

Aus der Klinik für Innere Medizin I  
mit den Schwerpunkten Gastroenterologie, Hepatologie, Pneumologie, internistische  
Intensivmedizin, Endokrinologie, Infektiologie, Rheumatologie, Ernährungs- und  
Altersmedizin

(Direktor: Professor Dr. med. S. Schreiber)

im Universitätsklinikum Schleswig-Holstein, Campus Kiel  
an der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel

**Untersuchung der Serumkonzentrationen  
von *secreted frizzled-related protein 5*  
bei Probanden mit Parodontitis  
in der Kieler FoCus-Kohorte**

Inauguraldissertation

zur

Erlangung der Doktowürde der Zahnheilkunde

der Medizinischen Fakultät

der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel

vorgelegt von

**Juliane Schulz**

aus

Mainz

Kiel 2019

1. Berichterstatter:

Prof. Dr. M. Laudes

2. Berichterstatter:

Prof. Dr. Dr. J. Wiltfang

Tag der mündlichen Prüfung

07.01.2020

Zum Druck genehmigt, Kiel, den

12.09.2019

gez.: Prof. Dr. M. Laudes  
(Vorsitzender der Prüfungskommission)

**Meinen Eltern**

# Inhaltsverzeichnis

	Seite
<b>ABBILDUNGSVERZEICHNIS</b>	<b>III</b>
<b>TABELLENVERZEICHNIS</b>	<b>V</b>
<b>ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS</b>	<b>VI</b>
<b>I EINLEITUNG</b>	<b>1</b>
I.1 PARODONTITIS – DIE ENTZÜNDUNG DES ZAHNHALTEAPPARATS	1
I.2 FORMEN DER ENTZÜNDUNG	7
I.3 DAS WNT-SYSTEM	8
I.3.1 Der kanonische Wnt-Signalweg	11
I.3.2 Der nicht-kanonische Wnt-Signalweg	12
I.4 INHIBITOREN DER WNT-SIGNALKASKADEN	15
I.5 ZIELSETZUNG DIESER ARBEIT	18
<b>II MATERIAL UND METHODEN</b>	<b>19</b>
II.1 STUDIENTYP UND STUDIENPOPULATION	19
II.2 BESTIMMUNG VON BLUTPARAMETERN	22
II.2.1 Bestimmung von HOMA-Index, CRP und IL6	22
II.2.2 Bestimmung der sFRP5- und Wnt5a-Level mittels ELISA	23
II.3 POLYMORPHISMEN IN DER FOCUS-KOHORTE	27
II.4 MATERIAL UND VERWENDETE REAGENZIEN	28
II.5 STATISTIK	29
<b>III ERGEBNISSE</b>	<b>30</b>
III.1 CHARAKTERISIERUNG DER FOCUS-KOHORTE	30
III.2 VALIDIERUNG DER UNTERGRUPPEN MIT PARODONTITIS	32
III.3 DIE ENTZÜNDUNGSPARAMETER BEI PARODONTITIS	32
III.4 sFRP5-SERUMSPIEGEL BEI SCHWERER PARODONTITIS SIGNIFIKANT VERRINGERT	33
III.5 UNVERÄNDERTE WNT5A-SERUMLEVEL BEI PARODONTITIS	36
III.6 KEINE VERÄNDERUNG DER WNT5A-/sFRP5-RATIO BEI PARODONTITIS VERGLICHEN	36

---

MIT KONTROLLEN	37
III.7 VERÄNDERTE KORRELATION VON WNT5A- UND sFRP5-SERUMLEVELN BEI PARODONTITIS MIT ZAHNVERLUST	37
III.8 sFRP5- UND WNT5A-SNPs BEI PARODONTITIS	38
III.8.1 Homozygotie des sFRP5-SNPs rs2039826 führt zu niedrigeren sFRP5-Serumwerten	38
III.8.2 Einfluss von Wnt5a-SNPs auf Wnt5a- und sFRP5-Serumlevel	41
III.8.3 Verteilung der Aufttrittshäufigkeiten von Wildtyp, Heterozygotie und Homozygotie der Wnt5a-SNPs	44
<b>IV DISKUSSION</b>	<b>47</b>
IV.1 DIE PARODONTITISTHERAPIE	47
IV.2 GESTÖRTES WNT5A-/sFRP5-SYSTEM BEI SCHWERER PARODONTITIS	50
IV.3 EINFLUSS DES sFRP5-SNP RS2039826 AUF sFRP5-SERUMSPIEGEL	52
IV.4 EINFLUSS DER UNTERSUCHTEN WNT5A-SNPs BEI PROBANDEN MIT PARODONTITIS UND KONTROLLEN	55
IV.5 KRITIK AN DER METHODIK	58
IV.6 FAZIT	60
<b>V ZUSAMMENFASSUNG</b>	<b>62</b>
<b>VI LITERATURVERZEICHNIS</b>	<b>63</b>
<b>VII ANHANG</b>	<b>91</b>

## Abbildungsverzeichnis

	<b>Seite</b>
<b>Abbildung 1:</b> Vereinfachte Skizze der Pathogenese der Parodontitis	<b>3</b>
<b>Abbildung 2:</b> Skizze der Wnt-Signalwege	<b>14</b>
<b>Abbildung 3:</b> Wnt5a und sFRP5 in der Metaflammation	<b>16</b>
<b>Abbildung 4:</b> Skizze der Funktionsweise der Sandwich-ELISA.	<b>23</b>
<b>Abbildung 5:</b> Herstellung der Standards in einer Verdünnungsreihe	<b>26</b>
<b>Abbildung 6:</b> Box-Whisker-Plot der sFRP5-Serumlevel der Probanden a) der Parodontitisgruppe ohne Zahnverlust und entsprechenden Kontrollen und b) der Parodontitisgruppe mit Zahnverlust und Kontrollen.	<b>34</b>
<b>Abbildung 7:</b> Box-Whisker-Plot der sFRP5-Serumlevel der Probanden der Parodontitisgruppe ohne Zahnverlust und der Parodontitisgruppe mit Zahnverlust	<b>35</b>
<b>Abbildung 8:</b> Box-Whisker-Plot der Wnt5a-Serumlevel a) von Probanden der Parodontitisgruppe und Kontrollen ohne Zahnverlust sowie b) von Probanden mit Parodontitis mit Zahnverlust und entsprechenden Kontrollen	<b>36</b>

---

<b>Abbildung 9:</b>	Korrelationsanalyse der Serumlevel von Wnt5a und sFRP5 a) Kontrollen, b) Probanden mit Parodontitis ohne Zahnverlust und c) Probanden mit Parodontitis und Zahnverlust	<b>38</b>
<b>Abbildung 10:</b>	Box-Whisker-Plot der sFRP5-Serumlevel bei Vorliegen des SNPs rs2039826 als Wildtyp oder hetero- bzw. homozygot verändert	<b>39</b>
<b>Abbildung 11:</b>	Box-Whisker-Plot der Wnt5a-Serumlevel bei Vorliegen des SNPs rs2039826 als Wildtyp oder hetero- bzw. homozygot verändert	<b>39</b>
<b>Abbildung 12:</b>	Mosaicplots der relativen Häufigkeiten des SNPs rs2039826 in der FoCus-Kohorte a) aller Probanden mit Parodontitis und allen Kontrollen b) der Probanden mit Parodontitis ohne Zahnverlust und ihren gematchten Kontrollen und c) der Gruppe mit Parodontitis und Zahnverlust sowie mit gematchten Kontrollen	<b>40</b>
<b>Abbildung 13:</b>	Box-Whisker-Plot der Wnt5a-Serumlevel bei Vorliegen von SNPs rs1829556 als Wildtyp oder hetero- bzw. homozygot verändert.	<b>42</b>
<b>Abbildung 14:</b>	Box-Whisker-Plot der Wnt5a-Serumlevel bei Vorliegen von SNPs rs12497254 als Wildtyp oder hetero- bzw. homozygot verändert	<b>43</b>
<b>Abbildung 15:</b>	Mosaicplot der relativen Häufigkeiten des SNPs rs1795651 in der Parodontitisgruppe ohne Zahnverlust und gematchten Kontrollen	<b>46</b>
<b>Abbildung 16:</b>	Übersichtsschema der systematischen Parodontitistherapie	<b>47</b>
<b>Abbildung 17:</b>	Auszug des FoCus-Fragebogens	<b>91</b>

## Tabellenverzeichnis

	Seite
<b>Tabelle 1:</b> Auszug aus Codebook und dazugehöriger Frage der Selbstauskunft im Fragebogen	20
<b>Tabelle 2:</b> Gruppenbildung	20
<b>Tabelle 3:</b> BMI-Gruppen	22
<b>Tabelle 4:</b> Charakterisierung der FoCus-Kohorte	31
a) Vergleich aller Probanden mit Parodontitis und ihren Kontrollen	
b) Vergleich der Probanden mit Parodontitis ohne Zahnverlust und Kontrollen und	
c) Vergleich der Probanden mit Zahnverlust mit entsprechenden Kontrollen	
<b>Tabelle 5:</b> Validierung der Parodontitis Subgruppen ohne und mit Zahnverlust	32
<b>Tabelle 6:</b> Klassische Entzündungsmarker IL6 und CRP in der FoCus-Kohorte	33
a) im Vergleich aller Probanden mit Parodontitis und ihren Kontrollen	
b) im Vergleich der Probanden mit Parodontitis ohne Zahnverlust und Kontrollen und	
c) der Probanden mit Zahnverlust und entsprechenden Kontrollen	
<b>Tabelle 7:</b> a) Wnt5a-Serumlevel und b) sFRP5-Serumlevel bei Vorliegen der SNPs als Wildtyp sowie hetero oder homozygot	41
<b>Tabelle 8:</b> Die Ausprägung der SNPs rs1795651, rs1829556, rs1160057, rs472631, rs557077, rs566926, rs648872, rs7624718 und rs17711589	44f



## Abkürzungsverzeichnis

3'-UTR	<i>Three prime untranslated region</i>
APC	<i>Adenomatous Polyposis Coli gene product</i>
BMI	<i>Body mass index</i>
CaMKII	<i>Calcium/Calmodulin abhängige Proteinkinase II</i>
CRP	<i>C-reaktives-Protein</i>
cv	<i>Coefficient of variation</i>
DAG	<i>Diacylglycerin</i>
dbSNP	<i>Database of single nucleotide polymorphisms</i>
DKK	<i>Dickkopf</i>
DNA	<i>Desoxy-ribonucleic acid</i>
Dvl	<i>Dishevelled</i>
ELISA	<i>Enzyme-linked immunosorbent assay</i>
FoCus	<i>FoodChainPlus</i>
Fz	<i>Frizzled</i>
GSK	<i>Glykogensynthase-Kinase</i>
HbA1c	<i>Glykohämoglobin</i>
HOMA-Index	<i>Homeostasis model assessment index</i>
IL	<i>Interleukin</i>
IP3	<i>Inositol-1,4,5-Triphosphat</i>
JNK	<i>C-Jun N-terminale Kinasen</i>
LRP	<i>Low-density lipoprotein receptor-related protein</i>
mRNA	<i>Messenger ribonucleic acid</i>
miRNA	<i>Micro ribonucleic acid</i>
PCP-Weg	<i>Planar cell polarity-Pathway</i>
PDZ	<i>Psd-95/ discs large/ Z01</i>
PKC	<i>Proteinkinase C</i>
PLC	<i>Phospholipase C</i>
PMN	<i>Polymorphkernige Granulozyten</i>
PPAR $\gamma$	<i>peroxisome proliferator-activated receptor <math>\gamma</math></i>
ROR	<i>Receptor tyrosine kinase-like orphan receptor</i>
sFRP5	<i>Secreted frizzled-related protein 5</i>
Siah2	<i>Seven in absentia homolog 2</i>
SNP	<i>Single nucleotide Polymorphism</i>
TCF/LEF	<i>T-cell factor/ lymphoid enhancer factor</i>
TMB	<i>Tetramethylbenzidin</i>
WHO	<i>World health organization</i>
Wnt	<i>Wingless-related integration site</i>

# I Einleitung

## I.1 Parodontitis – Die Entzündung des Zahnhalteapparats

Als Parodontalerkrankungen werden Erkrankungen des Zahnhalteapparats multikausaler Pathogenese bezeichnet. Zumeist führen hierbei entzündliche Pathomechanismen bakteriellen Ursprungs zu einer maßgeblichen Gewebedestruktion (Mombelli et al. 1991; Wolf et al. 2012, S. 22).

