruppe	Prozentuale Verteilung Patientengruppe	Normalverteilung (NCBI)
C	207	68,1%	71,67%
T	97	31,9%	28,33%
Summe	304	100%	100%

Tabelle 22: Allel-Verteilung SLC30A8 Polymorphismus. Ergebnisse im Vergleich zur Normalverteilung der europäischen Bevölkerung (NCBI)

Auch bei der Genotyp-Verteilung der Genotypen CC, CT und TT konnte kein signifikanter Unterschied ($X^2(2)=1,930$, $p=0,3811$) zwischen der Testgruppe und der Normalverteilung festgestellt werden.

Genotyp	Absolute Häufigkeit Patientengruppe	Prozentuale Verteilung Patientengruppe	Normalverteilung (NCBI)
CC	70	46,1%	51,37%
CT	67	44,1%	40,6%
TT	15	9,9%	8,03%
Summe	152	100%	100%

Tabelle 23: Genotyp-Verteilung SLC30A8 Polymorphismus. Ergebnisse im Vergleich zur Normalverteilung der europäischen Bevölkerung

3.3.6 Prävalenz LP

Beim Vergleich Allel-Verteilungen der Allele T und C der Testgruppe mit der europäischen Normalverteilung konnte unter Verwendung des Chi-Quadrat-Tests ein signifikanter Unterschied ($X^2(1)=5,040$, $p=0,0248$) festgestellt werden. Man kann in der Kreuztabelle ablesen, dass eine signifikant erhöhte Anzahl an Patienten mit einem T-Allel in der Testgruppe vorhanden ist.

Allel	Absolute Häufigkeit Patientengruppe	Prozentuale Verteilung Patientengruppe	Normalverteilung (NCBI)
T	174	57,2%	50,8%
C	130	42,8%	49,2%
Summe	304	100%	100%

Tabelle 24: Allel-Verteilung LP Polymorphismus. Ergebnisse im Vergleich zur Normalverteilung der europäischen Bevölkerung

Ebenfalls beim Vergleich aller Genotyp-Gruppen TT, TC und CC untereinander ist ein signifikanter Unterschied ($X^2(2)=8,637$, $p=0,0133$) zwischen der Testgruppe und der Normalverteilung festzustellen. Der Kreuztabelle ist zu entnehmen, dass der Genotyp TT in erhöhtem Maße in der Testgruppe verglichen zur Normalverteilung auftritt.

Genotyp	Absolute Häufigkeit Patientengruppe	Prozentuale Verteilung Patientengruppe	Normalverteilung (NCBI)
TT	55	36,2%	25,8%
TC	64	42,1%	50%
CC	33	21,7%	24,2%
Summe	152	100%	100%

Tabelle 25: Kreuztabelle Genotyp-Verteilung LP Polymorphismus. Ergebnisse im Vergleich zur Normalverteilung der europäischen Bevölkerung

Beim Vergleich der Phänotypen LP und LNP untereinander lässt sich jedoch keine signifikant erhöhte Patientenzahl mit Lactosetoleranz (LP) feststellen ($X^2(1)=0,514$, $p=0,4736$).

Genotyp	Phänotyp	Absolute Häufigkeit Patientengruppe	Prozentuale Verteilung Patientengruppe	Normalverteilung (NCBI)
TT/TC	LP	119	78,3%	75,8%
CC	LNP	33	21,7%	24,2%
Summe		152	100%	100%

Tabelle 26: Kreuztabelle Phänotyp-Verteilung LP Polymorphismus. Ergebnisse im Vergleich zur Normalverteilung der europäischen Bevölkerung

3.4 Zusammenfassende Ergebnisse

Zusammenfassend ist festzuhalten, dass bei den Polymorphismen TAS2R19, TAS2R38, ApoE und SLC30A8 keine signifikanten Abweichungen zwischen den Patientengruppen und Normalverteilung in Europa festgestellt werden konnten. Beim TAS2R43 Polymorphismus konnte ein stark signifikanter Unterschied beobachtet werden. Beim LP Polymorphismus konnte ebenfalls ein signifikanter Unterschied zwischen der Testgruppe und der europäischen Normalverteilung beobachtet werden. Dieser ist jedoch nur beim Vergleich der Allel- und Genotyp- Verteilung festzustellen. Beim Vergleich der Phänotypen lässt sich kein signifikanter Unterschied beobachten.

Sowohl bei den mikrobiologischen Untersuchungen, als auch bei dem Vergleich der Taschentiefen und Blutungsindizes konnte kein signifikanter Unterschied zwischen den Patientengruppen festgestellt werden.

4 Diskussion

4.1 Fragestellung

In der vorliegenden Studie wurde erstmalig ein Zusammenhang zwischen nutrigenetischen Polymorphismen und Parodontitispatienten untersucht.

Die Bestimmung von genetischen Polymorphismen bei einer bestimmten Patientengruppe, die alle an derselben Erkrankung, der Parodontitis, leiden, gilt in der Forschung als eine evidenzbasierte und gängige Methode um genetische Risikofaktoren zu ermitteln. Daher kann das Studiendesign mit anderen Studien verglichen werden.

Da jedoch keine Vergleichsstudien vorliegen, die nutrigenetische Polymorphismen bei Parodontitispatienten untersuchen, können die Ergebnisse nicht mit vorhandenen Studien verglichen werden.

4.2 Material und Methode

4.2.1 Probanden

In die Studie wurden insgesamt 152 an Parodontitis erkrankte Patienten einbezogen. Diese Patientenanzahl ergibt eine statistische Power von 82%, die vorliegenden Patientendaten geben jedoch schon Aufschluss darüber, ob weitere Studien sinnvoll wären.

An Parodontitis erkrankte Individuen wurden auf nutrigenetische Polymorphismen getestet. Die Kontrollgruppe basierte auf Informationen zur Normalverteilung von Polymorphismen von der Internetseite des National Center for Biotechnology Information (NCBI). Für eine eigene Kontrollgruppe hätten gesunde Probanden mit in die Studie einbezogen werden müssen. Diese Probanden hätten damit denselben regionalen Einflüssen unterlegen, wie auch mögliche, in der Region spezifische genetische Unterschiede zur Normalverteilung aufzeigen können. Zudem gibt es keine Informationen, ob eine statistische Gleichverteilung zwischen der Patientengruppe und der vom NCBI gegebenen Kontrollgruppe in Bezug auf Alter, Ethnie und Geschlecht vorliegt. Des Weiteren ist eine unbekannte Anzahl an Parodontitis erkrankten Individuen in der Kontrollgruppe vom NCBI enthalten. In dieser Studie musste jedoch aus Zeit- und Kostengründen auf eine eigene Kontrollgruppe verzichtet werden. Die beim NCBI zu findende Normalverteilung gibt nur Auskunft über die statistische Verteilung von Polymorphismen in Mitteleuropa, nicht speziell über die Verteilung der Polymorphismen von Individuen in NRW. Diese Informationen vom NCBI basieren auf einem viel größeren Probanden-Pool als im Rahmen dieser Studie möglich gewesen wäre. Somit sind statistische Abweichungen in der Kontrollgruppe durch zu geringe Fallzahlen unwahrscheinlicher.

Die Rekrutierung der Patienten fand statt zwischen 2001 und 2005. Damit stellt sich die Frage, in wie weit sich die gesammelten Daten noch auf die heutige Gesellschaft übertragen lassen. Gerade im Bereich der Laktoseintoleranz sind viele neue Produkte auf den Markt gekommen, welche den Patienten die Möglichkeit geben, trotz Intoleranz, Milchprodukte zu sich zu nehmen. Ebenfalls ist das Bewusstsein für gesunde Ernährung in den letzten Jahren immer weiter gestiegen. Da es sich bei der Parodontitis jedoch um eine Erkrankung handelt, die sich schleichend über einen langen Zeitraum entwickelt, dürfte sich eine Veränderung durch diese Umstände wahrscheinlich erst in der Zukunft bemerkbar machen.

4.2.2 Studiendesign

Die Blutabnahme, sowie die DNA-Isolation aus dem EDTA-Vollblut ist schon bis zu 14 Jahre her. Die Lagerung der isolierten DNA-Proben über diesen Zeitraum hinweg führt nach heutigem Kenntnisstand zu keinen Problemen, da reine DNA chemisch äußerst stabil ist. Um eine mögliche Verunreinigung der Proben zu minimieren, wurden niemals die Originalproben direkt für die jeweiligen Experimente verwendet. Die Originalproben wurden gekühlt (-4°C) gelagert. Diese Lagerungsmethode führe laut heutigem Kenntnisstand nicht zu Veränderungen der DNA-Proben (94). Daher kann von fehlerfreien Originalproben ausgegangen werden. Aus den Originalproben wurden 1:10 Verdünnungen in TE-Puffer als Arbeitslösungen hergestellt und separat gelagert. Nur diese verdünnten Proben wurden für die vorliegende Studie benutzt. Bei Verdacht auf Verunreinigung der Proben, konnte somit eine neue Probe aus der Originalprobe erstellt werden. Dadurch konnte die Genauigkeit der Ergebnisse gewährleistet werden.

4.2.3 Erhebung molekularbiologischer Parameter

Die PCR ist eine Methode zur Amplifizierung von DNA-Fragmenten, die schon lange als Standard in der Molekularbiologie angesehen wird (95). Ähnliches gilt für die Restriktion und Sequenzierung. Fehler bei der Probenanalyse sind nie absolut sicher auszuschließen, jedoch wurde diese Möglichkeit bei der vorliegenden Studie durch die Kontrolle der einzelnen Schritte auf ein Minimum reduziert.

4.3 Nutrigenetik

Die Nutrigenetik ist ein sehr aktuelles Thema, welchem in der Forschung momentan viel Aufmerksamkeit gewidmet wird. Ernährungsbedingte Erkrankungen sollen durch Unterschiede im Genom erklärt werden können. Trotz der vielen Studien in diesem Bereich ist weiterhin viel Forschungsbedarf vorhanden. In dieser Studie wurde lediglich ein Zusammenhang zwischen nutrigenetischen Polymorphismen und der Inzidenz dieser Polymorphismen bei Parodontitispatienten untersucht. Dabei kann jedoch nicht erklärt werden, ob ein Zusammenhang zwischen den bekannten Stoffwechselmechanismen eines Polymorphismus und der Parodontitis besteht, oder ob der Polymorphismus darüber hinaus einen noch nicht bekannten Stoffwechselmechanismus beeinflusst. Zudem könnte ein Polymorphismus alleinig durch eine

unterschiedliche Geschmacksempfindung zu einer Ernährungsangewohnheit führen, welche eine Parodontitis begünstigt. Daher sollte die hier vorliegende Studie nur herausfinden, ob die getesteten Polymorphismen mit dem Risiko einer Parodontitiserkrankung assoziiert sind. Der funktionelle Grund, weshalb ein Polymorphismus eventuell eine bestimmte Erkrankung begünstigt wurde nicht erforscht. Dies müsste Bestandteil weiterer Forschungen sein.

Die momentane klassische Parodontitis-Diagnostik besteht aus Taschentiefenmessungen (CAL), Blutungsproben (BOP) und der Knochenverlaufsanalyse und gilt als Goldstandard in der Zahnmedizin. Mit Hilfe dieser Diagnostik wird jedoch nur eine bestehende Parodontitiserkrankungen diagnostiziert und sie führt daher nur selten zur Früherkennung einer Parodontitiserkrankung. Zwar sind die Krankheitsentstehung und der Krankheitsverlauf der Parodontitis mittlerweile vielfältig untersucht und in vielen zahnmedizinischen Büchern ausführlich erklärt, jedoch bleiben immer noch viele Fragen offen. So weisen viele Studien darauf hin, dass genetische Faktoren in der Entstehung der Parodontitis involviert sein könnten (96-98). Auch die familiäre Häufung der Erkrankung weist auf einen genetischen Hintergrund hin, aber die konkreten genetischen Faktoren sind bis heute unbekannt. Bei besserer Kenntnis könnte in Zukunft ein genetischer Test Risikogruppen aufzeigen und Patienten könnten frühzeitig für Präventionsmaßnahmen sensibilisiert werden, denn mittlerweile gilt die Parodontitis als einer der Hauptgründe für Zahnverlust in Deutschland (2, 23). So könnte die Bestimmung der Risikogruppen und die frühzeitige intensive Prävention, verglichen mit den heutigen Präventions- und Diagnostikmaßnahmen, auf lange Sicht hohe Kostenersparnisse im Gesundheitswesen bedeuten.

Ziel dieser Studie war es Polymorphismen zu identifizieren, die in Zukunft als diagnostisches Hilfsmittel in der Früherkennung einer Parodontitis fungieren könnten. Der in dieser Studie untersuchte Polymorphismus TAS2R43 könnte in diesem Zusammenhang weiter erforscht werden und wird in Kapitel 4.1.1 ausführlich diskutiert. Die getesteten Polymorphismen TAS2R19, TAS2R38, ApoE, SLC30A8 und LP kämen nach den Ergebnissen dieser Studie eher nicht als potentielle Indikatoren für eine Parodontitis in Frage.

4.3.1 Klinische und mikrobiologische Ergebnisse

Die mikrobiologische Zusammensetzung der oralen Flora unterscheidet sich bei allen Genotypen der sechs untersuchten SNPs nicht signifikant voneinander. Dasselbe gilt für die klinischen Parameter Taschentiefe und Blutungsindex. Daraus lässt sich schlussfolgern, dass die parodontopathogenen Bakterien alle Genotyp-Gruppen gleich aggressiv befallen. Andererseits ist nicht der Erkrankungsverlauf, sondern das Erkrankungsrisiko die primäre Frage dieser Studie. Im Falle der TAS2R19-, TAS2R38-, ApoE- und SLC30A8-Gene ist auch das Vorkommen der unterschiedlichen Genotypen nicht signifikant von der Normalverteilung abweichend. Bei diesen Genen ist daher der Einfluss auf das Entstehen einer Parodontitis eher unwahrscheinlich. Im Falle des TAS2R43- und LP-Gens lässt sich ein signifikanter Unterschied zur Normalverteilung feststellen. Weicht die Verteilung der Genotyp-Gruppen von der Normalverteilung ab, so erkranken mehr Individuen eines bestimmten Genotyps häufiger an einer Parodontitis. Da die Parodontitis die Infektion eines Individuums mit parodontopathogenen Keimen voraussetzt, müssten nicht alle Individuen dieser Risiko-Genotyp-Gruppe an einer Parodontitis erkranken. Zudem ist die Parodontitis eine multifaktorielle Erkrankung, bei der viele andere Faktoren ebenfalls die Krankheitsentstehung und den Krankheitsverlauf beeinflussen. Daher könnte ein bestimmtes SNP auf einem Gen die Entstehung einer Parodontitis begünstigen, jedoch müsste sich die mikrobiologische Zusammensetzung, sowie der klinische Verlauf bei vorhandener Parodontitis nicht von der Zusammensetzung anderer Genotyp-Gruppen unterscheiden.

4.3.2 TAS2R43

Die eingangs formulierte Hypothese, dass Parodontitispatienten eine signifikant unterschiedliche Allel-Verteilung verglichen zur Normalverteilung aufweisen, konnte in dieser experimentellen Studie weitgehend bestätigt werden. Die an dieser Studie beteiligten Parodontitispatienten waren signifikant erhöhte Träger des Wildtyps mit dem T Allel ($\chi^2(1)=269,754, p=0,0001$). Die T-Allel Träger sollen eine erhöhte Aversion gegen bittere Geschmäcker wie beispielsweise Kaffee haben. Träger des funktionslosen C Allels sollen vermehrt bittere Nahrungsmittel zu sich nehmen (30). Die Normalverteilung in der Patientengruppe ähnelt tendenziell der Normalverteilung in Afrika.

Allel	Absolute Häufigkeit Patientengruppe	Prozentuale Verteilung Patientengruppe	Normalverteilung Europa (NCBI)	Normalverteilung in Afrika (NCBI)
T	200	65,8%	25%	90%
C	104	34,2%	75%	10%
Summe	304	100%	100%	100%

Tabelle 27: Vergleich der Allel-Verteilungen des LCT-Gens: Allel-Verteilung der Testgruppe absolut und relativ, Normalverteilung in Europa und Afrika

Afrika gilt als der Ursprung des Homo sapiens. Dieser hat sich von dort aus in alle Richtungen der Welt verteilt. Ein Großteil der Bevölkerung in Afrika ist Träger des Wildtyps T, während in der kaukasisch-stämmigen Bevölkerung das C-Allel überwiegt. Diese könnte zwei Gründe haben, entweder hatte die Mutation in Afrika keinen evolutionären Vorteil und hat sich daher dort nicht durchgesetzt oder die Mutation ist erst in anderen Teilen der Welt aufgetreten und von dort erst in Afrika angekommen. Studien zeigen, dass sowohl die afrikanische, als auch die afroamerikanische Bevölkerung ein signifikant erhöhtes Risiko haben an einer Parodontitis zu erkranken (99). Aufgrund von noch nicht bekanntem Selektionsdruck scheint das funktionslose C-Allel sich in Europa vermehrt durchgesetzt zu haben. Zwar kann nicht davon ausgegangen werden, dass allein der Vorteil ein geringeres Risiko an einer Parodontitis zu erkranken, diesen Selektionsdruck verursacht hat, jedoch könnte es ein positiver Nebeneffekt gewesen sein.

C-Allel-Träger scheinen eine geringere Abneigung gegenüber bitteren Nahrungsmitteln zu haben. Daher werden bittere Nahrungsmittel höchst wahrscheinlich im Vergleich zu T-Allel Trägern von C-Allel Trägern vermehrt konsumiert. Dieser erhöhte Konsum von bestimmten bitteren Nahrungsmitteln könnte ebenfalls ein Individuum davor schützen an einer Parodontitis zu erkranken. Der Zusammenhang zwischen vermehrtem Konsum von bitteren Nahrungsmitteln und geringerem Risiko für bestimmte Erkrankungen wird bereits in anderen Studien untersucht. Eine Menge an Lebensmitteln mit bitterem Geschmack scheint hohe Werte an Antioxidantien und anderen gesundheitsförderlichen Stoffen zu haben. Da aber bitterer Geschmack evolutionär als Warnhinweis für giftige Stoffe gilt, ist interessant weshalb in den europäischen Breitengraden die Aversion gegen diesen bitteren Geschmack nicht von Vorteil gewesen ist. Eine Möglichkeit ist, dass in diesen Breiten-

graden nicht viele oder sogar keine giftigen Pflanzen mit bitterem Geschmack wuchsen. Somit hätte die Abneigung gegen diese Nahrungsmittel evolutionär keine große Bedeutung. Auch könnte man vermuten, dass in den europäischen Breitengraden eine erhöhte Anzahl an bitteren, nicht giftigen Nahrungsmitteln vorkommen. Der Verzehr dieser Pflanzen könnte von evolutionärem Vorteil gewesen sein durch die Erschließung neuer Ressourcen. Zudem könnte der moderne Homo sapiens auch die Fähigkeit besessen haben neues Wissen zu erlernen und an die nächste Generation weiter zu geben. Die Weitergabe des Wissens über giftige Pflanzen ist in dem heutigen Zeitalter Normalität geworden. Somit bestände heutzutage kein evolutionärer Vorteil mehr bei Aversion gegen diese bitteren Geschmäcker.

Weshalb C-Allel Träger seltener an einer Parodontitis erkranken, müsste weiter erforscht werden. Bestandteil dieser Forschungen müsste sein, ob ein noch nicht bekannter Stoffwechselmechanismus oder ob ein erhöhter Verzehr von bestimmten Nahrungsmitteln ein Individuum vor der parodontalen Erkrankung schützt. In diesem Zusammenhang wird nochmals auf Studien hingewiesen, die aufzeigen, dass grüner Tee sich positiv auf die parodontale Gesundheit auswirken könnte.

Da keine Angaben über die Ethnie der in der Studie aufgenommenen Patienten vorliegen, besteht auch die Möglichkeit, dass eine erhöhte Anzahl dieser Patienten afrikanischen Ursprungs ist. Dies könnte die Ergebnisse verfälschen. Jedoch ist das T-Allel hoch signifikant verstärkt aufgetreten und eine so enorme Abweichung in der Ethnien-Zugehörigkeit bei den Patienten in Münster ist nicht zu erwarten.

2016 haben Roundnitzky et al. herausgefunden, dass im Fall des TAS2R43 Gens Variationen der Genkopienzahl auftreten. Normalerweise liegen im diploiden Genom zwei Kopien pro Gen vor, also eine Kopie je Chromosomensatz. Bei dem TAS2R43 Gen kommt es jedoch zu Deletionsmutationen. Beim TAS2R43 Gen kommt es nach den vorläufigen Zahlen in bis zu 33% der Fälle vor, dass nur eine Kopie des Gens vorliegt. Die Deletionsmutation wird als $\Delta 43$ bezeichnet. In der europäischen Bevölkerung soll eine Gendeletion sogar in bis zu 45% der Fälle vorkommen (100). Diese neue Erkenntnis ist leider erst nach Abschluss dieser experimentellen Studie veröffentlicht worden und entsprechende Tests konnten in dieser Studie nicht mehr durchgeführt werden. Theoretisch müsste es homozygote Deletionsträger geben, die kein spezifisches PCR-Produkt bilden. Dieser Fall ist allerdings in dieser Studie nicht aufgetreten, daher kann man davon ausgehen, dass der Anteil

des Mutationsallel eher gering ist. Außerdem wäre zu bedenken, dass die hier verwendeten Angaben über die Normalverteilung in Europa beim NCBI ebenfalls ohne ein Null-Allel erstellt sind. Da nicht bekannt ist, wie die Analysen dabei gemacht wurden, könnten ebenfalls auf Seiten der Kontrollgruppe Ungenauigkeiten bestehen. Daher könnte man davon ausgehen, dass die Anzahl der Gendeletionen in beiden Gruppen annähernd gleich ist. Somit wird bei den in dieser Studie ermittelten Ergebnissen immer noch von signifikanten Zahlen ausgegangen.

Dennoch könnte die Gendeletion zu den hoch signifikanten Ergebnissen in dieser Studie beigetragen haben. Der nicht angewendete Test zur Überprüfung der Kopienzahl kann die Ergebnisse verfälscht haben. In weiteren Studien müsste die Kopienzahl berücksichtigt werden und die hier ermittelten Ergebnisse nochmals überprüft werden.

4.3.3 TAS2R19

Die Hypothese, dass die Gruppe der Parodontitispatienten sich in der Allel Verteilung bei dem TAS2R19 Gen im Vergleich zur Normalverteilung unterscheiden, konnte in dieser Studie nicht bestätigt werden.