So leiden im Jahr 2016 über die Hälfte der 65- bis 74-Jährigen in Deutschland an vorwiegend entzündlichen Parodontalerkrankungen. Die Fünfte Deutsche Mundgesundheitsstudie stuft fast 20% der Untersuchten als parodontal schwer erkrankt ein. Der größte Anteil der parodontal schwer Erkrankten fiel dabei auf Männer (Cholmakow-Bodechtel 2016). Nicht nur in Deutschland, sondern auch in anderen europäischen Staaten, sind Erkrankungen des Parodonts häufig (König et al. 2010; Petersen 2010; Kassebaum et al. 2014).

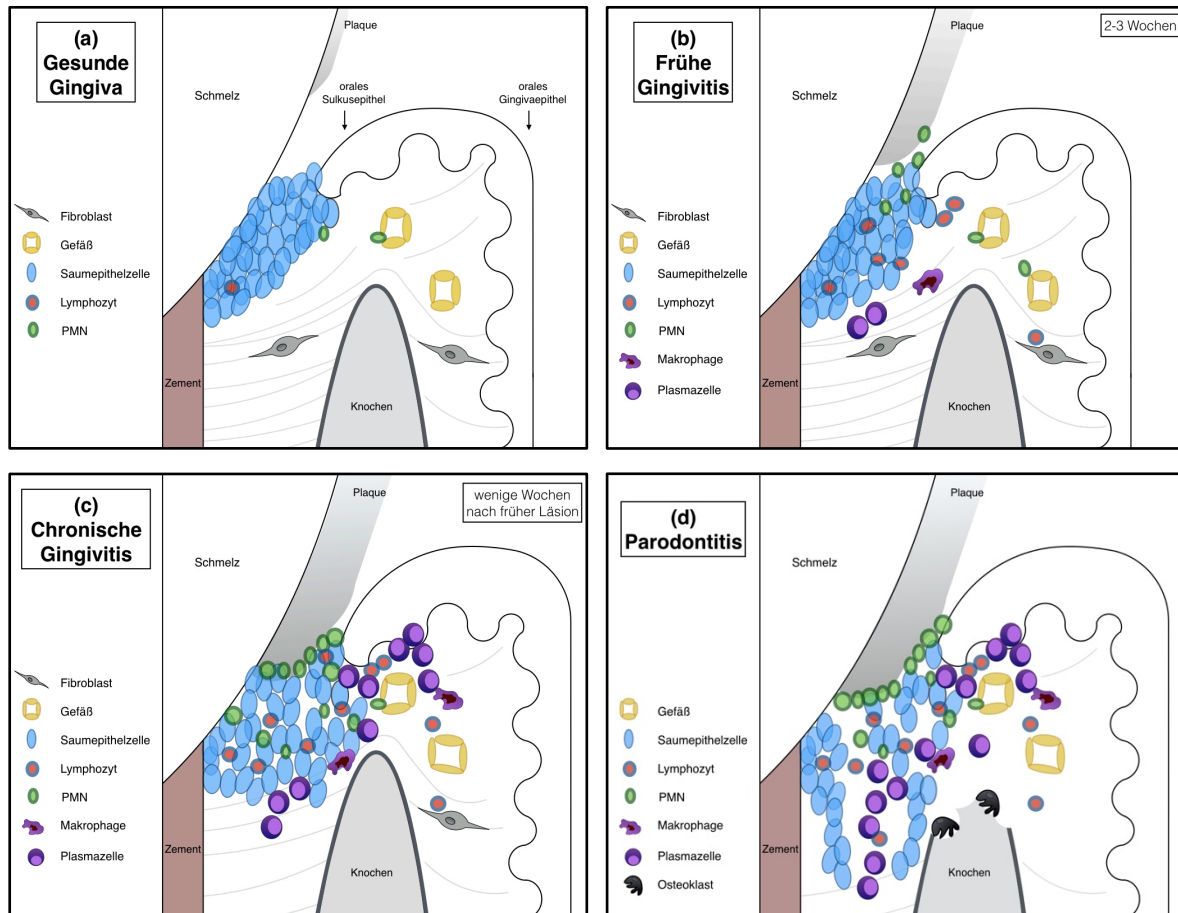
Die Klassifikation der Parodontalerkrankungen ist im Jahr 2018 komplett erneuert worden. Sie wird in *Stages* und *Grades*, eingeteilt und bildet so den individuellen Krankheitsstatus eines Patienten unter Berücksichtigung einzelner Faktoren zur Einteilung des Schweregrades und der Progression der Erkrankung ab (Papapanou et al.).

1997 wurde von Marsh und Bradshaw die Biofilmhypothese entwickelt. Hiernach entsteht die Parodontitis erst, wenn eine entsprechende Menge potenziell pathogener Bakterien den Wirt besiedelt. Diese entstammen entweder dem wirtseigenem oralen Biofilm oder werden im Sinne einer Infektion übertragen (Marsh und Bradshaw 1997). Analog wurde für keimfreie Tiere gezeigt, dass bei diesen keine Entzündungen des Zahnhalteapparates entstehen (Rovin et al. 1966). Allerdings müssen parodontalpathogene Keime nicht zwangsläufig ursächlich für eine Entzündung sein. Vielmehr kann das Milieu in der parodontalen Tasche gute Bedingungen für das Leben der Keime bilden, die so weiter an der Progression der Entzündung beteiligt sind (Mombelli et al. 1991; Darveau 2010). Auch muss die Anzahl und Art der Bakterien nicht zwingend mit der Schwere der Erkrankung korrelieren (Lindhe et al. 1975; Clarke und Hirsch 1995; Kornman et al. 1997; Kornman 2008, S. 200). Wird ein Zahn gesäubert, bildet sich innerhalb von Minuten ein Pellikel aus Proteinen und anderen Speichelbestandteilen. Bakterien assoziieren hier durch physikalische Kräfte. Einige Bakterien sind aufgrund spezieller Oberflächenmoleküle fähig, direkt an

Pellikelbestandteilen zu adhären. Sie werden auch Erstbesiedler genannt. An sie können sich im Verlauf weitere Bakterien anlagern. So entsteht durch die Besiedlung ein Biofilm, der als Gesamtorganismus zu wirken beginnt (Darveau et al. 1997; Costerton et al. 1999; Costerton 1999). Der experimentelle Beweis zur bakteriellen Gingivitisentstehung wurde 1965 erbracht. Wird nach der Feststellung einer gesunden und sauberen Gingiva, die Mundhygiene völlig eingestellt, führt eine supragingivale Mischflora in etwa sieben Tagen zur Gingivitis (Loe et al. 1965). Nach etwa 14 Tagen persistierender Plaque entsteht so eine entzündliche ödematöse Schwellung, die durch die zusätzliche Lockerung des koronaren Saumeithels einen subgingivalen Raum zur Plaqueanlagerung schafft (Hellwig et al. 2013, S. 480). Klinisch können bei der Gingivitis Symptome der akuten Entzündung, wie *Calor* (Überwärmung), *Rubor* (Rötung), *Dolor* (Schmerz), *Tumor* (Schwellung) und *Funktio laesa* (Einschränkung der Funktion) im Sinne einer geröteten, geschwollenen Gingiva mit erhöhter Blutungsneigung festgestellt werden. (Stein 2010, S. 142–143).

Die allgemein gültige Theorie zur Entstehung der Parodontitis nach Page und Schroeder beruht auf der Annahme einer plaquebedingten Entzündung (Page und Schroeder 1976). Sie besagt, dass zunächst eine Gingivitis entsteht, die nach einiger Zeit chronifizieren kann. Histologisch wird die biofilminduzierte gingivale Entzündung in drei Stadien eingeteilt, welche unterschiedliche Phasen aufweisen und langsam, eher chronisch oder aber fulminant verlaufen können (Müller 2012, S. 43–56; Wolf et al. 2012, S. 56–57; Hellwig et al. 2013, S. 478):

- Zuerst entsteht die vollständig reversible, initiale Gingivitis, die auch als physiologische Wirtsantwort auf den permanent gering vorhandenen Biofilm betrachtet wird und somit eine Form der gesunden Gingiva darstellen kann (Abbildung 1a).
- Die frühe Gingivitis entwickelt sich (Abbildung 1b).
- Es entsteht die etablierte oder chronische Gingivitis (Abbildung 1c) aus der sich
- die manifeste Parodontitis (Abbildung 1d) entwickeln kann.



**Abbildung 1a-d:** Vereinfachte Skizze der Pathogenese der Parodontitis. Modifiziert nach Müller 2012; Wolf et al. 2012; Hellwig et al. 2013.

**(a)** Gesunder Zahnhalteapparat. Plaque besteht vorwiegend aus grampositiven, aeroben Bakterien. **(b)** Frühe Gingivitis mit deutlicher Zunahme der Plaque. Endothelaktivierung führt zu vermehrtem Austritt von polymorphkernigen Granulozyten. Deutliches Lymphozyteninfiltrat. **(c)** Chronische Gingivitis. Leukozytenwall begrenzt die Plaque nach subgingival. Auflockerung des Saumepithels. Aufweitung des Sulkus. Vasodilatation der subgingivalen Plexus. Plasmazelldominanz. **(d)** Parodontitis. Weiterhin Plasmazelldominanz. Ulzerationen und Tiefenproliferation des Saumepithels. Resorption des Alveolarknochens. Bindegewebiger Attachmentverlust. Vorwiegend gramnegative, anaerobe Bakterien in der Plaque.

Ob und warum eine Läsion diese Progression zeigt, ist von verschiedenen Faktoren abhängig (Heitz-Mayfield 2005). Verschiedene multifaktorielle Modelle zur Entstehung und Beeinflussung der Parodontitis wurden über die Jahre entwickelt. In einem Modell aus der jüngeren Vergangenheit definierten Page und Kornman verschiedene Einflussebenen und –faktoren auf die Pathogenese der Parodontitis. Ein klinisch manifester Befund entsteht immer aus dem Zusammenspiel der wirtseigenen Art der Beantwortung auf die Anwesenheit des mikrobiellen Komplexes und damit aus diversen Komponenten, die dafür verantwortlich sind, ob und mit welcher Geschwindigkeit die parodontale Erkrankung entsteht oder eine Progression zeigt (Page und Kornman 1997; Kornman 2008).

Es existieren durch den Patienten veränderbare sowie nicht-veränderbare Einflussfaktoren auf die Pathogenese der Parodontalerkrankungen (Borrell und Papapanou 2005).

Patientenseitig veränderbare Einflussfaktoren können allgemeine Umwelt-Faktoren oder erworbene, verhaltensbezogene sein und beeinflussen die Wirtsantwort maßgeblich. Rauchen ist allen voran einer der wichtigsten Risikofaktoren zur Entstehung der Parodontitis (Preber und Bergström 1985; Preber und Bergström 1986; Preber und Bergström 1986; Martinez-Canut et al. 1995; Albandar et al. 2000; Bergström et al. 2000a; Bergström et al. 2000b; Heitz-Mayfield 2005; Bergström 2006). Rauchen verändert die Aktivität von polymorphkernigen neutrophilen Granulozyten, verhindert die Antikörperbildung und verändert den Metabolismus von Knochen und Bindegewebe. Zudem fördert es die Entstehung subgingivaler Anaerobier und ist maßgebend für den Misserfolg der parodontalen Therapien (Ah et al. 1994; Haffajee und Socransky 1994; Müller et al. 2002; Sculean et al. 2005; Bergström 2006). Zudem ist bekannt, dass viele Risikofaktoren gleichermaßen für die Entstehung kardiovaskulärer sowie parodontaler Erkrankungen prädisponieren (Bahekar et al. 2007; Humphrey et al. 2008; Leng et al. 2015; Zeng et al. 2016; Xu et al. 2017). So konnte jüngst sogar gezeigt werden, dass Myokardinfarkte in der Familienhistorie ein Risiko für die Entwicklung von Parodontitiden darstellt (Yu et al. 2018).

Außerdem sind der sozioökonomische Status, das spezifische Mikrobiom und psychischer Stress relevante Einflussfaktoren der Parodontitis (Winkler und Murray 1987; Smith et al. 1995; Robinson et al. 1996; Borrell et al. 2004; Borrell und Papapanou 2005; Borrell et al. 2008; Graetz et al. 2013; Cholmakow-Bodechtel 2016). Auch eine geringe Knochendichte, wie man sie beispielsweise bei postmenopausalen Frauen und bei der renalen Osteopathie findet, steht in Verdacht die Entwicklung der Parodontitis zu beeinflussen (von Wowern et al. 1994; Mohammad et al. 1996; Weyant et al. 1999; Tezal et al. 2000; Yoshihara et al. 2004; Borrell und Papapanou 2005; Yoshihara et al. 2018).

Zudem sind ein starker Zusammenhang zwischen dem Auftreten sowie dem Schweregrad einer Parodontitis und dem Vorliegen eines Typ 2 Diabetes und Übergewicht, also einer systemischen metabolischen Entzündung bekannt (Taylor 2001; Demmer et al. 2008; Khader et al. 2008; Li et al. 2009; Morita et al. 2010; Han et al. 2012; Genco und Borgnakke 2013; Linden et al. 2013; Nibali et al. 2013; Gomes-Filho et al. 2015; Zhu und Hollis 2015; Jaramillo et al. 2016; Kaye et al. 2016; Kumar et al. 2016; Musskopf et al. 2016; Martinez-Herrera et al. 2017; Virto et al. 2017; Suvan et al. 2018). Auch ist bekannt, dass ein schlecht eingestellter Diabetes durch die lokale Imbalance des Immunsystems und ein Ungleichgewicht an Zytokinen sowie durch zellulären Stress zur Exazerbation der Parodontitis führt (Pischon et al. 2007; Taylor et al. 2013; Polak und Shapira 2018). So wurde gezeigt, dass die Erhöhung der Serumwerte eines systemischen Entzündungsmarkers, des C-reaktiven-Proteins (CRP), bei Parodontitispatienten mit einer vermehrten Bildung von glykiertem Hämoglobin (HbA1c) assoziiert und möglicherweise sogar genetisch prädisponiert ist (Paraskevas et al. 2008; Demmer et al. 2010; Teeuw et al. 2014; Teeuw et al. 2015). Ob wiederum die herkömmliche Therapie der Parodontitis zur Besserung des systemischen HbA1c führt, ist umstritten (Simpson et al. 2015).

Ein Mausmodell beschreibt zudem jüngst die Entstehung der Insulinresistenz durch eine direkte Reaktion des adaptiven Immunsystems auf *Porphyromonas gingivalis* Lipopolysaccharide (Blasco-Baque et al. 2017). Auch wurde gezeigt, dass das gleichzeitige Vorliegen des metabolischen Syndroms und einer Parodontitis mit einer erhöhten Mortalität assoziiert ist (Kebede et al. 2017). Jedoch erscheint fraglich, wie die beobachteten Zusammenhänge entstehen und damit, ob die chronische Entzündung im Zahnhalteapparat als Risikofaktor zur Entstehung einer metabolischen Entzündung zu werten ist oder ob es sich gegebenenfalls invers verhält. Denkbar ist auch, dass einzelne, übergeordnete, zurzeit noch nicht bekannte Faktoren einen Einfluss auf die Entstehung beider Erkrankungen nehmen könnten, möglicherweise Faktoren der Wnt-Signalwege (Taylor et al. 2013; Chapple 2014).

Zu den nicht-veränderbaren Einflussfaktoren zählen neben Alter, Geschlecht und Ethnizität auch die genetischen Grundvoraussetzungen (Michalowicz et al. 1991b; Michalowicz et al. 1991a; Corey et al. 1993; Michalowicz et al. 2000; Borrell und Papapanou 2005). So regulieren bestimmte *Single nucleotide polymorphisms* (SNPs) die Konzentration und Funktion von Zytokinen wie Interleukin-1, -4, -6 und -10 und zeigen Assoziationen zur Entstehung, Progression und auch der Heilung der Parodontitis (Kornman et al. 1997, S. 1; Tai et al. 2002; Graves und Cochran 2003; Taylor et al. 2004; Huynh-Ba et al. 2007; Fiebig et al. 2008; Shao et al. 2009; Xiao et al. 2009; Müller 2012; Armingohar et al. 2015; Loos et al. 2015; Loos et al. 2015; Scapoli et al. 2015; Zenobia und Hajishengallis 2015; Kavitha et al. 2016; Ribeiro et al. 2016; Anovazzi et al. 2017). SNPs sind in

mindestens 1% der Bevölkerung beobachtete Variationen, die durch den Austausch nur eines Nukleotids an einer spezifischen Position im Genom die kleinstmögliche genetische Variante darstellen (Ziegler und Koenig 2010). Sie werden oft als Normvarianten angesehen, beeinflussen den Phänotyp nur geringfügig oder gar nicht und sind meist ohne Krankheitswert, können aber so zum Beispiel als genetische Marker fungieren (Bhardwaj et al. 2005; Hasan et al. 2006). Jedoch besteht auch die Möglichkeit, dass in Folge ein so verändertes Protein entsteht, das sich in Form und Funktion wesentlich von seiner ursprünglichen Variante unterscheidet (Roberts und Kennedy 2006). So bestehen bekannte Assoziationen zwischen einer Nukleotidvariante im Gen für den Transkriptionsfaktor *peroxisome proliferator-activated receptor  $\gamma$*  (PPAR $\gamma$ ) und der Entstehung des metabolischen Syndroms (Kao et al. 2003; Robitaille et al. 2003; Majithia et al. 2014). Auch für Plasminogen wurde gezeigt, dass entsprechende SNPs im Verdacht stehen sowohl immunmodulatorisch zu wirken als auch die koronare Herzerkrankung und Parodontalerkrankungen zu begünstigen (Schaefer et al. 2015; Munz et al. 2017b).

Die Analyse der großen Columbia Kohorte zeigte bereits 2013 Hinweise auf eine Dysregulation von Wnt5a sowie sFRP1 und sFRP4 in gingivalen Gewebeproben von Patienten mit einer aggressiven Parodontitis im Gegensatz zu Gewebeproben von Patienten mit chronischer Parodontitis (Kebuschull et al. 2013). In einer genomweiten Assoziationsstudie wurden zudem Assoziationen zwischen schweren Formen der Parodontitis und dem Genlocus für Wnt5a (*wingless-related integration site 5a*) gefunden. In derselben Studie von Divaris et al. wurden Varianten im Gen für Ninein, einem mit der Glykogensynthase-Kinase (GSK) interagierendem Protein, in Zusammenhang mit der Parodontitis beschrieben (Hong et al. 2000b; Hong et al. 2000a; Divaris et al. 2013). Somit könnten genetische Erklärungsansätze in Zukunft dazu dienen, die Wirkung von Genen bzw. Genprodukten auf das metabolische System als auch auf die Parodontitis erklären und somit die beschriebene Assoziation der Erkrankungen weiter erhellen (Bochenek et al. 2013; Schaefer et al. 2014; Schäfer et al. 2015).

Bisher sind wenige bis keine rationale therapeutische Ansätze bekannt, welche die Assoziation des Stoffwechsels und der parodontalen Entzündung berücksichtigen (Mark Bartold und Van Dyke 2017). Die derzeitige moderne, systematische Parodontitistherapie schafft die Voraussetzungen zum Beenden der Destruktion, mit sich anschließender Reparatur der beteiligten Gewebe des Zahnhalteapparats. Erreicht wird dies im Wesentlichen über einen möglichst entzündungsfreien Zahnhalteapparat durch die mechanische Entfernung des pathogenen, lokalen Biofilms. Dafür stehen verschiedene Instrumente, von Handinstrumenten bis hin zu maschinellen Instrumenten zur Verfügung. Die entsprechende Bearbeitung der Wurzeloberfläche kann geschlossen oder aber auch offen, also unter Sicht, durchgeführt werden und eine Weichteilkürettage beinhalten (Wolf et

al. 2012, S. 257, 303). Essenziell ist hierbei nach entsprechender Mundhygieneinstruktion die Compliance des Patienten, ohne die der langfristige Therapieerfolg fraglich bleibt. In Einzelfällen kann zudem eine lokale oder systemische Antibiose gegebenenfalls nach Erstellung eines Antibiogramm bei entsprechend fulminanten Verlauf oder schwierigen lokalen Verhältnissen sinnvoll sein (Wolf et al. 2012, S. 288–291). Auch bestehen therapeutische Möglichkeiten zur chemischen Plaquekontrolle, welche allerdings nur limitiert erfolgsversprechend und/oder einsetzbar sind (Wolf et al. 2012, S. 223, 235).

Um bereits in frühe Stadien der entzündlichen Veränderung des den Zahn umgebenden Gewebes kausal einzugreifen, erscheint die Entwicklung innovativer, personalisierter Strategien sinnvoll. Unter der Berücksichtigung neuer Modelle zur Entstehung und Progression der Parodontitis, müssen Möglichkeiten gesucht werden, die verschiedene Risiken und Einflussfaktoren der Parodontitis berücksichtigen, um so, abgesehen von der bisherigen primär antibakteriell ausgerichteten Parodontistherapie, weitere möglichst präzise Methoden zur Bekämpfung der Volkskrankheit Parodontitis zu finden.

## **I.2 Formen der Entzündung**

Entzündung ist der Ausdruck einer ablaufenden Immunantwort des Körpers auf potentiell schädliche Noxen. Unterschieden werden die akute und die chronische Form der Entzündung. Die akute Entzündung führt bei einem Reiz, durch Pathogene oder Verletzungen, zur Vasodilatation und Permeabilitätssteigerung von Gefäßen sowie zur Aktivierung und Rekrutierung von Immunzellen (Murphy et al. 2012, S. 10–11). Im Gegensatz dazu, ist die chronische Entzündung als Reaktion auf die andauernde Präsenz eines auslösenden Reizes definiert. Sie kann über Jahre hinweg bestehen. Auch hier sind häufig extrinsische Noxen, wie Bakterien oder Viren die originäre Ursache. Die chronische Entzündung führt trotz ständiger Regenerationsversuche des Körpers zu einer dauerhaften Gewebeschädigung (Slonczewski 2012, S. 1023).

Der Stoffwechsel und das Immunsystem sind eng miteinander verknüpft und interagieren auf mannigfaltige Weise (Hotamisligil 2017). Unter Berücksichtigung dieser Tatsache, kann auch eine Klassifizierung vorgenommen werden, welche die Rolle der Stoffwechselstörung in der Entzündung stärker berücksichtigt. Demnach kommt es bei der sogenannten heißen Entzündung zum Zytokinanstieg und zur akuten Entzündung. In der Folge kann dies zu pathologischen Stoffwechselstörungen führen (Calay und Hotamisligil 2013). Liegt eine Art milde oder spezielle chronische Entzündungsform, z. B. als Folge einer veränderten Stoffwechsellage vor, wird diese



auch als kalte Entzündung bezeichnet (Calay und Hotamisligil 2013). Sie kommt beim metabolischen Syndrom vor und beschreibt eine Inflammation ohne Zeichen der Autoimmunität. Auch tritt lediglich ein Teil der klassischen Entzündungszeichen, nämlich *Tumor* und *Funktio laesa*, auf. *Calor*, *Rubor* und *Dolor* werden in diesem Zusammenhang nicht beschrieben (Monteiro und Azevedo 2010). Diese Entzündungsform wird auch Metaflammation genannt und beschreibt somit die immunologische Reaktionen des Körpers auf einen speziellen Stress, nämlich auf die überflüssige Nahrungsenergie (Hotamisligil 2006; Hotamisligil 2017). Auch der Begriff Parainflammation wird in diesem Zusammenhang, häufig sogar synonym zur Metaflammation, benutzt und beschreibt ebenfalls eine Stressreaktion. Gewebe, welche einem Stress ausgesetzt sind, können sich so durch das Bestreben der Wiederherstellung einer Hömöostase, in einer Art Übergangsstadium zur ausgeprägten, klassischen Entzündungsreaktion befinden. Sie steht im Verdacht, mit Übergewicht und Alterung assoziiert zu sein und bei entsprechend assoziierten Erkrankungen, wie der altersbedingten Makuladegeneration vermehrt aufzutreten (Goto 2008; Medzhitov 2008; Chovatiya und Medzhitov 2014; Franceschi und Campisi 2014; Chen und Xu 2015). Ebenso ist bekannt, dass in Folge einer Parainflammation Tumorerkrankungen entstehen können (Aran et al. 2016). Vermutet wird, dass im Gegensatz zur klassischen Entzündungsreaktion, welche primär auf extrinsische Reize reagiert, bei der Parainflammation vielmehr direkte, intrinsische Schädigungen der Zellen, wie zum Beispiel Schäden der DNA (*Desoxy-ribonucleic acid*), zur entzündlichen Reaktion führen (Medzhitov 2008; Pribluda et al. 2013).