Der Bitterrezeptor, für den das TAS2R19 Gen codiert und der unter anderem für den bitteren Geschmack der Grapefruit verantwortlich ist, scheint keinen Einfluss auf die Pathogenese der Parodontitis zu haben. Die Möglichkeit, dass die Grapefruit einen positiven Effekt bei der Parodontitis Behandlung hat bleibt dennoch bestehen. So ist die Grapefruit in diesen Breitengraden nicht heimisch und wird auch nicht häufig konsumiert. Dies liegt wohl nicht immer an der Abneigung gegen diese Zitrusfrucht. Auch andere Faktoren könnten einen Einfluss am geringen Konsum haben. Neben dem nicht ständigen Angebot der Grapefruit in deutschen Geschäften, könnte auch generell das Fehlen der Frucht auf dem typisch deutschen Speisplan einer der Gründe sein.

Aufgrund des gesundheitlichen Nutzen der Grapefruit bei anderen inflammatorischen Erkrankungen (101), könnte diese dennoch bei der Prävention und Behandlung der Parodontitis eine Rolle spielen. Staudte et. al. fanden heraus, dass der Vitamin C Status bei Parodontitispatienten durch Grapefruit Konsum verbessert werden kann (102). Chapple et. al. fanden zudem heraus, dass die tägliche Gabe von hoch dosierten Kapseln mit Frucht- und Gemüseextrakten den parodontalen

Status verbessern kann (103). Die Frage, ob der tägliche Grapefruitkonsum oder die Gabe von täglichen Grapefruitkonzentrationen eine Parodontitis verhindern oder den Verlauf der Erkrankung beeinflussen kann, bleibt jedoch offen. Dies müsste in weiteren Studien erforscht werden.

4.3.4 TAS2R38

Ein Zusammenhang zwischen den Polymorphismen rs713598, rs1726866 und rs10246939 auf dem TAS2R38 Gen und der Parodontitis konnte in dieser Studie nicht nachgewiesen werden. Es konnte kein signifikanter Unterschied zwischen der Allelverteilung der Parodontitispatienten und der Normalverteilung gefunden werden.

Wie auch das TAS2R43 Gen kodiert das TAS2R38 Gen für einen Bitterrezeptor auf der Zunge (56). Dieser Bitterrezeptor wird im Labor durch die Substanzen Phenylthiocarbamide (PTC) und Propylthiouracil (PROP) aktiviert. Obwohl eine Vielzahl von Studien auf Unterschiede in der Ernährungsweise, dem Zigarettenkonsum und dem Calciummetabolismus hinweisen (56-59), konnte in dieser Studie kein Einfluss auf das parodontale Geschehen gezeigt werden.

Im Gegensatz zum TAS2R38 Gen konnte bei dem Polymorphismus auf dem TAS2R43 Gen ein signifikanter Unterschied festgestellt werden. Da beide für einen Bitterrezeptor codieren stellt sich die Frage, weshalb ein Bitterrezeptor einen Einfluss auf das parodontale Geschehen zu haben scheint, jedoch der Andere nicht.

Das TAS2R38 Gen wurde in den letzten Jahren stark erforscht. So weisen eine Vielzahl von Studien darauf hin, dass die auf ihm befindlichen Polymorphismen signifikant die Geschmackswahrnehmung beeinflussen. Es gibt zudem Hinweise darauf, dass ebenfalls Stoffwechselvorgänge im Körper durch die Polymorphismen auf dem TAS2R38 Gen beeinflusst werden könnten. Dies konnte aber bisher nicht schlüssig belegt werden. Im Gegensatz dazu ist das TAS2R43 Gen erst in den letzten Jahren in den Fokus der Forschung gerückt und das Wissen über dieses Gen noch vergleichsweise gering.

4.3.5 ApoE

In dieser Studie wurde erstmals ein direkter Zusammenhang zwischen den Polymorphismen rs429358 und rs7412 auf dem ApoE-Gen und dem Parodontitisrisiko

untersucht. Dabei konnte kein direkter Zusammenhang festgestellt werden. Es besteht kein signifikanter Unterschied in der Allel Verteilung bei Parodontitispatienten und der Normalverteilung.

In vorherigen Studien konnte ein Zusammenhang zwischen aggressiver Parodontitis und Serum-Lipid-Konzentrationen festgestellt werden (74) und auch immunologische Einflüsse der ApoE Polymorphismen im humanen Körper wurden bereits erforscht (104, 105).

ApoE4 konnte ebenfalls in den meisten Studien mit einem erhöhten Risiko an Alzheimer zu erkranken assoziiert werden. Das Interesse an der Alzheimerforschung ist groß, weshalb diese auch stark gefördert wird. Daher wird aktuell das ApoE-Gen in diesem Zusammenhang viel erforscht. Jedoch bleiben neue Erkenntnisse über immunologische Einflüsse des ApoE-Gens in den neusten Studien weitestgehend aus (106-109).

Die vorhandenen Studien fanden heraus, dass Träger des ApoE2-Allels erhöhte Werte des C reaktiven Proteins aufweisen (104, 105).. Delange et. al. konnten Anfang 2018 keine signifikant erhöhten Werte des C reaktiven Proteins bei Parodontitispatienten feststellen (110).

Wenn demnach das C reaktive Protein bei der Parodontitis nicht beteiligt ist, würde dies dazu passen, dass in dieser Studie keine Korrelation zwischen den ApoE-Genotypen und der Parodontitis festgestellt werden konnte

4.3.6 SLC30A8

Eine Vielzahl an Studien bringt jedoch den rs13266634 Polymorphismus auf dem SLC30A-Gen mit einem erhöhten Risiko an Diabetes mellitus zu erkranken in Verbindung (80, 81). Diabetes mellitus wird in der Zahnmedizin als Risikofaktor für die Parodontitiserkrankung angesehen (76, 111, 112). Ein nicht behandelter Diabetes mellitus kann unter anderem zu microvasculären Komplikationen führen (113). Neben den allgemein bekannten Neuropathien, Retinopathien (114) und renalen Problemen (115) kann es im Laufe der Diabetes mellitus Erkrankung auch zu einem gestörten Gleichgewicht und microvasculären Komplikationen im Parodont kommen.

Es ist jedoch darauf hinzuweisen, dass in dieser Studie nur systemisch gesunde Patienten integriert wurden, also Diabetes mellitus Patienten waren explizit ausgeschlossen. Dies ist die erste Studie, welche einen direkteren Zusammenhang zwischen dem SNP auf dem SLC30A8-Gen und der Parodontitis untersucht. Aufgrund des Ausschlusses von Diabetes Patienten, die statistisch häufiger Träger des T-Allels sind, kann der Zusammenhang zwischen dem SLC30A8-Gen und der Parodontitis nicht ausgeschlossen werden. Hierzu müsste eine weitere Studie durchgeführt werden, bei der Diabetes mellitus nicht ein Ausschlusskriterium ist.

4.3.7 LP

Die Hypothese, dass Parodontitis Patienten zu einer signifikant erhöhten Anzahl eine genetisch bedingte Lactoseintoleranz haben, konnte in dieser Studie nicht belegt werden. Es ist jedoch darauf hinzuweisen, dass das T-Allel, wie auch der Genotyp TT, in signifikant höherer Anzahl in der Patientengruppe auftritt.

Somit stellt sich die Frage, ob das T-Allel oder der Genotyp TT als ein Risikofaktor für eine Parodontitis angesehen werden können.

Es gibt Studien, welche die Laktoseintoleranz mit einem erniedrigten Kalziumgehalt im Knochen in Verbindung bringen (92, 93). Jedoch wurde noch nicht geklärt, ob dies an einer tatsächlich erniedrigten Kalzium-Aufnahme liegt, oder ob andere, noch nicht bekannte Mechanismen, eine Rolle spielen. So könnten auch andere Stoffwechselmechanismen im Körper durch den LCP Polymorphismus beeinflusst werden. Diese könnten zu einem erniedrigten Kalziumgehalt im Knochen führen und somit auch eine Osteoporose begünstigen. Die Studien basieren darauf, dass die Patienten zunächst positiv auf Laktoseintoleranz getestet werden mussten. Somit könnten die Patienten mit Laktoseintoleranz vor Beginn der Studie unwissentlich trotz Intoleranz Milchprodukte zu sich genommen haben. Zum Milchkonsum der Patienten geben diese Studien keine Informationen.

Andererseits werden in den letzten Jahren immer häufiger negative Einflüsse von Milchprodukten auf den Körper diskutiert. Neuere Studien, die den Zusammenhang zwischen Milchverzehr und den Risiken für Osteoporose oder Frakturen analysierten, konnten keine positiven Effekte von Milchkonsum auf die Knochenzusammensetzung nachweisen(116, 117). Im Gegenteil, 2014 haben Feskanich et. al. bei

Männern ein signifikant erhöhtes Risiko für Hüftfrakturen durch erhöhten Milchkonsum im Jugendalter nachgewiesen (118). Diese Studien zeigen, dass durch Milchkonsum der Knochenmetabolismus voraussichtlich nicht verbessert wird. Das Ergebnis der hier durchgeführten Studie konnte ebenfalls keine signifikant erhöhte Anzahl an phänotypisch laktosetoleranten Patienten in der Testgruppe aufzeigen.

In dieser Studie tritt der Genotyp TT, sowie das T-Allel bei Parodontitispatienten signifikant häufiger auf. Das T-Allel hatte evolutionär einen bedeutenden Vorteil, da dieses zu einer Laktase Persistenz führte. So konnten protein- und fettreiche Milchprodukte auch nach dem Kindheitsalter verzehrt werden und bildeten eine zusätzliche ergiebige Nahrungsressource. Daher ist gut nachzuvollziehen, weshalb sich dieses Allel in der europäischen Bevölkerung zu großen Teilen durchgesetzt hat. Jedoch könnte dieser evolutionäre Vorteil auch zu noch nicht bekannten, stoffwechselbedingten Nachteilen geführt haben. Zwar hat sich der Polymorphismus in einer Mangelgesellschaft evolutionär sehr schnell durchgesetzt, doch befindet sich Europa gegenwärtig in einem Zeitalter des Nahrungsüberflusses. Daher ist der evolutionäre Vorteil der Laktasepersistenz überholt und eventuelle Nachteile könnten sich langsam immer deutlicher zeigen.

Aufgrund potentieller noch heute nicht bekannten Stoffwechselvarianten bei laktosetoleranten und laktosetoleranten Patienten, sind in diesem Zusammenhang weitere Studien nötig. So könnten beispielsweise Patienten nach ihren Ernährungsgewohnheiten befragt werden und zwei Gruppen gebildet werden: Patienten, welche keine Milchprodukte zu sich nehmen und Patienten, die Milchprodukte konsumieren. Dadurch könnte eventuell in Erfahrung gebracht werden, ob der erniedrigte Konsum von Milchprodukten oder gerade der Konsum von Milchprodukten eine Parodontitis begünstigt. Das Ziel der Studien sollte sein, den Einfluss von Milchprodukten auf das parodontale Geschehen zu untersuchen. Da die hier durchgeführte Studie darauf hinweist, dass das T-Allel ein Risikofaktor für eine Parodontitis sein könnte, müssten ebenfalls eventuelle stoffwechselbedingte Einflüsse des T-Allels im parodontalen Geschehen untersucht werden.