Für entzündliche Parodontalerkrankungen sind solche Zusammenhänge nicht vorbeschrieben. Lediglich verschiedene Assoziationen von parainflammatorischen Komponenten, insbesondere des Wnt5a-/sFRP5-Systems, lassen ähnliche Mechanismen auch für Parodontitiden vermuten (Nanbara et al. 2012; Divaris et al. 2013; Lim et al. 2014; Xu et al. 2015; Yu et al. 2015, S. 3; Hu et al. 2016; Lee et al. 2016; Maekawa et al. 2017; Zhou et al. 2017).

### **I.3 Das Wnt-System**

Die Wnt-Signalwege sind hoch konserviert und etwa 650 Millionen Jahre alt. Sie bilden ein System, das der menschliche Körper zur Aufnahme und Regulation von extra- sowie inter- und intrazellulären Signalen besitzt. Es reguliert und moduliert essenzielle Vorgänge, wie die Genexpression und die Entwicklung und Differenzierung von Geweben. Außerdem kommen ihm

wichtige Funktionen in der Ausprägung der Zellmorphologie, -adhäsion und -motilität sowie bei der Kontrolle der Zellproliferation zu (McEwen und Peifer 2000; Teo et al. 2006).

Es steht zudem im Verdacht die Determination mesenchymaler Stammzellen zu beeinflussen. So ist bekannt, dass Wnt-Signale die Differenzierung von multipotenten Stammzellen zu Osteoblasten, Myo- und Chondrozyten fördern, die Differenzierung zu Präadipozyten jedoch hemmen (Ross et al. 2000; Bennett et al. 2003; Kawai et al. 2007; Bilkovski et al. 2010). Auf der anderen Seite ist bekannt, dass Wnt5a, ein spezielles Wnt-Molekül, die Differenzierung parodontaler Stammzellen zu Osteoblasten hemmt und so die unphysiologische Mineralisierung parodontalen Gewebes verhindern könnte (Hasegawa et al. 2018). Zudem wurde bereits gezeigt, dass die Resorption von parodontalem Knochen durch eine den nicht-kanonischen Wnt-Signalweg modulierende Proteinkinase verstärkt werden kann (Uehara et al. 2017).

Wnt-Signale sind an der Entwicklung der kalten Entzündung von Fettgewebe und somit an der Entstehung der Insulinresistenz beteiligt (Bilkovski et al. 2011). Sogar therapeutische Ansätze werden in diesem Zusammenhang bereits diskutiert (Hotamisligil 2017). Insbesondere Wnt5a scheint hierbei essenzielle Rolle zuzukommen (Ouchi et al. 2010; Nemoto et al. 2012; Fuster et al. 2015; Hotamisligil 2017). Zudem werden auch die Homöostase des Knochens und des parodontalen Gewebes mannigfaltig durch Wnt-Signale beeinflusst (Gong et al. 2001; Boyden et al. 2002; Levasseur et al. 2005; Balemans und Van Hul 2007; Yavropoulou und Yovos 2007; Balemans et al. 2008; Nishimura et al. 2008; Peng et al. 2009; Baron und Kneissel 2013; Lim et al. 2014).

Wnt-Moleküle sind glykosilierte und palmitoylierte, cysteinreiche Glykoproteine, die auto- und parakrin auf Zellen wirken können und so Signalkaskaden initiieren und modulieren (Willert et al. 2003; Logan und Nusse 2004; Kurayoshi et al. 2007; Janda und Garcia 2015). In Säugetieren werden mindestens 19 dieser Wnt-Faktoren und zwölf verschiedene Frizzled-Transmembranrezeptoren exprimiert (De 2011). Der Begriff Wnt setzt sich aus zwei Komponenten zusammen. Das „W“ in Wnt steht für das homologe Gen *wingless* in der Fruchtfliege *Drosophila melanogaster*, welches, wie in den 1970er Jahren gezeigt wurde, für die Entwicklung der Flügel von großer Bedeutung ist (Sharma und Chopra 1976; Morata und Lawrence 1977). Das in den 1980ern in der Maus gefundene Gen *Int-1* (heute Wnt-1) ist ein Protoonkogen und spendete die Endung „nt“ in Wnt (Nusse und Varmus 1982; van Ooyen und Nusse 1984). Frühe Erkenntnisse zur Existenz des Wnt-Signalwegs lieferte die spätere Nobelpreisträgerin Nüsslein-Vollhard durch ihre Forschung an *Drosophila*. Sie erkannte, dass Mutationen erhebliche Auswirkungen auf die Polarität und die Segmentanzahl in *Drosophila* haben (Nüsslein-Vollhard und Wieschaus 1980). Die ersten bekannten Komponenten des Wnt-Signalwegs in *Drosophila* waren *Dishevelled* (*Dvl*), *Porcupine* (*porc*), *Armadillo* (*arm*) und

*Zestenhite 3* (zstw3) (Noordermeer et al. 1994; Siegfried et al. 1994). *Zestenhite 3* entspricht der humanen Glykogensynthase-Kinase-3. *Armadillo* ist als das *Drosophila*-Homolog des humanen  $\beta$ -Catenin bekannt und Hauptbestandteil des kanonischen Signalweges (Tolwinski und Wieschaus 2004). Der Begriff *Armadillo* bezeichnet noch heute einen zentralen Bereich von zwölf Wiederholungen aus je 42 Aminosäuren in der Primärstruktur von  $\beta$ -Catenin, die sogenannten *Armadillo*-Wiederholungen (Peifer et al. 1994).

Grundsätzlich werden zwei große Zweige der Wnt-Signaltransduktion unterschieden, der kanonische und der nicht-kanonische Wnt-Signalweg (siehe Abbildung 2 A-B). Beiden Wegen ist gemein, dass sie üblicherweise aktiviert werden, wenn ein extrazelluläres Wnt-Molekül auf einen der zehn Sieben-Transmembran-Rezeptoren der *Frizzled* (Fz)-Familie trifft (Jones und Jomary 2002; Schulte und Bryja 2007). Fz-Rezeptoren sind spezielle G-Protein-gekoppelte Rezeptoren (Liu et al. 2001; Foord et al. 2002; Koval und Katanaev 2011). Der außen sitzende N-Terminus beinhaltet eine cysteinreiche Ligandenbindungs-Domäne. Am intrazellulären Kohlenstoff-Ende sitzt die PDZ (*Psd-95/discs large/Z01*)-Bindungs-Domäne, welche bisher in jedem direkt mit Fz interagierenden Protein nachgewiesen wurde (Schulte und Bryja 2007). Beide Wege entstehen aus der Interaktion einer Vielzahl von Molekülen, deren Wirkweise und Funktion bis heute nicht vollständig geklärt und Gegenstand aktueller Forschung sind (McEwen und Peifer 2000; Chtarbova und Müller 2003; Kikuchi et al. 2007; Cadigan und Peifer 2009; Kikuchi et al. 2009; Sato et al. 2010). Je nachdem, welchen Weg ein Wnt-Molekül typischerweise anstößt, wird es als kanonischer oder nicht-kanonischer Faktor bezeichnet. Wnt5a gilt deshalb als einer der klassischen, nicht-kanonischen Aktivatoren (Weeraratna et al. 2002; Mikels und Nusse 2006; Kikuchi et al. 2009; Fenstermaker et al. 2010; Nishita et al. 2010b; Sato et al. 2010; Rigo-Watermeier et al. 2012; Anastas et al. 2014). Allerdings wurde in den letzten Jahren gezeigt, dass eine so strenge Ordnung die Realität limitiert abbildet. Deutlich wird dies durch den intrazellulären Komplex aus drei Proteinen: Dvl, Axin und GSK. Er sitzt in räumlicher Nähe zur PDZ-Domäne von Fz. Verschiedene Dvl-Isoformen können mit beeinflussen, ob der kanonische oder der nicht-kanonische Signaltransduktionsweg eingeschlagen wird. (Sen 2005; Grumolato et al. 2010; De 2011; Gentzel et al. 2015). Auch scheint immer deutlicher zu werden, dass eine Kombination aus Wnt-Faktoren und verfügbaren extrazellulären Rezeptoren darüber entscheidet, welcher Signalweg letztlich angestoßen wird (Willert et al. 2003). So kann Wnt5a, wenn es auf den Rezeptor Fz4 trifft, unter bestimmten Bedingungen eben auch den kanonischen Weg direkt aktivieren (Kühl 2004; Logan und Nusse 2004; Mikels und Nusse 2006).

Sowohl der kanonische als auch der nicht-kanonische Signalweg können in den Fett- und Glukosestoffwechsel eingreifen. So inhibieren kanonische Wnt10b-Signale die

Determinationsphase der Adipogenese und führen dazu, dass Präadipozyten in undifferenzierten Stadien verbleiben (Ross et al. 2000; Bennett et al. 2003; Kawai et al. 2007). Wnt5a nutzt maßgeblich nicht-kanonische Wege, um die Adipogenese zu inhibieren (Bilkovski et al. 2010). Zudem führen nicht-kanonische Wnt5a-Signale zur vermehrten Entstehung der Insulinresistenz (Fuster et al. 2015).

### I.3.1 Der kanonische Wnt-Signalweg

Der Regulation des intrazellulären  $\beta$ -Catenin-Spiegels kommt eine zentrale Bedeutung im kanonischen Weg zu (Moon et al. 2004). Bei Fehlen des extrazellulären Wnt-Signals liegt zytoplasmatisches  $\beta$ -Catenin in einem Komplex mit Axin und dem Tumorsuppressor-Protein APC (*Adenomatous Polyposis Coli gene product*) phosphoryliert vor. An der Phosphorylierung von  $\beta$ -Catenin sind zwei Kinasen beteiligt, die Casein-Kinase 1 $\alpha$  (CK1  $\alpha$ ) sowie GSK-3 $\beta$  (Kikuchi 1999; Liu et al. 2002; Kikuchi et al. 2007). Das so vorliegende  $\beta$ -Catenin wird ubiquitiniert und durch Proteasomen abgebaut (Logan und Nusse 2004; Wu et al. 2004). Sobald Wnt mit dem Membran-Rezeptor-Komplex aus *Frizzled* und den Korezeptoren LRP (*Low-density lipoprotein receptor-related protein*) 5 oder 6 interagiert, wird die Phosphorylierung von  $\beta$ -Catenin inhibiert, was zur Akkumulation von  $\beta$ -Catenin führt (He et al. 2004). Dieses aktiviert dann Zielgene und Transkriptionsfaktoren der TCF/LEF (*T-cell factor/lymphoid enhancer factor*)-Familie (Cavallo et al. 1998; Tolwinski und Wieschus 2004; Kikuchi et al. 2009). Viele verschiedene zelluläre Prozesse können so angestoßen werden. Für die Zellproliferation, Migration, Angiogenese und Differenzierung, auch von Stammzellen, wurde dies in zahlreichen Studien nachgewiesen (He et al. 1998; Brabletz et al. 1999; Crawford et al. 1999; He et al. 1999; Shtutman et al. 1999; Tetsu und McCormick 1999; Yamada et al. 2000; Fujita et al. 2001; Rockman et al. 2001; Zhang et al. 2001; Willert et al. 2002; Kim et al. 2003; Hlubek et al. 2004; Jubb et al. 2006; Cisse et al. 2008). Abweichungen im  $\beta$ -Catenin-abhängigen Signalweg können zu einer Vielzahl an Erkrankungen führen (Moon et al. 2004). Für Polymorphismen von LRP5 ist so eine Assoziation mit der generalisierten aggressiven Form der Parodontitis vorbeschrieben (Gao et al. 2015).

### I.3.2 Der nicht-kanonische Wnt-Signalweg

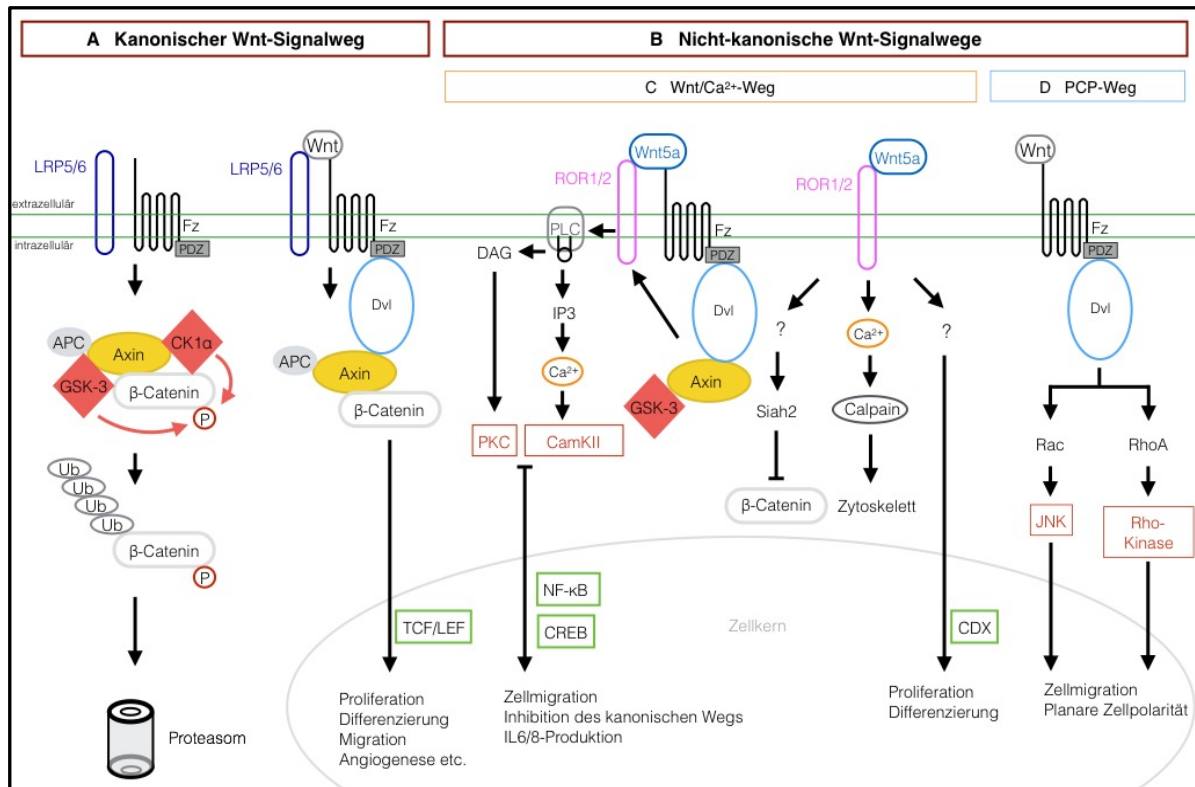
Zum nicht-kanonischen Wnt-Signalweg werden viele verschiedene Signalwege gezählt, die zu einem großen Teil über Veränderungen der intrazellulären  $\text{Ca}^{2+}$ -Konzentration Zellsignale übermitteln (Kikuchi et al. 2009; De 2011) (Abbildung 2C).

Der Wnt/ $\text{Ca}^{2+}$ -Weg wird initiiert, wenn Wnt5a an einen der Sieben-Transmembran-Rezeptoren *Frizzled* 2, 3, 4, 5 oder 6 bindet (Blumenthal et al. 2006; Pereira et al. 2008) (Abbildung 2C). Eine Interaktion mit dem Korezeptor ROR1/2 führt im Sinne einer Gq-gekoppelten Signaltransduktion zur Aktivierung der Proteinkinase C (PKC) sowie der CaMKII (Calcium/Calmodulin abhängige Proteinkinase II). Im Folgenden werden Transkriptionsfaktoren wie CREB (*cAMP response element-binding protein*), NF- $\kappa$ B (*nuclear factor 'kappa-light-chain-enhancer' of activated B-cells*) und NFAT (*Nuclear factor associated with T-cells*) aktiviert. Schließlich kommt es zu einer Erhöhung der pro-inflammatorischen Interleukine-6 und -8 (Kühl et al. 2000; Wang et al. 2004; Kim et al. 2010). Die Beeinflussung der Proliferationsfähigkeit gingivaler Stammzellen durch *Porphyromonas gingivalis* Lipopolysachhariden via NF- $\kappa$ B ist vorbeschrieben (Zhou et al. 2017).

Zusätzlich scheinen die aktivierte PKC und CamKII zu einer Inhibition des kanonischen Wnt-Wegs zu führen (Goode et al. 1992; Cook et al. 1996; Gwak et al. 2006; Kühl et al. 2001; Ponting und Bork 1996). Auch besteht die Möglichkeit, dass Wnt5a sogar direkt an die Rezeptortyrosinkinase ROR1/2 bindet und für die Auslösung weiterer Schritte keinen weiteren Rezeptor oder Faktor benötigt (Nishita et al. 2010a). Die Rezeptortyrosinkinase kann dann wiederum über die Erhöhung der intrazellulären Calciumionenkonzentration Einfluss auf die Funktion des Zytoskeletts ausüben und über bisher noch weitestgehend ungeklärte Schritte zu einer Aktivierung von Transkriptionsfaktoren der CDX (*caudale type homeobox*)-Familie führen, welche die Proliferation und Differenzierung von Zellen steuern (Suh und Traber 1996). Zudem führt Wnt5a durch Aktivierung der Ubiquitin-Ligase Siah2 (*seven in absentia homolog 2*) zur APC- und  $\text{Ca}^{2+}$ -abhängigen Degradation von  $\beta$ -Catenin und stellt somit eine weitere Schnittstelle zwischen dem kanonischen und nicht-kanonischen Wnt-Signalweg dar (Topol et al. 2003; MacLeod et al. 2007).

Ein zweiter wichtiger  $\beta$ -Catenin-unabhängiger Weg ist der PCP-Weg, der Weg der planaren Zellpolarität (Abbildung 2D). Synonym wird häufig der Name Wnt/JNK-Weg gebraucht, da aktivierte c-Jun N-terminale Kinasen (JNK) eine zentrale Rolle spielen (Mlodzik 2002; Veeman et al. 2003; Simons und Mlodzik 2008). Ihr Name erklärt sich durch die Fähigkeit, den Transkriptionsfaktor c-Jun am N-terminalen Ende phosphorylieren zu können. Auch hier scheint die Bindung von Wnt5a essenziell zu sein (Qian et al. 2007; Herbst et al. 2014). Somit spielen JNK

unter anderem bei der Apoptose und der Zellmigration, aber auch bei der Inflammation und der Metaflammation eine Rolle (Ip und Davis 1998; Barr und Bogoyevitch 2001; Huang et al. 2003; Bilkovski et al. 2010). Eine besondere Bedeutung wird hier ebenfalls dem Molekül Dvl zuteil. Die Aktivierung des Liganden-Rezeptor-Komplexes und damit des PCP-Weges führt über die Rekrutierung von Dvl zur Aktivierung kleiner G-Proteine wie RhoA und Rac. Diese aktivieren im Verlauf Kinasen. RhoA aktiviert eine Rho-Kinase und Rac eben JNK (Strutt et al. 1997; Boutros et al. 1998; Wallingford et al. 2000; Yamanaka et al. 2002; Rosso et al. 2005; Kikuchi et al. 2009; Gentzel et al. 2015). Zudem scheint die Präsenz von bestimmten Kofaktoren erheblichen Einfluss auf die Aktivierung des PCP-Weges zu haben (Yamamoto et al. 2008). Der PCP-Weg kontrolliert sowohl die planare Zellpolarität, als auch die apikal-basale Polarität einer Zelle (Wu und Mlodzik 2009). Abweichungen von diesem Bauplan können zur Bildung von Tumoren und Metastasen führen (Pagliarini und Xu 2003; Igaki et al. 2006).



**Abbildung 2:** Skizze der Wnt-Signalwege modifiziert nach Kikuchi et al. 2009, MacLeod et al. 2007, Nishita et al. 2010a

**(A)**  $\beta$ -Catenin wird normalerweise im Axin-APC-Komplex durch die Kinasen CK1 $\alpha$  und GSK-3 phosphoryliert, was so zur Ubiquitinierung und proteasomalen Abbau führt. Kommt es zur Bindung von Wnt-Faktoren an den Rezeptor Fz und den Korezeptor LRP5/6, bleibt die  $\beta$ -Catenin-Degradation aus. Bindet  $\beta$ -Catenin intranukleär an Transkriptionsfaktoren, wie die der TCF/LEF-Familie, führt dies zur Genexpression. **(B)** Nicht-kanonische Signalwege beinhalten unter anderem  $\text{Ca}^{2+}$ -abhängige Kaskaden sowie den PCP-Weg. **(C)** Eine direkte Bindung von Wnt5a an den normalerweise als Korezeptor agierenden ROR1/2 führt über die intrazelluläre  $\text{Ca}^{2+}$ -Anreicherung und Aktivierung von Calpain zu Veränderungen im Zytoskelett. Zudem findet die Aktivierung der Ubiquitinase Siah2 statt, was so zur GSK-unabhängigen Degradation von  $\beta$ -Catenin führt. Zudem kommt es zur Aktivierung von Transkriptionsfaktoren wie CDX. Bindet Wnt5a an Fz, führt ein Komplex aus Axin, Dvl und GSK, zur Aktivierung von ROR1/2. Es startet ein Gq-gekoppelter Signalweg, welcher über die Aktivierung der Kinasen PKC und CamKII zu Aktivierung der Transkriptionsfaktoren NF- $\kappa$ B und CREB führt. **(D)** Der PCP-Weg führt über Wnt-Bindung und die Aktivierung von Dvl zur Anreicherung von kleinen G-Proteinen wie RhoA und Rac, welche die RhoA-Kinase und JNK aktivieren. Dies führt zur Inhibition des kanonischen Signalwegs und zur Kontrolle der Zellmigration.

## I.4 Inhibitoren der Wnt-Signalkaskaden

Während Wnt-Moleküle die Determination mesenchymaler Stammzellen maßgeblich beeinflussen, können Wnt-Antagonisten bereits in die Differenzierungsphase von Präadipozyten zu Adipozyten eingreifen (Laudes 2011). Einer dieser relevanten Inhibitoren des Wnt-Systems ist das Adipozytokin sFRP5 (*secreted frizzled-related protein 5*) (Finch et al. 1997; Mayr et al. 1997; Melkonyan et al. 1997; Bovolenta et al. 2008; Lagathu et al. 2010; Ouchi et al. 2010). Es bindet extrazellulär aufgrund seiner molekularen Ähnlichkeit zu Fz-Rezeptoren direkt an Wnt5a und verhindert entsprechend in der Folge eine weitere Bindung von Wnt5a an Fz (Rattner et al. 1997; Johnson et al. 2004, S. 5; Bovolenta et al. 2008). sFRP5 kann so auch den Knochenstoffwechsel beeinflussen und steht im Verdacht, Kalkablagerung in Gefäßwänden zu verringern (Chen et al. 2016; Deng et al. 2016). Außerdem konnte im Kieferknochen eine Regulation von Wnt5a und sFRP5 nachgewiesen werden. Dies wird in einer Studie zu kieferorthopädischen Zahnbewegungen deutlich. So konnte in parodontalen Zellen in der Nähe des Alveolarknochens auf der Zugseite der kieferorthopädischen Bewegung eine hohe Expression von Wnt5a, Fz4 und LRP5 gezeigt werden (Fu et al. 2016). Zudem ist eine lokale Beteiligung des parainflammatorischen Wnt5a-/sFRP5-Systems an der Pathogenese der bakteriell induzierten Parodontitis vorbeschrieben (Maekawa et al. 2017).