5 Schlussfolgerung

Der Einfluss von nutrigenetischen Polymorphismen auf das parodontale Geschehen ist ein neuwertiger Ansatz in der Parodontitisforschung. Zwar konnte bereits vielfach eine familiäre Häufung festgestellt werden, die auf eine genetische Komponente im Entstehen einer Parodontitis hinweist. Jedoch konnte bisher kein spezifisches Gen festgestellt werden, welches einen bedeutenden Einfluss auf die Parodontitiserstehung hat. Die Parodontitis ist eine multifaktorielle und multibakterielle Infektionserkrankung, welche das Vorhandensein von parodontalpathogenen Bakterien voraussetzt. Daher muss ein Risiko-Gen-Träger nicht zwangsweise eine Parodontitis entwickeln. Selbst bei einer Infektion könnte die Erkrankung mit Hilfe von guter Mundhygiene und adäquater Behandlung voraussichtlich gut kontrolliert werden.

Die Beeinflussung der Parodontitis durch die SNPs rs10772420 auf dem TAS2R19-Gen, rs713598, rs1726866 und rs10246939 auf dem TAS2R38-Gen, rs429358 und rs7412 auf dem ApoE-Gen und dem rs13266634 auf dem SLC30A-Gen könnte durch diese Studie als weniger relevant eingestuft werden. Weder beim TAS2R19- ($X^2(1)=0,159$, $p=0,6897$), beim TAS2R38- ($X^2(3)=7,926$, $p=0,0475$), beim ApoE- ($X^2(2)=2,671$, $p=0,2630$) noch beim SLC30A- ($X^2(1)=1,917$, $p=0,1662$) Polymorphismus konnte ein signifikanter Unterschied zur Normalverteilung in Europa nachgewiesen werden. Auch bei der mikrobiologischen und klinischen Auswertung konnten keine signifikanten Zusammenhänge zwischen den verschiedenen Genotypen und den untersuchten Parametern festgestellt werden.

Die Hypothese, dass die Parodontitis durch die SNPs rs71443637 und rs35720106 auf dem TAS2R43-Gen und rs498823599 auf dem LP-Gen beeinflusst wird, lässt sich in dieser Studie nicht widerlegen. Beim Vergleich der Allelfrequenz in der Patientengruppe mit der Normalverteilung in Europa lässt sich bei den Genen Tas2R43 ($X^2(1)=269,754$, $p=0,0001$) und LP ($X^2(1)=5,040$, $p=0,0248$) ein signifikanter Unterschied feststellen.

Bei dem LP Polymorphismus unterscheidet sich lediglich die Allel- und Genotyp-Verteilung zur Normalverteilung, wobei das T-Allel signifikant gehäuft in der Patientengruppe auftritt. Bei der Phänotyp-Verteilung lässt sich jedoch keine signifikant erhöhte Patientenzahl mit Lactoseintoleranz (LP) feststellen ($X^2(1)=0,514$,

$p=0,4736$). Daher müsste Bestandteil weiterer Studien sein, ob und wie das T-Allel eine Parodontitis begünstigt.

Beim TAS2R43-Gen besteht die Möglichkeit der Gendeletion. Dieser Faktor konnte in dieser Studie noch nicht berücksichtigt werden, da er zum Zeitpunkt der praktischen Durchführung noch nicht bekannt war und müsste daher in weiteren Studien untersucht werden. Es stellt sich die Frage, ob nach Ausschluss dieses möglichen Fehlerfaktors sich die Patientenverteilung immer noch signifikant von der Normalverteilung in Europa unterscheidet. Daraufhin müsste Bestandteil weiterer Studien sein, durch welchen Mechanismus der TAS2R43 Polymorphismus eine Parodontitis begünstigt.

ZUSAMMENFASSUNG

Fragestellung und Ziel: Zu den Risikofaktoren einer Parodontitis können auch die Ernährungsgewohnheiten und Stoffwechselprozesse zählen, die ihrerseits durch genetische Prävalenzen beeinflusst werden. Die Nutrigenetik ist der Teil der Ernährungsforschung, der den Zusammenhang zwischen Genetik und Ernährung untersucht. Ziel dieser Studie ist es zu analysieren, ob ein signifikanter Unterschied zwischen der Verteilung nutrigenetischer Polymorphismen auf den Genen TAS2R43 (rs71443637, rs35720106), TAS2R19 (rs10772420), TAS2R38 (rs713598, rs1726866, rs10246939), ApoE (rs429358, rs7412), SLC30A8 (rs13266634) oder LP (rs498823599) zwischen Parodontitispatienten und der europäischen Normalbevölkerung besteht.

Methodik: 152 nicht miteinander verwandte Patienten der Abteilung für Parodontitis des UKM, mit chronischer oder aggressiver Parodontitis wurden im Rahmen einer Longitudinalstudie in den Jahren 2001-2005 rekrutiert. Die DNA der Patienten wurde aus EDTA-Vollblut isoliert. Die im Rahmen der UKM Studie erhobenen Patientendaten wurden für diese Studie pseudonymisiert in tabellarischer Form zur Verfügung gestellt. Diese waren der mikrobiologische Befund (*Aa, Pg, Ec, Pi, Pn, Bf, TD und Sm/Si*), sowie der Blutungsindex (BOP) und die Taschentiefen (TST).

Aus der Nutrigenetik bekannte Kandidatengene (TAS2R43, TAS2R19, SLC30A8, LP TAS2R38 und ApoE.) wurden mittels Restriktions-Längen-Polymorphismus oder Sequenzierung genotypisiert und die Allelfrequenzen mit den Daten der europäischen Normalbevölkerung verglichen.

Ergebnisse und Diskussion: Bei Vergleich der Polymorphismen der Patientengruppe mit der Normalverteilung in Europa lässt sich bei den Genen TAS2R43 ($X^2(1)=269,754$, $p=0,0001$) und LP ($X^2(1)=5,040$, $p=0,0248$) ein signifikanter Unterschied feststellen. Die Unterschiede zur Normalverteilung in Europa bei den Polymorphismen auf den Genen TAS2R19 ($X^2(1)=0,159$, $p=0,6897$), TAS2R38 ($X^2(3)=7,926$, $p=0,0475$), ApoE ($X^2(2)=2,671$, $p=0,2630$) und SLC30A ($X^2(1)=1,917$, $p=0,1662$) waren nicht signifikant. Sowohl die mikrobiologischen, als auch die klinischen Untersuchungen der Patientengruppen ergaben keine signifikanten Ergebnisse.

Schlussfolgerung: Die Ergebnisse zeigen, dass die Polymorphismen auf dem TAS2R43-Gen signifikant und auf dem LP-Gen gering signifikant mit dem Vorliegen einer Parodontitis korrelieren. Bei den anderen untersuchten Genvarianten konnte dies nicht festgestellt werden.

Abstract

Research question and objective: The risk factors of periodontitis may include dietary habits and metabolic processes, which in turn are influenced by genetic prevalence. Nutrigenetics is the part of nutrition research that investigates the relationship between genetics and nutrition. The aim of this study is to analyse whether there is a significant difference between the distribution of nutrigenetic polymorphisms on the genes TAS2R43 (rs71443637, rs35720106), TAS2R19 (rs10772420), TAS2R38 (rs713598, rs1726866, rs10246939), ApoE (rs429358, rs7412), SLC30A8 (rs13266634) or LP (rs498823599) between periodontal patients and the European general population.

Methodology: 152 patients with unrelated immediate genealogy from the UKM Department of Periodontitis, with chronic or aggressive periodontitis, were recruited in a longitudinal study in 2001-2005. The DNA of the patients was isolated from EDTA whole blood. The patient data collected in the UKM study were pseudonymised in tabular form for this study. These data included the microbiological findings (Aa, Pg, Ec, Pi, Pn, Bf, TD and Sm/Si), as well as the bleeding index (BOP) and the pocket depth (TST).

Candidate genes known from nutrigenetics (TAS2R43, TAS2R19, SLC30A8, LP, TAS2R38 and ApoE.) were genotyped by restriction-length polymorphism or sequencing and the allele frequencies compared with the data of the average European population.

Results and discussion: A comparison of the polymorphisms of the patient group with the normal distribution in Europe shows a significant difference for the genes TAS2R43 ($X^2(1)=269,754$, $p=0,0001$) and LP ($X^2(1)=5,040$, $p=0,0248$). The differences to the European average distribution for the polymorphisms on the genes TAS2R19 ($X^2(1)=0.159$, $p=0.6897$), TAS2R38 ($X^2(3)=7.926$, $p=0.0475$), ApoE ($X^2(2)=2.671$, $p=0.2630$) and SLC30A ($X^2(1)=1.917$, $p=0.1662$) were not significant. Both the microbiological and the clinical investigations of the patient groups showed no significant results.

Conclusion: The results show that the polymorphisms on the TAS2R43 gene correlate significantly with the presence of periodontitis. The LP gene correlate slightly significantly with the presence of periodontitis. For the other gene variants no correlation was found to periodontitis.

Datentabellen der Studiauswertung

- Klinische Daten

- Taschentiefen

Tabelle 1: Mittlere Taschentiefe (mm) * TAS2R43 (T=1, C=2)

Mittlere Taschentiefe (mm)							
TAS2R43 (T=1, C=2)	N	Mittelwert	Standardabweichung	Median	Minimum	Maximum	
11	69	4,19	1,16	4,02	2,47	7,82	
12	62	4,20	0,85	4,12	2,55	6,43	
22	21	4,15	1,09	3,97	2,21	6,40	
Insgesamt	152	4,19	1,03	4,03	2,21	7,82	

Tabelle 2: Mittlere Taschentiefe (mm) * TAS2R19 (A=1, G=2)

Mittlere Taschentiefe (mm)							
TAS2R19 (A=1, G=2)	N	Mittelwert	Standardabweichung	Median	Minimum	Maximum	
11	38	4,18	1,20	4,04	2,47	6,67	
12	81	4,23	0,97	4,13	2,55	7,82	
22	33	4,11	0,95	3,85	2,21	6,40	
Insgesamt	152	4,19	1,03	4,03	2,21	7,82	

Tabelle 3: Mittlere Taschentiefe (mm) * TAS2R38 (GTA=1, CCG=2, GCG=3, CTA=4, GTG=5)

Mittlere Taschentiefe (mm)							
CCG=2, GCG=3, CTA=4, GTG=5)							
	N	Mittelwert	Standardabweichung	Median	Minimum	Maximum	
11	45	4,3721	1,11783	4,2407	2,90	7,82	
12	68	4,0489	1,01952	3,9153	2,21	6,30	
13	5	4,6330	1,17719	4,7273	3,14	5,86	
14	1	2,8161		2,8161	2,82	2,82	
22	27	4,0862	,73817	3,9352	2,67	5,18	
23	3	4,7115	1,19824	5,2389	3,34	5,56	
25	1	4,2000		4,2000	4,20	4,20	
33	2	5,1994	1,61142	5,1994	4,06	6,34	
Insgesamt	152	4,1916	1,02505	4,0342	2,21	7,82	

Tabelle 4: Mittlere Taschentiefe (mm) * ApoE (TT=2, TC=3, CC=4)

Mittlere Taschentiefe (mm)							
ApoE (TT=2, TC=3, CC=4)							
	N	Mittelwert	Standardabweichung	Median	Minimum	Maximum	
23	22	4,26	1,05	4,25	2,47	6,43	
24	3	3,62	1,06	3,28	2,77	4,80	
33	90	4,24	1,00	4,09	2,61	7,82	
34	30	3,94	1,06	3,90	2,21	6,67	
44	7	4,66	1,02	4,78	3,51	6,03	
Insgesamt	152	4,19	1,03	4,03	2,21	7,82	