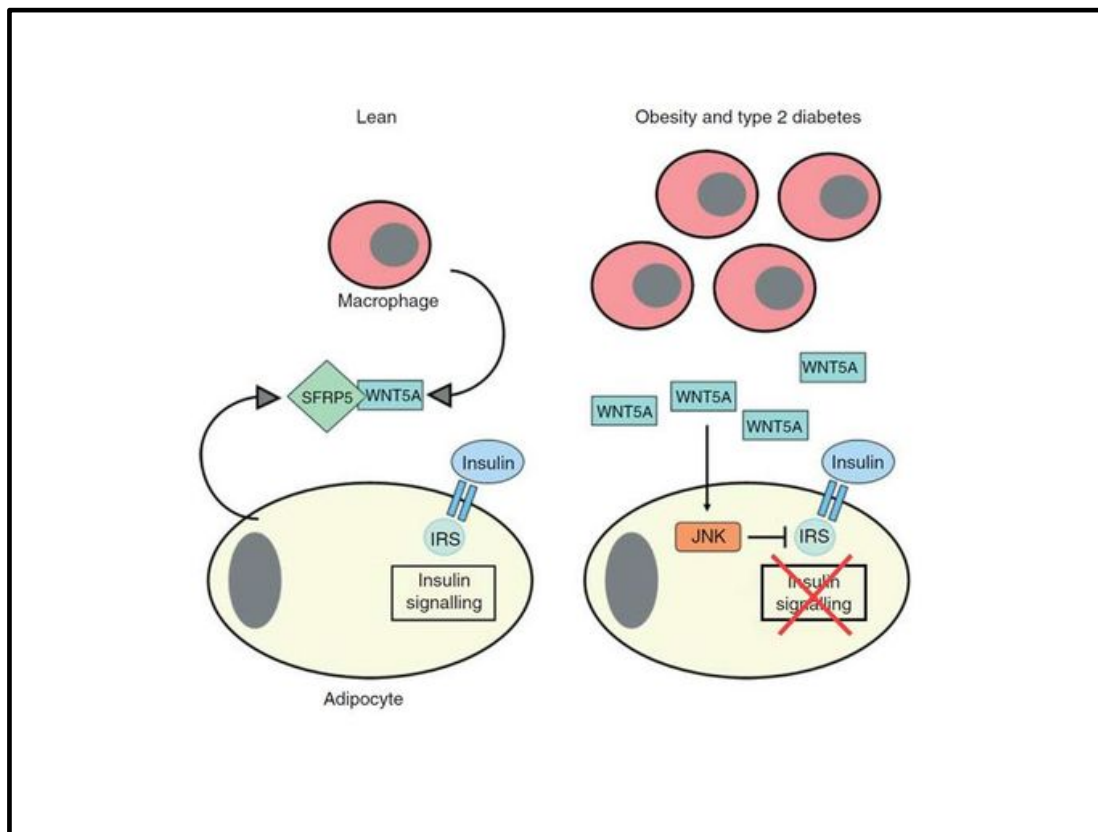
Die Relevanz einer systemischen Dysbalance von Schlüsselmolekülen wie den Gegenspielern Wnt5a und sFRP5 für metabolische und für inflammatorische Prozesse ist zahlreich vorbeschrieben (Nakamura et al. 2014; Wang 2014; Hotamisligil 2017). Eine Fehlregulation des Wnt5a-/sFRP5-Systems in der Adipositas wurde umfassend beleuchtet (Schulte et al. 2012). Auch bei Psoriatikern, insbesondere adipösen Psoriatikern, wurde ein gestörtes Wnt5a-/sFRP5-System bereits aufgezeigt (Gerdes et al. 2014). Ein weiteres Beispiel für eine inadäquate Gegenregulation von Wnt5a zeigt sich auch bei der Sepsis, also einer Form der heißen Entzündung als überschießende Entzündungsreaktion des Körpers. Bei septischen Patienten zeigen sich so signifikant höhere Wnt5a-Serumlevel als bei Kontrollen. Die sFRP5-Serumlevel waren jedoch nicht verändert (Schulte et al. 2015).

Ein Modell zur Rolle des parainflammatorischen Wnt5a-/sFRP5-Systems beschreibt die Entstehung der Insulinresistenz bei Übergewicht und Typ 2 Diabetes. Hiernach zeigen sich bei gesunden, schlanken Personen nur wenige Makrophagen im Fettgewebe. Diese Makrophagen sezernieren Wnt5a, welches von sFRP5 aus gesunden Adipozyten neutralisiert wird. Bei Typ 2



Diabetikern sowie Adipösen finden sich mehr Makrophagen im Fettgewebe. Häufig wird außerdem weniger sFRP5 von Adipozyten sezerniert. Zusammengenommen resultiert dies in einer Erhöhung der Wnt5a-Level im Fettgewebe. Entsprechend werden die Wirkungen von Insulin über den Wnt/JNK-Weg durch eine Veränderung des intrazellulären Insulinrezeptorsubstrats IRS (*insulin receptor substrate*) 1 in der Folge inhibiert, was so zur Entstehung der Insulinresistenz führen kann (Laudes 2011) (Abbildung 3).

Die Rekrutierung neuer, gesunder Adipozyten ist zudem stark beeinträchtigt, da Wnt5a außerdem die Adipogenese von mesenchymalen Vorläuferzellen beeinträchtigen kann (Bilkovski et al. 2010; Bilkovski et al. 2011). Die Anwesenheit von sFRP5 kann zusätzlich den Metabolismus von Adipozyten direkt modulieren (Mori et al. 2012).



**Abbildung 3:** Wnt5a und sFRP5 in der Metaflammation,

Laudes, M., J Mol Endocrinol, 2011 (Review)

Auch für das strukturähnliche sFRP1, einem Modulator des Knochenstoffwechsels, konnte in Analogie ähnliches gezeigt werden. Es wird im Fettgewebe von Patienten mit milder Adipositas vermehrt exprimiert und gilt über die Inhibierung von Wnt-Signalen zudem als Modulator der adipogenen Differenzierung (Lagathu et al. 2010; Yao et al. 2010). Auch sind Assoziationen von sFRP1 und dem Schweregrad der Inflammation bei Parodontitis vorbeschrieben.

Neben sFRP1 und sFRP5 sind noch weitere Inhibitionswege von Wnt-Signalen bekannt. Dickkopf (DKK) ist ein weiterer dieser Inhibitoren. Er wurde das erste Mal 1998 in einer Arbeit zur Induktion von Kopfstrukturen in amphibischen Embryonen in Heidelberg beschrieben (Glinka et al. 1998). Der DKK-Proteinfamilie gehören vier Mitglieder an, DKK1-4 (Yavropoulou und Yovos 2007). DKK-Proteine wirken als Antagonisten von Wnt-Faktoren indem sie, wie für DKK1 und 2 gezeigt wurde, mit hoher Affinität und Spezifität an LRP6 binden (Mao et al. 2001). Diese Bindung führt zur Bildung eines transmembranen Komplexes namens Kremen und es kommt zur Internalisierung und dem Abbau von LRP5/6. Eine Bindung von Wnt an entsprechende LRP-Korezeptoren ist so nicht mehr möglich (Johnson et al. 2004). Die Expression von DKK1 unterliegt zudem einer vielfältigen Regulation (Grotewold und Rütger 2002; Choi et al. 2009). Auch DKK1 kommt eine zentrale Rolle im Stoffwechsel zu. Arbeiten zur vermehrten Expression von DKK1 in der frühen Differenzierungsphase der Adipogenese, sowie einer Inhibition der Selbigen durch das gezielte Ausschalten von DKK1, zeigen die Relevanz von DKK-Proteinen im Stoffwechsel auf (Christodoulides et al. 2006; Park et al. 2008). Auch für DKK ist bekannt, dass es die Knochenneubildung verringern kann (Krishnan et al. 2006; MacDonald et al. 2007). Dies wurde für Studienteilnehmer mit Diabetes mellitus Typ 1 gezeigt. Sie zeigen messbar hohe DKK1- und Sclerostin-Level. Sclerostin ist ein weiterer Inhibitor des Wnt/ $\beta$ -Catenin-Wegs, der jedoch durch DKK1 von LRP5 verdrängt werden kann (Ellies et al. 2006; Balemans et al. 2008).

Die Relevanz der Wnt-Antagonisten für parodontale Erkrankungen konnte zudem in einer Studie aus dem Jahr 2018 gezeigt werden. Sclerostin und DKK1 waren so bei Patienten mit einer Parodontitis verändert, abhängig davon ob sie an einem Diabetes mellitus erkrankt und oder Raucher waren (Miranda et al. 2018). Evolutionär betrachtet, scheinen außerdem sowohl Sclerostin, als auch DKK1 und sFRP1 maßgeblich an der Entwicklung des parodontalen Gewebes von modernen Säugetieren beteiligt zu sein (Diekwisch 2016).

Zusätzlich kann auf zellulärer Ebene eine weitere Regulation der Wnt-Systeme stattfinden (Takemaru et al. 2003; Zhang et al. 2006).

## I.5 Zielsetzung dieser Arbeit

Ein Ungleichgewicht zwischen dem anti-inflammatorischen Adipozytokin sFRP5 und dem pro-inflammatorischen Glykoprotein Wnt5a ist entscheidend in der Pathophysiologie verschiedener metabolischer Entzündungsprozesse. Dysregulationen dieses Systems wurden bereits bei Patienten mit Adipositas, Psoriasis und Sepsis aufgezeigt. Hierbei scheint vor allem das Verhältnis von systemisch vorliegenden pro-inflammatorischen Wnt-Molekülen und anti-inflammatorisch wirkenden Antagonisten entscheidend dazu beizutragen, ob eine Inflammation vorliegt (Ouchi et al. 2010; Schulte et al. 2012; Gerdes et al. 2014; Schulte et al. 2015).

Denkbar ist dies auch für die Pathogenese und Progression inflammatorischer parodontaler Erkrankungen (Maekawa et al. 2017). Eine erste genomweite Assoziationsstudie ergab Hinweise auf einen Zusammenhang des Wnt5a-Genlokus und schweren Formen der Parodontitis (Divaris et al. 2013). Seit 2012 ist zudem bekannt, dass der parodontal pathogene Keim *Porphyromonas gingivalis* die *in vitro* Expression von Wnt5a regulieren kann (Nanbara et al. 2012). Lokales Wnt5a und sFRP5 sind außerdem an der Pathogenese der Parodontitis beteiligt (Maekawa et al. 2017).

Ziel dieser Arbeit ist die Bestimmung der Wnt5a- und sFRP5-Serumkonzentrationen einer größeren Gruppe von Probanden mit einer Parodontitis mittels *enzyme-linked immunosorbent assay* (ELISA).

Ferner soll untersucht werden, ob sFRP5 eigenständig oder eine Ratio aus sFRP5 und Wnt5a als Biomarker der humanen Parodontitis gelten kann. Diese Untersuchungen sollen das Verständnis der systemischen Rolle des parainflammatorischen Wnt5a-/sFRP5-Systems bei Patienten mit Parodontalerkrankungen verbessern und zeigen, ob eine systemische Dysregulation dieses Systems Einfluss auf den Schweregrad der Parodontitis nimmt.

Weiter soll untersucht werden, welche Rolle genetische Alterationen in Form von sFRP5- und Wnt5a-SNPs in der Ätiologie der Parodontitiden spielen und ob Einflüsse auf entsprechende Serumkonzentrationen bestehen.

Diese Fragestellungen wurden in einem systemmedizinischen Ansatz in der FoCus (*FoodChainPlus*)-Kohorte aus Kiel verfolgt.

## II Material und Methoden

### II.1 Studientyp und Studienpopulation

Die untersuchte FoCus-Kohorte wurde aus einer monozentrischen Querschnittsstudie in den Jahren 2011 bis 2014 gewonnen. Sie gehört zu einem durch das Bundesministerium für Bildung und Forschung geförderten Verbundprojekt (Müller et al. 2015; Wang et al. 2016).

Bei 1837 Probanden wurden dafür Daten erhoben. Etwa 1400 wurden vom Kieler Einwohnermeldeamt rekrutiert, stammen aus Kiel und dem Kieler Umland und stellen somit eine Durchschnittspopulation der Region dar. Etwa 500 adipöse Probanden wurden aus der Adipositassprechstunde der Ambulanz des Universitätsklinikums Schleswig-Holstein (Campus Kiel) rekrutiert.

Es wurden in dieser Zeit klinische Untersuchungen der Studienteilnehmer am Universitätsklinikum Schleswig-Holstein (Campus Kiel) durchgeführt. Zudem wurde das Serum der Probanden untersucht, als auch genetische Analysen durchgeführt. Das Mikrobiom von Stuhlproben wurde ebenfalls analysiert. Außerdem wurden von den Probanden Fragebögen zu Ernährungsgewohnheiten, Lebenssituation und Gesundheit ausgefüllt. Ziel des Verbundprojektes ist es, Nahrungsmittel mit einer gesundheitsfördernden Wirkung zu identifizieren.

In einem systemmedizinischen Ansatz wurden Daten der populationsbasierten FoCus-Kohorte auf zahnmedizinische Parameter hin untersucht.

Fünf Fragen, welche im Rahmen einer Selbstauskunft auf Fragebögen auszufüllen waren, dienten der Einschätzung der parodontalen Situation der Studienteilnehmer (Tabelle 1 und Abbildung 17). Anhand dieser fünf Fragen wurde die FoCus-Kohorte in drei Testgruppen und eine Kontrollgruppe eingeteilt (Tabelle 2).

50 Probanden wurden auf Grund von fehlenden Angaben oder fehlender Konsistenz der beantworteten Fragen aussortiert.

**Tabelle 1:** Auszug aus Codebook und dazugehöriger Frage der Selbstauskunft im Fragebogen

	<b>Frage</b>	<b>Antwort</b>	
1	<b>parodontitis</b> Ist bei Ihnen von einem Arzt eine Parodontitis (Parodontose) diagnostiziert worden?  Wenn ja, wann wurde die Parodontitis festgestellt?	ja	nein
2	<b>parodontitis_y</b> Jahr:	[Jahresangabe]	
3	<b>parodontitis_a</b> oder damaliges Alter:	[Altersangabe]	
4	<b>parodent</b> Sind bzw. waren Sie aufgrund einer Parodontitis in zahnärztlicher Behandlung?	ja	nein
5	<b>paroteeth</b> Haben Sie Zähne aufgrund einer Parodontitis (Parodontose mit fortgeschrittener Zahnlockerung) verloren?	ja	nein

**Tabelle 2:** Gruppenbildung

	<b>Kontrollgruppe</b>	<b>Testgruppe</b>			<b>Aussortiert</b>
<b>parodontitis</b>	nein	1 ja	2 ja	3 ja	Fehlende Angaben/ Inkonsistenz
<b>parodont_y</b>	keine Angabe	Angabe	Angabe	Angabe	
<b>parodont_a</b>	nein	ja	nein	ja	
<b>parodent</b>	nein	nein	ja	ja	
<b>paroteeth</b>					
<b>Anzahl</b>	<b>1227</b>	<b>245</b>	14 <b>128</b>	114	50
		<b>Kein Zahnverlust</b>	<b>Zahnverlust</b>		

Wurden alle dichotomen Fragen verneint und keine Alters- oder Jahresangabe zur Parodontitisdiagnose gemacht, wurden sie der Kontrollgruppe zugeteilt. Die der Testgruppe 1 zugeordneten Probanden gaben an, wegen einer vom Arzt diagnostizierten Parodontitis auch in Behandlung gewesen zu sein. Einen Zahnverlust verneinten sie. Eine Alters- und/oder Jahresangabe zum Zeitpunkt der Parodontitisdiagnose wurde getätigt. Studienteilnehmer, die mitteilten mit einer diagnostizierten Parodontitis nicht in Behandlung gewesen zu sein, aber einen Zahnverlust auf Grund der Parodontitis erlitten zu haben, wurden bei Angabe von Diagnosejahr und/oder –alter der Testgruppe 2 zugeordnet.

Die Probanden, welche alle dichotomen Fragen bejahten und entweder eine Jahres- und/oder eine Altersangabe zum Diagnosezeitpunkt gemacht hatten, wurden der letzten Testgruppe zugeordnet. Insbesondere schwere Parodontitiden weisen, im Sinne der fortschreitenden parodontalen Destruktion, häufiger einen Zahnverlust auf als gesunde Kontrollen (Martin et al. 2009). Deshalb wurden die Testgruppe 2 und 3 zu einer gemeinsamen Gruppe mit Zahnverlust zusammengefasst. Im Anschluss wurde ein verbundenes 1:1 Matching mit den Parametern Geschlecht, Rauchen, Alter und BMI (*body mass index*) durchgeführt.

Das Geschlecht ist nominal skaliert und lag in den Ausprägungen männlich und weiblich vor.

Als Nichtraucher wurden Studienteilnehmer gewertet, die angaben, nie oder weniger als drei Monate geraucht zu haben. Als Raucher wurden Probanden mit einer Raucheranamnese von über drei Monaten gewertet, auch wenn sie zum Studienzeitpunkt nicht mehr rauchten. Zudem gab es noch Probanden mit unbekannter Raucheranamnese.

Das Probandenalter wurde durch das Geburtsjahr und das Jahr, in welchem der Proband den FoCus-Fragebogen ausgefüllt hat, errechnet. Dann wurden zwölf Altersgruppen, beginnend mit einem Alter von 21 Jahren, jeweils in fünf Jahres Schritten erstellt. Gruppe 0 beinhaltete so Probanden mit einem Alter von 21-25 Jahren, Gruppe 1 Probanden im Alter von 26-30 Jahren und so weiter. In der letzten Gruppe 11 wurden dann Probanden im Alter von 76-80 Jahren zusammengefasst.

Zuletzt wurde dann BMI-Gruppen nach WHO (*world health organization*) -Einteilung erstellt (Obesity: preventing and managing the global epidemic. Report of a WHO consultation 2000). Der BMI ergibt sich aus dem Quotienten von Gewicht und des Quadrats der Körperhöhe und wird in  $\text{kg}/\text{m}^2$  angegeben (WHO Expert Committee on Physical Status: the Use and Interpretation of Anthropometry (1993 : Geneva, Switzerland) und World Health Organization 1995). Die Gruppen wurden entsprechend der Auflistung in Tabelle 3 gebildet.

**Tabelle 3:** BMI-Gruppen

WHO-Definition		Gruppe	BMI
Untergewicht		0	<18,5
Normalgewicht		1	18,5-24,9
Übergewicht		2	25-29,9
Adipositas	Grad I	3	30-34,9
	Grad II	4	35-39,9
	Grad III	5	40-49,9
		6	50-59,9
	7	>59,9	

## II.2 Bestimmung von Blutparametern

### II.2.1 Bestimmung von HOMA-Index, CRP und IL6

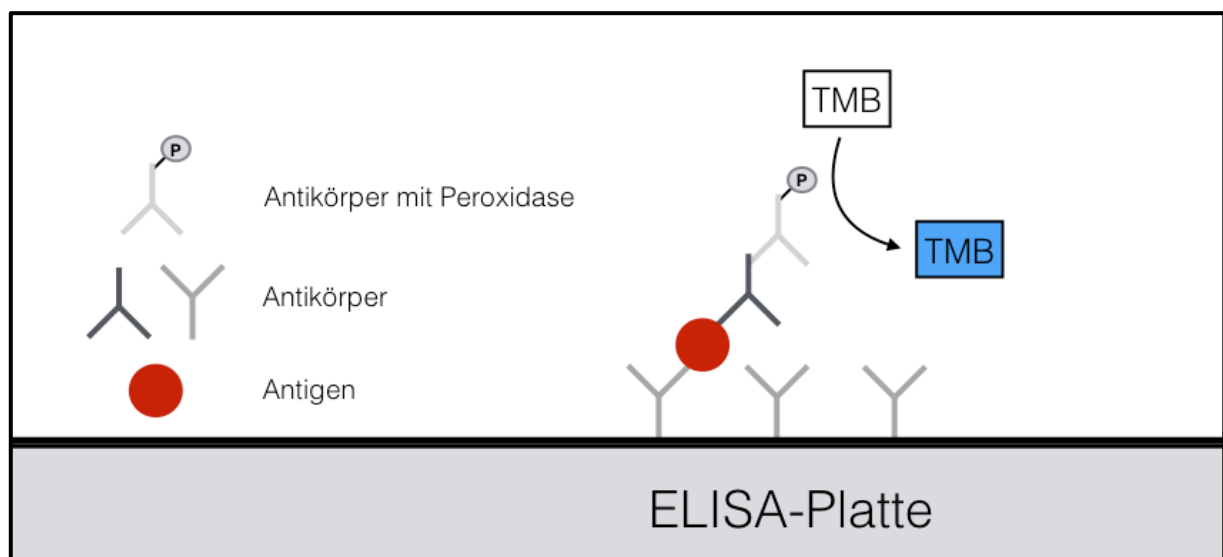
Bei nüchternen Probanden wurde morgens, nach 12-stündiger Nahrungskarenz, der Insulin- und Blutzuckerspiegel bestimmt. Daraus wurde, durch die nachfolgende Formel, der HOMA-Index (*homeostasis model assessment index*) bestimmt:  $\text{HOMA-Index} = \text{Insulin } (\mu\text{U/ml}) \times \text{Glucose (mg/dl)}$  (Matthews et al. 1985). Ein HOMA-Index bis zu einem Wert von 1 ist als normal anzusehen. Ein HOMA-Index von über 2 gibt einen Hinweis auf eine Insulinresistenz. Beim Typ II Diabetiker liegen durchschnittlich Werte über 5 vor (Rehman et al. 2003).

Die Bestimmung der Blutparameter C-reaktives-Protein und Interleukin-6 aus venösem Nüchternblut wurden im Analyseautomaten des Zentrallabors des Universitätsklinikums Schleswig-Holstein (Campus Kiel) durchgeführt. Ein CRP bis 5 mg/L und Interleukin-6-Serumspiegel unter 7 pg/mL wurden als normal bewertet. CRP-Werte unter 0,9 mg/L sowie IL6-Spiegel unter 1,5 pg/mL lagen unterhalb des messbaren Bereichs und wurden entsprechend gekennzeichnet. Alle Werte der getesteten Gruppen lagen im Messbereich.

## II.2.2 Bestimmung der sFRP5- und Wnt5a-Level mittels ELISA

Venöses Nüchternblut wurde von etwa 1000 Probanden entnommen. Die sFRP5- und Wnt5a-Serumlevel wurden dann in einer *enzyme-linked immunosorbent assay* (ELISA) bestimmt.

Die Sandwich-ELISA ist eine spezielle ELISA, bei dem die Antigen-Menge aus zwei Schichten von Antikörpern bestimmt wird (Perepelytsina et al. 2016). Die ELISA-Platte hat 96 Vertiefungen, die bereits mit einem spezifischen, immobilisierten Antikörper beschichtet sind. Dieser Antikörper bindet an ein Epitop des gesuchten Proteins und hält es in der Vertiefung fest. Im Folgenden bindet dann ein zweiter Antikörper an eine weitere Oberflächenstruktur des Antigens. Ein nächster Antikörper, welcher eine Peroxidase an seinem konstanten Teil trägt, bindet im nächsten Schritt wiederum an den zuvor zugegebenen Antikörper. Bei der Substitution von Tetramethylbenzidin (TMB) führt der Kontakt zur Peroxidase, bei den angewendeten ELISAs, zu einer Blaufärbung (siehe Abbildung 4). Diese Reaktion wird dann in einem weiteren Schritt gestoppt und so ein Farbumschlag herbeigeführt. Dementsprechend bedeutet eine dunkle Färbung, dass eine hohe Konzentration des Antigens vorliegt, eine geringe Färbung ist gleichbedeutend mit einer geringen Konzentration. Da das relevante Protein zwischen zwei Antikörpern liegt, wird diese Methode Sandwich-ELISA genannt. (Aydin 2015). Im Folgenden wird dann zur quantitativen Konzentration die photometrische Messung durchgeführt werden.



**Abbildung 4:** Skizze der Funktionsweise der Sandwich-ELISA. Das Antigen bei Anwendung des SEC842Hu ist sFRP5, bei Anwendung des SEP549Hu handelt es sich um Wnt5a.



sFRP5 wurde 2013 bei etwa 1000 Probanden der FoCus-Kohorte mit dem SEC842Hu ELISA-Kit von Usen Life Science Inc. bestimmt. Laut Herstellerangaben handelt es sich hierbei um eine ELISA zur Detektion von sFRP5 mit hoher Spezifität und ohne bekannte Kreuzreaktionen oder Interferenzen. In der Testgruppe lagen 183 und in der Kontrollgruppe 165 sFRP5-Bestimmungen vor. Die analytische Empfindlichkeit lag bei unter 2,53 ng/mL, der Messbereich bei 1,56-100 ng/mL. Messwerte, die über 0 ng/mL und unter 2,53 ng/mL wurden bei der Auswertung auf 2,53 ng/mL gesetzt. In der Testgruppe waren 44 und in der Kontrolle 39 sFRP5-Werte betroffen. Den Wert 0 lag in der Testgruppe 25- und in der Kontrollgruppe 13-mal vor. Die ELISAs wurden in Doppelbestimmung durchgeführt. 160 Proben wurden erneut bestimmt. In allen Fällen wurde der *coefficient of variation* (cv) bestimmt, nur Werte mit einem cv <10% wurden bei der Auswertung berücksichtigt.