Tabelle 5: Mittlere Taschentiefe (mm) * SLC (C=1, T=2)

Mittlere Taschentiefe (mm)							
SLC (C=1, T=2)	N	Mittelwert	Standardabweichung	Median	Minimum	Maximum	
11	70	4,11	1,01	4,04	2,51	7,82	
12	67	4,22	0,96	4,01	2,61	6,34	
22	15	4,42	1,36	4,27	2,21	6,43	
Insgesamt	152	4,19	1,03	4,03	2,21	7,82	

Tabelle 6: Mittlere Taschentiefe (mm) * LP (T=1, C=2)

Mittlere Taschentiefe (mm)							
LP (T=1, C=2)	N	Mittelwert	Standardabweichung	Median	Minimum	Maximum	
11	55	4,11	0,97	3,97	2,47	6,05	
12	64	4,35	1,09	4,25	2,77	7,82	
22	33	4,01	0,96	4,01	2,21	5,82	
Insgesamt	152	4,19	1,03	4,03	2,21	7,82	

- **Blutung auf Sondierung**

Tabelle 7: Blutung auf Sondierung (%) * TAS2R43 (T=1, C=2)

Blutung auf Sondierung (%)							
TAS2R43 (T=1, C=2)	N	Mittelwert	Standardabweichung	Median	Minimum	Maximum	
11	69	46,35	27,99	41,67	0,00	100,00	
12	62	46,17	26,70	46,02	0,00	100,00	
22	21	39,77	27,01	34,57	3,21	100,00	
Insgesamt	152	45,37	27,25	42,13	0,00	100,00	

Tabelle 8: Blutung auf Sondierung (%) * TAS2R19 (A=1, G=2)

Blutung auf Sondierung (%)							
TAS2R19 (A=1, G=2)	N	Mittelwert	Standardabweichung	Median	Minimum	Maximum	
11	38	41,42	28,66	37,25	0,00	94,87	
12	81	45,46	26,35	44,44	0,00	100,00	
22	33	49,68	27,94	48,89	4,55	100,00	
Insgesamt	152	45,37	27,25	42,13	0,00	100,00	

Tabelle 9: Blutung auf Sondierung (%) * TAS2R38 (GTA=1, CCG=2, GCG=3, CTA=4, GTG=5)

Blutung auf Sondierung (%)							
CCG=2, GCG=3, CTA=4, GTG=5)							
	N	Mittelwert	Standardabweichung	Median	Minimum	Maximum	
11	45	51,10	27,10	58,06	5,38	100,00	
12	68	43,46	27,85	40,28	0,00	100,00	
13	5	35,71	33,66	24,24	9,52	92,86	
14	1	12,64		12,64	12,64	12,64	
22	27	42,03	23,43	41,67	0,00	80,86	
23	3	40,94	33,63	26,00	17,36	79,44	
25	1	70,97		70,97	70,97	70,97	
33	2	60,44	44,94	60,44	28,67	92,22	
Insgesamt	152	45,37	27,25	42,13	0,00	100,00	

Tabelle 10: Blutung auf Sondierung (%) * ApoE (TT=2, TC=3, CC=4)

Blutung auf Sondierung (%)							
ApoE (TT=2, TC=3, CC=4)							
	N	Mittelwert	Standardabweichung	Median	Minimum	Maximum	
23	22	45,68	27,65	40,28	4,55	94,44	
24	3	43,19	12,92	48,89	28,40	52,27	
33	90	43,42	26,05	41,49	0,00	100,00	
34	30	48,34	29,65	42,95	5,26	100,00	
44	7	57,63	36,90	70,24	4,32	100,00	
Insgesamt	152	45,37	27,25	42,13	0,00	100,00	

Tabelle 11: Blutung auf Sondierung (%) * SLC (C=1, T=2)

Blutung auf Sondierung (%)							
SLC (C=1, T=2)	N	Mittelwert	Standardabweichung	Median	Minimum	Maximum	
11	70	46,82	27,85	46,55	0,00	100,00	
12	67	43,56	25,37	41,67	0,00	92,22	
22	15	46,63	33,54	32,67	8,05	100,00	
Insgesamt	152	45,37	27,25	42,13	0,00	100,00	

Tabelle 12: Blutung auf Sondierung (%) * LP (T=1, C=2)

Blutung auf Sondierung (%)							
LP (T=1, C=2)	N	Mittelwert	Standardabweichung	Median	Minimum	Maximum	
11	55	42,48	27,78	41,30	3,21	100,00	
12	64	49,00	27,08	44,57	0,00	100,00	
22	33	43,14	26,67	46,43	0,00	87,50	
Insgesamt	152	45,37	27,25	42,13	0,00	100,00	

- **Mikrobiologische Daten**

Tabelle 13: PCR.Aa PCR.Pg PCR.Ec PCR.Pi PCR.Pn PCR.Bf PCR.Td PCR.Sm/Si * TAS2R43 (T=1, C=2)

TAS2R43 (T=1, C=2)		PCR.Aa	PCR.Pg	PCR.Ec	PCR.Pi	PCR.Pn	PCR.Bf	PCR.Td	PCR.Sm/Si
11	N	69	69	69	69	69	69	69	69
	Anzahl (absolut)	15	48	53	39	56	65	51	22
	Anzahl (relativ)	21,7%	69,6%	76,8%	56,5%	81,2%	94,2%	73,9%	31,9%
12	N	62	62	62	62	62	62	62	62
	Anzahl (absolut)	13	43	53	37	48	57	49	18
	Anzahl (relativ)	21,0%	69,4%	85,5%	59,7%	77,4%	91,9%	79,0%	29,0%
22	N	21	21	21	21	21	21	21	21
	Anzahl (absolut)	4	10	13	11	15	16	11	7
	Anzahl (relativ)	19,0%	47,6%	61,9%	52,4%	71,4%	76,2%	52,4%	33,3%

Tabelle 14: PCR.Aa PCR.Pg PCR.Ec PCR.Pi PCR.Pn PCR.Bf PCR.Td PCR.Sm/Si * TAS2R19 (A=1, G=2)

TAS2R19 (A=1, G=2)		PCR.Aa	PCR.Pg	PCR.Ec	PCR.Pi	PCR.Pn	PCR.Bf	PCR.Td	PCR.Sm/Si
11	N	38	38	38	38	38	38	38	38
	Anzahl (absolut)	9	28	27	21	33	35	27	12
	Anzahl (relativ)	23,7%	73,7%	71,1%	55,3%	86,8%	92,1%	71,1%	31,6%
12	N	81	81	81	81	81	81	81	81
	Anzahl (absolut)	17	53	67	47	60	76	62	27
	Anzahl (relativ)	21,0%	65,4%	82,7%	58,0%	74,1%	93,8%	76,5%	33,3%
22	N	33	33	33	33	33	33	33	33
	Anzahl (absolut)	6	20	25	19	26	27	22	8
	Anzahl (relativ)	18,2%	60,6%	75,8%	57,6%	78,8%	81,8%	66,7%	24,2%

Tabelle 15: PCR.Aa PCR.Pg PCR.Ec PCR.Pi PCR.Pn PCR.Bf PCR.Td PCR.Sm/Si * TAS2R38 (GTA=1, CCG=2, GCG=3, CTA=4, GTG=5)

TAS2R38 (GTA=1, CCG=2, GCG=3, CTA=4, GTG=5)		PCR.Aa	PCR.Pg	PCR.Ec	PCR.Pi	PCR.Pn	PCR.Bf	PCR.Td	PCR.Sm/Si
11	N	45	45	45	45	45	45	45	45
	Anzahl (absolut)	12	30	38	29	38	43	34	17
	Anzahl (relativ)	26,7%	66,7%	84,4%	64,4%	84,4%	95,6%	75,6%	37,8%
12	N	68	68	68	68	68	68	68	68
	Anzahl (absolut)	12	48	56	38	55	60	53	19
	Anzahl (relativ)	17,6%	70,6%	82,4%	55,9%	80,9%	88,2%	77,9%	27,9%
13	N	5	5	5	5	5	5	5	5
	Anzahl (absolut)	0	3	2	0	3	4	3	0
	Anzahl (relativ)	0,0%	60,0%	40,0%	0,0%	60,0%	80,0%	60,0%	0,0%
14	N	1	1	1	1	1	1	1	1
	Anzahl (absolut)	0	0	1	0	0	1	0	0
	Anzahl (relativ)	0,0%	0,0%	100,0%	0,0%	0,0%	100,0%	0,0%	0,0%
22	N	27	27	27	27	27	27	27	27
	Anzahl (absolut)	6	15	20	17	18	24	18	9
	Anzahl (relativ)	22,2%	55,6%	74,1%	63,0%	66,7%	88,9%	66,7%	33,3%
23	N	3	3	3	3	3	3	3	3
	Anzahl (absolut)	1	2	1	1	2	3	1	1
	Anzahl (relativ)	33,3%	66,7%	33,3%	33,3%	66,7%	100,0%	33,3%	33,3%
25	N	1	1	1	1	1	1	1	1
	Anzahl (absolut)	0	1	1	1	1	1	1	0
	Anzahl (relativ)	0,0%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	0,0%
33	N	2	2	2	2	2	2	2	2
	Anzahl (absolut)	1	2	0	1	2	2	1	1
	Anzahl (relativ)	50,0%	100,0%	0,0%	50,0%	100,0%	100,0%	50,0%	50,0%
Insgesamt	N	152	152	152	152	152	152	152	152
	Anzahl (absolut)	32	101	119	87	119	138	111	47
	Anzahl (relativ)	21,1%	66,4%	78,3%	57,2%	78,3%	90,8%	73,0%	30,9%

Tabelle 16: PCR.Aa PCR.Pg PCR.Ec PCR.Pi PCR.Pn PCR.Bf PCR.Td PCR.Sm/Si * ApoE (TT=2, TC=3, CC=4)

ApoE (TT=2, TC=3, CC=4)		PCR.Aa	PCR.Pg	PCR.Ec	PCR.Pi	PCR.Pn	PCR.Bf	PCR.Td	PCR.Sm/Si
23	N	22	22	22	22	22	22	22	22
	Anzahl (absolut)	5	16	16	13	17	20	14	10
	Anzahl (relativ)	22,7%	72,7%	72,7%	59,1%	77,3%	90,9%	63,6%	45,5%
24	N	3	3	3	3	3	3	3	3
	Anzahl (absolut)	0	2	3	2	3	3	3	1
	Anzahl (relativ)	0,0%	66,7%	100,0%	66,7%	100,0%	100,0%	100,0%	33,3%
33	N	90	90	90	90	90	90	90	90
	Anzahl (absolut)	23	60	71	55	72	86	68	27
	Anzahl (relativ)	25,6%	66,7%	78,9%	61,1%	80,0%	95,6%	75,6%	30,0%
34	N	30	30	30	30	30	30	30	30
	Anzahl (absolut)	3	18	24	14	23	24	21	7
	Anzahl (relativ)	10,0%	60,0%	80,0%	46,7%	76,7%	80,0%	70,0%	23,3%
44	N	7	7	7	7	7	7	7	7
	Anzahl (absolut)	1	5	5	3	4	5	5	2
	Anzahl (relativ)	14,3%	71,4%	71,4%	42,9%	57,1%	71,4%	71,4%	28,6%

Tabelle 17: PCR.Aa PCR.Pg PCR.Ec PCR.Pi PCR.Pn PCR.Bf PCR.Td PCR.Sm/Si * SLC (C=1, T=2)

SLC (C=1, T=2)		PCR.Aa	PCR.Pg	PCR.Ec	PCR.Pi	PCR.Pn	PCR.Bf	PCR.Td	PCR.Sm/Si
11	N	70	70	70	70	70	70	70	70
	Anzahl (absolut)	14	52	58	42	56	65	53	23
	Anzahl (relativ)	20,0%	74,3%	82,9%	60,0%	80,0%	92,9%	75,7%	32,9%
12	N	67	67	67	67	67	67	67	67
	Anzahl (absolut)	14	41	49	37	51	62	47	21
	Anzahl (relativ)	20,9%	61,2%	73,1%	55,2%	76,1%	92,5%	70,1%	31,3%
22	N	15	15	15	15	15	15	15	15
	Anzahl (absolut)	4	8	12	8	12	11	11	3
	Anzahl (relativ)	26,7%	53,3%	80,0%	53,3%	80,0%	73,3%	73,3%	20,0%

Tabelle 18: PCR.Aa PCR.Pg PCR.Ec PCR.Pi PCR.Pn PCR.Bf PCR.Td PCR.Sm/Si * LP (T=1, C=2)

LP (T=1, C=2)		PCR.Aa	PCR.Pg	PCR.Ec	PCR.Pi	PCR.Pn	PCR.Bf	PCR.Td	PCR.Sm/Si
11	N	55	55	55	55	55	55	55	55
	Anzahl (absolut)	9	34	43	29	43	50	41	13
	Anzahl (relativ)	16,4%	61,8%	78,2%	52,7%	78,2%	90,9%	74,5%	23,6%
12	N	64	64	64	64	64	64	64	64
	Anzahl (absolut)	14	47	52	39	49	59	45	21
	Anzahl (relativ)	21,9%	73,4%	81,3%	60,9%	76,6%	92,2%	70,3%	32,8%
22	N	33	33	33	33	33	33	33	33
	Anzahl (absolut)	9	20	24	19	27	29	25	13
	Anzahl (relativ)	27,3%	60,6%	72,7%	57,6%	81,8%	87,9%	75,8%	39,4%

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

A	Adenin
Aa	Aggregatibacter actinomycetemcomitans
Abb.	Abbildung
Ala	Alanin
ApoE	Apolipoprotein E
ApoER	Apolipoprotein-E-Rezeptor
Arg	Arginin
bp	Basenpaar
Bf	Bacteroides forsythus (neu: Tannerella forsythia)
C	Cytosin
CAL	Clinical Attachment Loss (Klinischer Attachement Verlust)
Cys	Cystein
DNA	Desoxyribonukleinsäure
dNTP	Desoxyribonukleosidtriphosphate
Ec	Eikenella corrodens
G	Guanin
HDL	High Density Lipoprotein
IDZ	Institut der Deutschen Zahnärzte
IP	Individual Prophylaxe
IIE	Isoleucin
LCT	Laktasegen
LDL	Low Density Lipoprotein
LP	Laktosetoleranz (lactase persistence)
LNP	Laktoseintoleranz (lactase non persistence)
NaCl	Natriumchlorid

NCBI	National Center of Biotechnology Information
PCR	polymerase chain reaction (Polymerase-Kettenreaktion)
Pg	Porphyromonas gingivalis
PGE₂	Prostaglandin E ₂
Pi	Prevotella intermedia
Pn	Prevotella nigrescens
Pro	Prolin
PROP	Propylthiouracil
PSI	Parodontaler Screening Index
PTC	Phenylthiocarbamide
PZR	Professionelle Zahnreinigung
ROS	Reaktive Sauerstoffspezies
Sm/Si	Streptococcs mitis
T	Thymin
Taq	<i>Thermophilus aquaticus</i>
Td	Treponema denticola
SNP	Single nucleotide Polymorphism
UKD	Universitätsklinikum Düsseldorf
Val	Valin
VLDL	Very Low Density Lipoprotein
VLDL-R	Very Low Density Lipoprotein Receptor
ZnT-8	Zink Transporter acht

Literaturverzeichnis

1. Eike Glockmann K-DP, Peggy Huhn, Bernd W. Sigusch, Karen Glockmann, . Ursachen des Zahnverlustes in Deutschland – Dokumentation einer bundesweiten Erhebung INSTITUTE OF GERMAN DENTISTS (IDZ). 2007.
2. PD Dr. A. Rainer Jordan WdI, Abteilung Presse- und Öffentlichkeitsarbeit der KZBV, Abteilung Presse- und Öffentlichkeitsarbeit der BZÄK. Fünfte Deutsche Mundgesundheitsstudie (DMS V) – Kurzfassung. 2016 August 2016.
3. Renate Deinzer WM, Nicole Granrath, Thomas Hoffmann Parodontitisrelevantes Wissen in der Bevölkerung der Bundesrepublik Deutschland – Ergebnisse einer Repräsentativerhebung. 2008.
4. Beikler T. DNA-Nachweis parodontopathogener Markerkeime. Poliklinik für Zahnerhaltung und Endodontologie: Universitätsklinikum Düsseldorf.
5. E. Hellwig JK, T. Attin. Einführung in die Zahnerhaltung: Deutscher Zahnärzte Verlag; 1995.
6. Ximenez-Fyvie LA, Haffajee AD, Socransky SS. Comparison of the microbiota of supra- and subgingival plaque in health and periodontitis. *Journal of clinical periodontology*. 2000;27(9):648-57.
7. Heidemann D. Parodontologie. Elsevier Urban und Fischer 2005.
8. Gemmell E, Marshall RI, Seymour GJ. Cytokines and prostaglandins in immune homeostasis and tissue destruction in periodontal disease. *Periodontology* 2000. 1997;14:112-43.
9. Breivik T, Thrane PS, Murison R, Gjermo P. Emotional stress effects on immunity, gingivitis and periodontitis. *European journal of oral sciences*. 1996;104(4 (Pt 1)):327-34.
10. Pitchika V, Thiering E, Metz I, Rothmaier K, Willenberg A, Hickel R, et al. Gingivitis and lifestyle influences on hs-CRP and IL6 in adolescents. *Journal of clinical periodontology*. 2016.
11. Jepsen S, Kebschull M, Deschner J. [Relationship between periodontitis and systemic diseases]. *Bundesgesundheitsblatt, Gesundheitsforschung, Gesundheitsschutz*. 2011;54(9):1089-96.
12. Butler JH. A familial pattern of juvenile periodontitis (periodontosis). *Journal of periodontology*. 1969;40(2):115-8.
13. Hassell TM, Harris EL. Genetic influences in caries and periodontal diseases. *Critical Reviews in Oral Biology & Medicine*. 1995;6(4):319-42.
14. Davanian H, Stranneheim H, Bage T, Lagervall M, Jansson L, Lundeberg J, et al. Gene expression profiles in paired gingival biopsies from periodontitis-affected and healthy tissues revealed by massively parallel sequencing. *PloS one*. 2012;7(9):e46440.
15. Nunn ME. Understanding the etiology of periodontitis: an overview of periodontal risk factors. *Periodontology* 2000. 2003;32:11-23.
16. Schenkein HA. Finding genetic risk factors for periodontal diseases: is the climb worth the view? *Periodontology* 2000. 2002;30:79-90.
17. Jimenez M, Krall EA, Garcia RI, Vokonas PS, Dietrich T. Periodontitis and incidence of cerebrovascular disease in men. *Annals of neurology*. 2009;66(4):505-12.
18. Mattila KJ, Nieminen MS, Valtonen VV, Rasi VP, Kesaniemi YA, Syrjala SL, et al. Association between dental health and acute myocardial infarction. *BMJ (Clinical research ed)*. 1989;298(6676):779-81.
19. Janket SJ, Wightman A, Baird AE, Van Dyke TE, Jones JA. Does periodontal treatment improve glycemic control in diabetic patients? A meta-analysis of intervention studies. *Journal of dental research*. 2005;84(12):1154-9.

20. Armitage GC, Wu Y, Wang H-Y, Sorrell J, di Giovine FS, Duff GW. Low prevalence of a periodontitis-associated interleukin-1 composite genotype in individuals of Chinese heritage. *Journal of periodontology*. 2000;71(2):164-71.
21. Bollen CM, Quirynen M. Microbiological response to mechanical treatment in combination with adjunctive therapy. A review of the literature. *Journal of periodontology*. 1996;67(11):1143-58.
22. Genco RJ. Current view of risk factors for periodontal diseases. *Journal of periodontology*. 1996;67(10 Suppl):1041-9.
23. Wolfgang Micheelis US, Thomas Hoffmann, Mike John, Thomas Kerschbaum, Wolfgang Micheelis, Peter Potthoff, Elmar Reich, Ursula Reis, Florian Reiter, Ulrich Schiffner, Ernst Schroeder. Vierte Deutsche Mundgesundheitsstudie (DMS IV) 2005.
24. Sampson C. Is routine dental prophylaxis effective? *Evidence-based dentistry*. 2010;11(1):16-7.
25. Lamont T. No differences in gingival health associated outcomes following single-visit scale and polish. *Evidence-based dentistry*. 2012;13(4):114.
26. Thomas Schneller WM, Jörg Hendriks. Individualprophylaxe bei Erwachsenen – Erfahrungen, Problemsichten und Perspektiven bei niedergelassenen Zahnärzten in Deutschland –. INSTITUTE OF GERMAN DENTISTS (IDZ). 2001.
27. H. Daniel UK. Nutrigenomik: Neue methodische Ansätze in der experimentiellen Ernährungsforschung. Biofunktionalität der Lebensmittelinhaltsstoffe Springer Spektrum: Prof. Dr. D Haller, Prof. Dr. G. Rimbach, Prof. Dr. T. Grune; 2013. p. 18.
28. Groppo FC, Bergamaschi Cde C, Cogo K, Franz-Montan M, Motta RH, de Andrade ED. Use of phytotherapy in dentistry. *Phytotherapy research : PTR*. 2008;22(8):993-8.
29. Bundesgesundheitsbl-Gesundheitsforsch-Gesundheitsschutz. Genetische Polymorphismen (Sequenzvariationen) von Fremdstoff-metabolisierenden Enzymen und ihre Bedeutung in der Umweltmedizin. 47. Springer Medizin Verlag 2004. p. 1115-23.
30. Pirastu N, Kooyman M, Traglia M, Robino A, Willems SM, Pistis G, et al. Association analysis of bitter receptor genes in five isolated populations identifies a significant correlation between TAS2R43 variants and coffee liking. *PloS one*. 2014;9(3):e92065.
31. (NCBI) NCfBI. US National Library of Medicine.dbSNP.
32. Kamagata-Kiyoura Y, Ohta M, Cheuk G, Yazdani M, Saltzman MJ, Nakamoto T. Combined effects of caffeine and prostaglandin E2 on the proliferation of osteoblast-like cells (UMR106-01). *Journal of periodontology*. 1999;70(3):283-8.
33. Kleemola P, Jousilahti P, Pietinen P, Vartiainen E, Tuomilehto J. Coffee consumption and the risk of coronary heart disease and death. *Archives of internal medicine*. 2000;160(22):3393-400.
34. Umemura T, Ueda K, Nishioka K, Hidaka T, Takemoto H, Nakamura S, et al. Effects of acute administration of caffeine on vascular function. *The American journal of cardiology*. 2006;98(11):1538-41.
35. van Dam RM, Feskens EJ. Coffee consumption and risk of type 2 diabetes mellitus. *Lancet (London, England)*. 2002;360(9344):1477-8.
36. Iso H, Date C, Wakai K, Fukui M, Tamakoshi A. The relationship between green tea and total caffeine intake and risk for self-reported type 2 diabetes among Japanese adults. *Annals of internal medicine*. 2006;144(8):554-62.
37. Bezerra JP, de Siqueira A, Pires AG, Marques MR, Duarte PM, Bastos MF. Effects of estrogen deficiency and/or caffeine intake on alveolar bone loss, density, and healing: a study in rats. *Journal of periodontology*. 2013;84(6):839-49.
38. Machida T, Tomofuji T, Ekuni D, Azuma T, Takeuchi N, Maruyama T, et al. Severe periodontitis is inversely associated with coffee consumption in the maintenance phase of periodontal treatment. *Nutrients*. 2014;6(10):4476-90.

39. Kushiya M, Shimazaki Y, Murakami M, Yamashita Y. Relationship between intake of green tea and periodontal disease. *J Periodontol*. 2009;80(3):372-7.
40. Maruyama T, Tomofuji T, Endo Y, Irie K, Azuma T, Ekuni D, et al. Supplementation of green tea catechins in dentifrices suppresses gingival oxidative stress and periodontal inflammation. *Archives of oral biology*. 2011;56(1):48-53.
41. Sakanaka S, Aizawa M, Kim M, Yamamoto T. Inhibitory effects of green tea polyphenols on growth and cellular adherence of an oral bacterium, *Porphyromonas gingivalis*. *Bioscience, biotechnology, and biochemistry*. 1996;60(5):745-9.
42. Devlin H, Sloan P. Early bone healing events in the human extraction socket. *International journal of oral and maxillofacial surgery*. 2002;31(6):641-5.
43. Macedo RM, Brentegani LG, Lacerda SA. Effects of coffee intake and intraperitoneal caffeine on bone repair process--a histologic and histometric study. *Brazilian dental journal*. 2015;26(2):175-80.
44. Hayes JE, Wallace MR, Knopik VS, Herbstman DM, Bartoshuk LM, Duffy VB. Allelic variation in TAS2R bitter receptor genes associates with variation in sensations from and ingestive behaviors toward common bitter beverages in adults. *Chemical senses*. 2011;36(3):311-9.
45. Reed DR, Zhu G, Breslin PA, Duke FF, Henders AK, Campbell MJ, et al. The perception of quinine taste intensity is associated with common genetic variants in a bitter receptor cluster on chromosome 12. *Human molecular genetics*. 2010;19(21):4278-85.
46. Halliwell B. Free radicals, antioxidants, and human disease: curiosity, cause, or consequence? *Lancet (London, England)*. 1994;344(8924):721-4.
47. Chapple IL, Matthews JB. The role of reactive oxygen and antioxidant species in periodontal tissue destruction. *Periodontology 2000*. 2007;43:160-232.
48. Miricescu D, Totan A, Calenic B, Mocanu B, Didilescu A, Mohora M, et al. Salivary biomarkers: relationship between oxidative stress and alveolar bone loss in chronic periodontitis. *Acta odontologica Scandinavica*. 2014;72(1):42-7.
49. Akalin FA, Baltacioglu E, Alver A, Karabulut E. Lipid peroxidation levels and total oxidant status in serum, saliva and gingival crevicular fluid in patients with chronic periodontitis. *Journal of clinical periodontology*. 2007;34(7):558-65.
50. Liu Z, Liu Y, Song Y, Zhang X, Wang S, Wang Z. Systemic oxidative stress biomarkers in chronic periodontitis: a meta-analysis. *Disease markers*. 2014;2014:931083.
51. Trivedi S, Lal N, Mahdi AA, Singh B, Pandey S. Association of salivary lipid peroxidation levels, antioxidant enzymes, and chronic periodontitis. *The International journal of periodontics & restorative dentistry*. 2015;35(2):e14-9.
52. Kiani J, Imam SZ. Medicinal importance of grapefruit juice and its interaction with various drugs. *Nutrition Journal*. 2007;6:33-.
53. Hanley MJ, Cancalon P, Widmer WW, Greenblatt DJ. The effect of grapefruit juice on drug disposition. *Expert opinion on drug metabolism & toxicology*. 2011;7(3):267-86.
54. Behrens M, Gunn HC, Ramos PC, Meyerhof W, Wooding SP. Genetic, functional, and phenotypic diversity in TAS2R38-mediated bitter taste perception. *Chemical senses*. 2013;38(6):475-84.
55. Bufe B, Breslin PA, Kuhn C, Reed DR, Tharp CD, Slack JP, et al. The molecular basis of individual differences in phenylthiocarbamide and propylthiouracil bitterness perception. *Current biology : CB*. 2005;15(4):322-7.
56. Keller M, Liu X, Wohland T, Rohde K, Gast MT, Stumvoll M, et al. TAS2R38 and its influence on smoking behavior and glucose homeostasis in the German Sorbs. *PloS one*. 2013;8(12):e80512.
57. Sharma K, Kaur GK. PTC bitter taste genetic polymorphism, food choices, physical growth in body height and body fat related traits among adolescent girls from Kangra Valley, Himachal Pradesh (India). *Annals of human biology*. 2014;41(1):29-39.

58. Enoch M-A, Harris C, Goldman D. Does a reduced sensitivity to bitter taste increase the risk of becoming nicotine addicted? *Addictive behaviors*. 2001;26(3):399-404.
59. Aoki M, Takao T, Takao K, Koike F, Suganuma N. Lower expressions of the human bitter taste receptor TAS2R in smokers: reverse transcriptase-polymerase chain reaction analysis. *Tobacco induced diseases*. 2014;12(1):12.
60. H.Daniel UK. *Nutrigenetik: Genetische Varianz und Effekte der Ernährung. Biofunktionalität der Lebensmittelinhaltsstoffe*. Springer Verlag: D.Haller; 2013.
61. Ference BA, Yoo W, Alesh I, Mahajan N, Mirowska KK, Mewada A, et al. Effect of Long-Term Exposure to Lower Low-Density Lipoprotein Cholesterol Beginning Early in Life on the Risk of Coronary Heart Disease. A Mendelian Randomization Analysis. 2012;60(25):2631-9.
62. Després J-P, Lemieux I, Dagenais G-R, Cantin B, Lamarche Bt. HDL-cholesterol as a marker of coronary heart disease risk: the Quebec cardiovascular study. *Atherosclerosis*. 2000;153(2):263-72.
63. Chou CY, Jen WP, Hsieh YH, Shiao MS, Chang GG. Structural and functional variations in human apolipoprotein E3 and E4. *The Journal of biological chemistry*. 2006;281(19):13333-44.
64. Meyer MR, Tschanz JT, Norton MC, Welsh-Bohmer KA, Steffens DC, Wyse BW, et al. APOE genotype predicts when—not whether—one is predisposed to develop Alzheimer disease. *Nature genetics*. 1998;19(4):321-2.
65. Reger MA, Watson GS, Frey Ii WH, Baker LD, Cholerton B, Keeling ML, et al. Effects of intranasal insulin on cognition in memory-impaired older adults: Modulation by APOE genotype. *Neurobiology of Aging*. 2006;27(3):451-8.
66. Peila R, Rodriguez BL, Launer LJ. Type 2 diabetes, APOE gene, and the risk for dementia and related pathologies. *Diabetes*. 2002;51(4):1256-62.
67. Rebeck GW, Kindy M, LaDu MJ. Apolipoprotein E and Alzheimer's disease: the protective effects of ApoE2 and E3. *Journal of Alzheimer's disease : JAD*. 2002;4(3):145-54.
68. Chistiakov DA, Orekhov AN, Bobryshev YV. Links between atherosclerotic and periodontal disease. *Experimental and Molecular Pathology*. 2016;100(1):220-35.
69. Tonetti MS, Van Dyke TE. Periodontitis and atherosclerotic cardiovascular disease: consensus report of the Joint EFP/AAP Workshop on Periodontitis and Systemic Diseases. *Journal of periodontology*. 2013;84(4 Suppl):S24-9.
70. Harris HW, Gosnell JE, Kumwenda ZL. The lipemia of sepsis: triglyceride-rich lipoproteins as agents of innate immunity. *Journal of endotoxin research*. 2000;6(6):421-30.
71. Kattan OM, Kasravi FB, Elford EL, Schell MT, Harris HW. Apolipoprotein E-mediated immune regulation in sepsis. *Journal of immunology (Baltimore, Md : 1950)*. 2008;181(2):1399-408.
72. Baitsch D, Bock HH, Engel T, Telgmann R, Muller-Tidow C, Varga G, et al. Apolipoprotein E induces antiinflammatory phenotype in macrophages. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*. 2011;31(5):1160-8.
73. Dobson CB, Sales SD, Hoggard P, Wozniak MA, Crutcher KA. The receptor-binding region of human apolipoprotein E has direct anti-infective activity. *The Journal of infectious diseases*. 2006;193(3):442-50.
74. Gao H, Tian Y, Meng H, Hou J, Xu L, Zhang L, et al. Associations of apolipoprotein E and low-density lipoprotein receptor-related protein 5 polymorphisms with dyslipidemia and generalized aggressive periodontitis in a Chinese population. *Journal of periodontal research*. 2015;50(4):509-18.

75. Fernandes JK, Wiegand RE, Salinas CF, Grossi SG, Sanders JJ, Lopes-Virella MF, et al. Periodontal disease status in gullah african americans with type 2 diabetes living in South Carolina. *Journal of periodontology*. 2009;80(7):1062-8.
76. Weinspach K, Staufenbiel I, Memenga-Nicksch S, Ernst S, Geurtsen W, Gunay H. Level of information about the relationship between diabetes mellitus and periodontitis--results from a nationwide diabetes information program. *European journal of medical research*. 2013;18:6.
77. Kaur G, Holtfreter B, Rathmann W, Schwahn C, Wallaschofski H, Schipf S, et al. Association between type 1 and type 2 diabetes with periodontal disease and tooth loss. *Journal of clinical periodontology*. 2009;36(9):765-74.
78. Taylor GW, Borgnakke WS. Periodontal disease: associations with diabetes, glycemic control and complications. *Oral diseases*. 2008;14(3):191-203.
79. Kurth B-M. Erste Ergebnisse aus der „Studie zur Gesundheit Erwachsener in Deutschland“ (DEGS)2013 published on edoc: 2013-06-10T12:18:00Z access: 2017-02-08T18:29:32Z. Available from: <http://edoc.rki.de/docviews/abstract.php?id=3057>
urn:nbn:de:0257-10031449.
80. Kim I, Kang ES, Yim YS, Ko SJ, Jeong SH, Rim JH, et al. A low-risk ZnT-8 allele (W325) for post-transplantation diabetes mellitus is protective against cyclosporin A-induced impairment of insulin secretion. *The pharmacogenomics journal*. 2011;11(3):191-8.
81. Mocchegiani E, Giacconi R, Malavolta M. Zinc signalling and subcellular distribution: emerging targets in type 2 diabetes. *Trends in molecular medicine*. 2008;14(10):419-28.
82. Chimienti F, Devergnas S, Pattou F, Schuit F, Garcia-Cuenca R, Vandewalle B, et al. In vivo expression and functional characterization of the zinc transporter ZnT8 in glucose-induced insulin secretion. *Journal of cell science*. 2006;119(Pt 20):4199-206.
83. Sondergaard LG, Stoltenberg M, Flyvbjerg A, Brock B, Schmitz O, Danscher G, et al. Zinc ions in beta-cells of obese, insulin-resistant, and type 2 diabetic rats traced by autometallography. *APMIS : acta pathologica, microbiologica, et immunologica Scandinavica*. 2003;111(12):1147-54.
84. Mocchegiani E, Giacconi R, Malavolta M. Zinc signalling and subcellular distribution: emerging targets in type 2 diabetes. *Trends in molecular medicine*. 2008;14(10):419-28.
85. Weijers RN. Three-dimensional structure of beta-cell-specific zinc transporter, ZnT-8, predicted from the type 2 diabetes-associated gene variant SLC30A8 R325W. *Diabetology & metabolic syndrome*. 2010;2(1):33.
86. Dang TS, Walker M, Ford D, Valentine RA. Nutrigenomics: the role of nutrients in gene expression. *Periodontology 2000*. 2014;64(1):154-60.
87. Priyadarshini RS, Vijayalakshmi R, Ambalavanan N, Ramakrishnan T, Logaranjani A. Nutrigenomics in periodontics-an overview. *International Journal of Current Research and Review*. 2016;8(1):31.
88. Scharla SH. [Nutritional medicine for the prevention and treatment of osteoporosis]. *Deutsche medizinische Wochenschrift (1946)*. 2003;128(17):946-50.
89. Strohm DD. New Reference Values for Calcium2013 September 14.2013; 63:[186-92 pp.]. Available from: <http://www.karger.com/Article/Pdf/354482>.
90. Stehle P. The Nutrition Report 2012 Summary. *European Journal of Nutrition & Food Safety*. 2012;4:14-62.
91. Lukito W, Malik SG, Surono IS, Wahlqvist ML. From 'lactose intolerance' to 'lactose nutrition'. *Asia Pacific journal of clinical nutrition*. 2015;24 Suppl 1:S1-8.

92. Obermayer-Pietsch BM, Bonelli CM, Walter DE, Kuhn RJ, Fahrleitner-Pammer A, Berghold A, et al. Genetic predisposition for adult lactose intolerance and relation to diet, bone density, and bone fractures. *Journal of bone and mineral research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research*. 2004;19(1):42-7.
93. Di Stefano M, Veneto G, Malservisi S, Cecchetti L, Minguzzi L, Strocchi A, et al. Lactose malabsorption and intolerance and peak bone mass. *Gastroenterology*. 2002;122(7):1793-9.
94. Frippiat C, Zorbo S, Leonard D, Marcotte A, Chaput M, Aelbrecht C, et al. Evaluation of novel forensic DNA storage methodologies. *Forensic science international Genetics*. 2011;5(5):386-92.
95. Mullis KB, Faloona FA. [21] Specific synthesis of DNA in vitro via a polymerase-catalyzed chain reaction. *Methods in Enzymology*. Volume 155: Academic Press; 1987. p. 335-50.
96. Reichert S, Machulla HK, Klapproth J, Zimmermann U, Reichert Y, Glaser C, et al. Interleukin-2 -330 and 166 gene polymorphisms in relation to aggressive or chronic periodontitis and the presence of periodontopathic bacteria. *Journal of periodontal research*. 2009;44(5):628-35.
97. Reichert S, Machulla HK, Klapproth J, Zimmermann U, Reichert Y, Glaser CH, et al. The interleukin-10 promoter haplotype ATA is a putative risk factor for aggressive periodontitis. *Journal of periodontal research*. 2008;43(1):40-7.
98. Kaur G, Grover V, Bhaskar N, Kaur RK, Jain A. Periodontal Infectogenomics. *Inflammation and regeneration*. 2018;38:8.
99. Goncalves PF, Harris TH, Elmariah T, Aukhil I, Wallace MR, Shaddox LM. Genetic polymorphisms and periodontal disease in populations of African descent: A review. *Journal of periodontal research*. 2018;53(2):164-73.
100. Roudnitzky N, Risso D, Drayna D, Behrens M, Meyerhof W, Wooding SP. Copy Number Variation in TAS2R Bitter Taste Receptor Genes: Structure, Origin, and Population Genetics. *Chemical senses*. 2016;41(8):649-59.
101. Hung WL, Suh JH, Wang Y. Chemistry and health effects of furanocoumarins in grapefruit. *Journal of food and drug analysis*. 2017;25(1):71-83.
102. Staudte H, Sigusch BW, Glockmann E. Grapefruit consumption improves vitamin C status in periodontitis patients. *British dental journal*. 2005;199(4):213-7, discussion 0.
103. Chapple ILC, Milward MR, Ling-Mountford N, Weston P, Carter K, Askey K, et al. Adjunctive daily supplementation with encapsulated fruit, vegetable and berry juice powder concentrates and clinical periodontal outcomes: a double-blind RCT. *Journal of clinical periodontology*. 2012;39(1):62-72.
104. Toms TE, Smith JP, Panoulas VF, Blackmore H, Douglas KM, Kitas GD. Apolipoprotein E gene polymorphisms are strong predictors of inflammation and dyslipidemia in rheumatoid arthritis. *The Journal of rheumatology*. 2012;39(2):218-25.
105. Wu S, Hsu LA, Teng MS, Lin JF, Chou HH, Lee MC, et al. Interactive effects of C-reactive protein levels on the association between APOE variants and triglyceride levels in a Taiwanese population. *Lipids in health and disease*. 2016;15:94.
106. Li Z, Del-Aguila JL, Dube U, Budde J, Martinez R, Black K, et al. Genetic variants associated with Alzheimer's disease confer different cerebral cortex cell-type population structure. *Genome medicine*. 2018;10(1):43.
107. Ding Q, Tanigawa K, Kaneko J, Totsuka M, Katakura Y, Imabayashi E, et al. Anserine/Carnosine Supplementation Preserves Blood Flow in the Prefrontal Brain of Elderly People Carrying APOE e4. *Aging and disease*. 2018;9(3):334-45.
108. Lin YT, Seo J, Gao F, Feldman HM, Wen HL, Penney J, et al. APOE4 Causes Widespread Molecular and Cellular Alterations Associated with Alzheimer's Disease Phenotypes in Human iPSC-Derived Brain Cell Types. *Neuron*. 2018.

109. Xie T, Akbar S, Stathopoulou MG, Oster T, Masson C, Yen FT, et al. Epistatic interaction of apolipoprotein E and lipolysis-stimulated lipoprotein receptor genetic variants is associated with Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging*. 2018.
110. Delange N, Lindsay S, Lemus H, Finlayson TL, Kelley ST, Gottlieb RA. Periodontal disease and its connection to systemic biomarkers of cardiovascular disease in young American Indian/Alaskan natives. *Journal of periodontology*. 2018;89(2):219-27.
111. Bridges RB, Anderson JW, Saxe SR, Gregory K, Bridges SR. Periodontal status of diabetic and non-diabetic men: effects of smoking, glycemic control, and socioeconomic factors. *Journal of periodontology*. 1996;67(11):1185-92.
112. Plessas A, Robertson DP, Hodge PJ. Radiographic bone loss in a Scottish non-smoking Type 1 Diabetes mellitus population; a Bitewing Radiographic Study. *Journal of periodontology*. 2018.
113. Olivarius NF, Beck-Nielsen H, Andreasen AH, Horder M, Pedersen PA. Randomised controlled trial of structured personal care of type 2 diabetes mellitus. *BMJ (Clinical research ed)*. 2001;323(7319):970-5.
114. Stratton IM, Kohner EM, Aldington SJ, Turner RC, Holman RR, Manley SE, et al. UKPDS 50: risk factors for incidence and progression of retinopathy in Type II diabetes over 6 years from diagnosis. *Diabetologia*. 2001;44(2):156-63.
115. Adler AI, Stevens RJ, Manley SE, Bilous RW, Cull CA, Holman RR. Development and progression of nephropathy in type 2 diabetes: the United Kingdom Prospective Diabetes Study (UKPDS 64). *Kidney international*. 2003;63(1):225-32.
116. Kanis JA, Johansson H, Oden A, De Laet C, Johnell O, Eisman JA, et al. A meta-analysis of milk intake and fracture risk: low utility for case finding. *Osteoporosis international : a journal established as result of cooperation between the European Foundation for Osteoporosis and the National Osteoporosis Foundation of the USA*. 2005;16(7):799-804.
117. Feskanich D, Willett WC, Colditz GA. Calcium, vitamin D, milk consumption, and hip fractures: a prospective study among postmenopausal women. *The American journal of clinical nutrition*. 2003;77(2):504-11.
118. Feskanich D, Bischoff-Ferrari HA, Frazier AL, Willett WC. Milk consumption during teenage years and risk of hip fractures in older adults. *JAMA pediatrics*. 2014;168(1):54-60.

Danksagung

Zu großer Dankbarkeit bin ich Herrn Prof. Dr. med. Dr. med. dent. T. Beikler verpflichtet, sowohl für das mir entgegengebrachte Vertrauen beim Überlassen dieses interessanten Dissertationsthemas, als auch für die Freiheit bei der Durchführung und Gestaltung dieser experimentellen Studie.

Mein besonderer Dank gilt ebenfalls Frau Dipl.-Biol. Dr. rer. medic. Ulrike Peters für die exzellente Zusammenarbeit, fachliche Betreuung und ständige Ansprechbarkeit bei auftretenden Fragen.

Für die tatkräftige Unterstützung bei der Ausführung der experimentellen Arbeit und die stetige Hilfsbereitschaft im Labor möchte ich mich ebenso ganz herzlich bei der Medizinisch-Technischen Assistentin Frau Claudia Heier bedanken.

Zudem bedanke ich mich bei meinem Lebensgefährten Julien Schmidt für die ständige Hilfe bei allen computertechnischen Problemen, das Korrekturlesen und seiner tatkräftigen Unterstützung während und nach dem Studium.

Ebenso bedanke ich mich für das Korrekturlesen bei meiner Schwester Carla Damaschin.

Für die großartige Unterstützung sowohl während meines Studiums, als auch bei meinem weiteren beruflichen Werdegang möchte ich mich besonders bei meinen Eltern bedanken.

Daher widme ich ihnen diese Arbeit von ganzem Herzen.

Lebenslauf

Lebenslauf wurde aus datenschutzrechtlichen Gründen entfernt.

Eidesstattliche Versicherung

Ich versichere ausdrücklich, dass ich die Arbeit selbstständig und ohne fremde Hilfe verfasst, andere als die von mir angegebenen Quellen und Hilfsmittel nicht benutzt und die aus den benutzten Werken wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen einzeln nach Ausgabe (Auflage und Jahr des Erscheinens), Band und Seite des benutzten Werkes kenntlich gemacht habe.

Ferner versichere ich, dass ich die Dissertation bisher nicht einem Fachvertreter an einer anderen Hochschule zur Überprüfung vorgelegt oder mich anderweitig um Zulassung zur Promotion beworben habe.

Ich erkläre mich einverstanden, dass meine Dissertation vom Dekanat der Medizinischen Fakultät mit einer gängigen Software zur Erkennung von Plagiaten überprüft werden kann.

Unterschrift:

Laura Damaschin