Analog erfolgte die Wnt5a Bestimmung 2013 bei etwa 1000 Probanden der FoCus-Kohorte mit dem SEP549Hu ELISA-Kit von Usen Life Science Inc. Laut Herstellerangaben ist dies ein ELISA zur Detektion von Wnt5a mit hoher Spezifität und ohne bekannte Kreuzreaktionen oder Interferenzen. In der Parodontitisgruppe lagen 192 und in der Kontrollgruppe 172 Wnt5a-Bestimmungen vor. Die analytische Empfindlichkeit des ELISA-Kits lag bei 0,057 ng/mL mit einem Messbereich von 15,6-1000 pg/mL. Messwerte, die über 0 ng/mL und unter 0,057 ng/mL lagen, wurden bei der Auswertung auf 0,057 ng/mL gesetzt. In der Testgruppe der Probanden mit Parodontitis waren fünf und in der Kontrolle drei Wnt5a-Werte betroffen. Der Wert 0 lag nicht vor. Die ELISAs wurden in Doppelbestimmung durchgeführt.

Im Folgenden wird exemplarisch für die ELISA SEC842Hu die Funktions- und Vorgehensweise zur Bestimmung von sFRP5 und Wnt5a dargestellt. Die Anleitung richtet sich nach den Herstellerangaben der Cloud-Clone Corp.

Der Standard, das Detektions-Reagenz A, das Detektions-Reagenz B, sowie im verschlossenen Zustand auch die ELISA-Platte, wurden bis kurz vor der Benutzung bei -20°C gelagert. Die Lagerung der restlichen Substanzen wurde bei 4°C durchgeführt. Zwei bis drei Stunden vor Beginn des ELISAs wurden die bei -80°C gelagerten Serumproben bei 4°C aufgetaut und anschließend auf Raumtemperatur gebracht.

Zur Vorbereitung der Reagenzien wurde 1 mL Standard-Verdünnungsmittel in Standard-Lösung gegeben und nach 10 Minuten bei Raumtemperatur vorsichtig gemischt, dies ergab so die Standard-Stamm-Lösung mit einer Konzentration von 40 ng/mL. Je 500 mL Standard-Verdünnungsmittel wurden dann in sechs Reagiergefäße vorgelegt und so eine doppelte Verdünnungsreihe hergestellt, wobei im ersten Reaktionsgefäß eine Konzentration von 10 ng/mL und im siebten Reaktionsgefäß

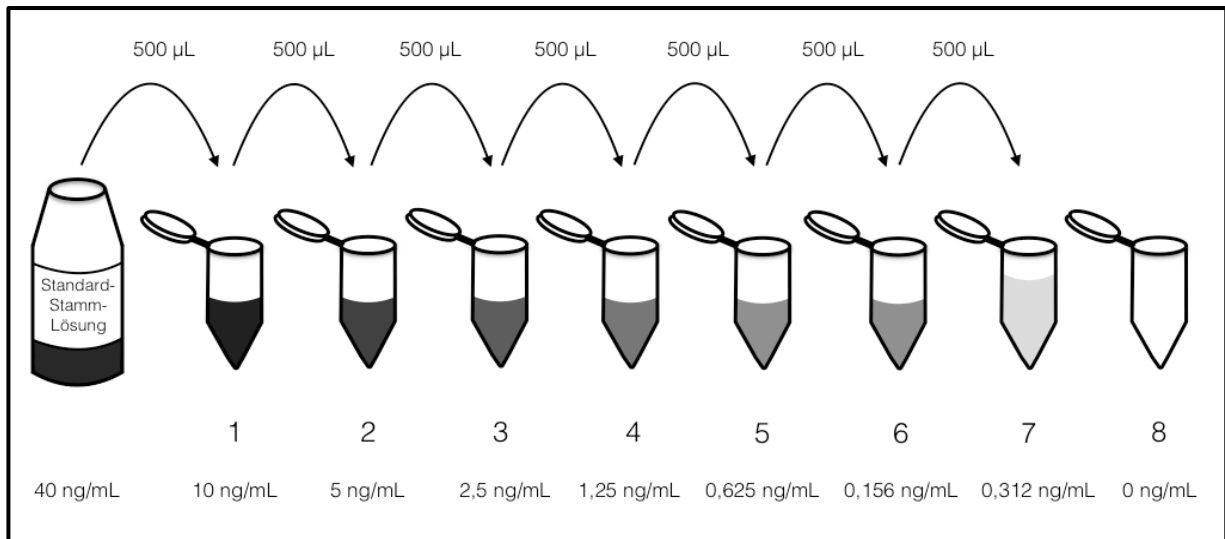
entsprechend eine Konzentration von 0,312 ng/mL vorlagen. Vor jeder Verdünnung wurde das Reagiergefäß kurz geschüttelt und zentrifugiert. Das achte Reagiergefäß beinhaltete als Leerprobe nur Standard-Verdünnungsmittel und entsprach somit einer Konzentration von 0 ng/mL (siehe Abbildung 5). 120 µL des Detektions-Mittel-Konzentrats A und B wurden mit je 12 mL des entsprechenden Untersuchungs-Verdünnungs-Mittel A oder B nach kurzer Zentrifugation 100-fach zur Detektions-Reagenz A oder B verdünnt. 20 mL des Wasch-Konzentrats wurden mit 580 mL destilliertem Wasser verdünnt. Man erhielt so 600 mL der Wasch-Lösung. Die benötigte Menge TMB-Substrat wurde mit sterilen Pipetten aufgenommen.

Zu Beginn der Durchführung des ELISAs wurden zunächst sieben Vertiefungen in der ersten Spalte der ELISA-Platte mit den Standards befüllt. In die achte Vertiefung wurde die Leerprobe gegeben. Die gleiche Prozedur wurde für die zweite Spalte im Sinne einer Doppelbestimmung wiederholt. Anschließend wurden die so befüllten Vertiefungen abgedeckt, um keine Verunreinigung herbeizuführen. Im Folgenden wurden die Vertiefungen für eine Doppelbestimmung mit zuvor kurz zentrifugiertem Serum befüllt. Alle Vertiefungen der ELISA-Platte wurden so mit jeweils 100 µL Standard, Leerprobe oder Serum befüllt. Anschließend wurde die gesamte Platte abgedeckt und für eine Stunde bei 37°C inkubiert.

Nach Ablauf der Zeit wurde die Flüssigkeit entfernt, 100 µL Detektions-Reagenz A zu jeder Vertiefung hinzugefügt und erneut eine Stunde bei 37°C inkubiert. Anschließend wurde die Lösung aspiriert und die Vertiefung mit je 300 µL Wasch-Lösung befüllt, welche so bis zu zwei Minuten in den Vertiefungen verblieb und dann entfernt wurde. Auf diese Weise wurde dreimal gewaschen. Nach dem dritten Waschgang konnte die Wasch-Lösung entfernt werden und je 100 µL des Detektions-Reagenz B wurden in die Vertiefungen gegeben, um anschließend für 30 Minuten bei 37°C inkubiert zu werden. Im Folgenden wurde der Waschvorgang wie beschrieben weitere fünfmal wiederholt.

Anschließend konnte jeder Vertiefung 90 µL des lichtempfindlichen TMB-Substrats hinzugefügt und für 17 Minuten bei 37°C inkubiert werden, wodurch eine unterschiedliche Blaufärbung der Vertiefungen zu beobachten war. Bei Zugabe von je 50 µL der Stopp-Lösung fand dann ein gelber Farbumschlag statt.

Nach der Entfernung von Wassertropfen und Fingerabdrücken auf der Rückseite der Platte wurde unmittelbar die photometrische Messung bei 450 nm durchgeführt. Die Ermittlung der Konzentrationen fand mit Hilfe der entstandenen Standardkurven statt. Es wurde jeweils der Mittelwert der in Doppelbestimmung durchgeführten Messungen ermittelt und nur bei einem cv <10% in die Auswertung mit einbezogen.



**Abbildung 5:** Herstellung der Standards in einer Verdünnungsreihe; Skizze entsprechend der Herstellerangaben der Cloud-Clone Corp. umgezeichnet

### II.3 Polymorphismen in der FoCus-Kohorte

In der FoCus-Kohorte wurden 964193 SNPs mit Hilfe eines *Microarray*, dem Omni Express Exome array, unter strenger Qualitätskontrolle bestimmt (Degenhardt et al. 2016). Das Genomanalyse-Set PLINK wurde benutzt, um die Informationen der SNPs aus den verfügbaren OmniExpressExome Array Daten zu extrahieren (Purcell et al. 2007). SNPs der zwei ausgesuchten Kandidatengene *WNT5A* und *SFRP5* wurden näher untersucht. Sie lagen zur Auswertung vor, sofern die entsprechenden Varianten in mehr als 5% der Studienteilnehmer zu finden waren. Hierbei wurde stets unterschieden, ob der Wildtyp, also die nicht mutierte Variante, vorlag oder der SNP zu heterozygoten oder homozygoten Genvarianten führte.

SFRP5-SNP rs2039826 liegt auf Chromosom 10 in der Nähe eines kodierenden Abschnitts. Er führt laut Datenbank dbSNP (*Database of single nucleotide polymorphisms*) zu einer Nukleotidvariante in einem untranslatierten Bereich, dem 3'-UTR (*three prime untranslated region*) (rs2039826 [Homo sapiens]).

Zehn Wnt5a-SNPs, rs1160057, rs472631, rs557077, rs566926, rs648872, rs1795651, rs1829556, rs7624718, rs12497254, rs17711589 wurden in der FoCus-Kohorte analysiert. Sie alle liegen auf Chromosom 3. Drei dieser SNPs werden im Folgenden näher charakterisiert.

SNP rs1829556 liegt in der Nähe des Genabschnitts, welcher für Wnt5a kodiert. Er führt zu einer Variante in dem 3'-UTR-Bereich. SNP rs12497254 führt 500 Basen stromabwärts, also in 3'-Richtung hinter dem *WNT5A*-Gen zu einer Einzelnukleotid-Variante. SNP rs1795651 ist ein Polymorphismus, der zu einer Einzelnukleotid-Variante, in der Nähe des Genabschnitts, welcher für Wnt5a kodiert, führt. Er liegt zwei Kilobasen in 5'-Richtung vor dem *WNT5A*-Gen.

Für diese elf zur Analyse vorliegenden Polymorphismen wurde nach Assoziationen zur Häufigkeit bei Studienteilnehmern der Parodontitisgruppe gesucht. Weiter wurde der Zusammenhang zwischen dem Auftreten von Polymorphismen sowie den sFRP5- und Wnt5a-Serumkonzentration in unserer Kohorte analysiert.

Der systemmedizinische Ansatz führte dazu, dass es sich bei der Kohorte, die zur Auswertung der SNPs vorlag, nicht um die identische Kohorte handelte, bei der die anderen Analysen durchgeführt wurden.

## II.4 Material und verwendete Reagenzien

### Lagerung, Bearbeitung und Auswertung

Eisschränke	Thermo Scientific Herafreeze BHFU400B, Temperatur -80 °C
Kühlschrank	Gefrierschrank GNP 3755 Premium NoFrost der Firma Liebherr, Temperatur -20°C FKS 3600-1 der Firma Liebherr, 4°C
Inkubator	Inkubator GFL 3032 der Firma Gesellschaft für Labortechnik mbH
Zentrifugen	Rotilabo Minizentrifuge der Firma Carl Roth VWR Micro Star 17R
Schüttler	Heidolph Reax 2010
ELISA-Kits	SEC842Hu von Usn Life Science Inc. SEP549Hu von Usn Life Science Inc.
Absorptions-Messung	Berthold Technologies, Mithras LB 940
Auswertung	Micro Win 2000

### Verbrauchsmaterialien

Pipetten	Research Plus 100 µL und 1000 µL der Firma Eppendorf
Pipetten-Spitzen	Research Plus 300 µL Multichannel-Pipette der Firma Eppendorf
Destilliertes Wasser	Quality Pipette Tips 20-300 µL der Firma Eppendorf
Reagiergefäße	Biosphere Filter Tips 100-1000 µL der Firma Sarstedt Reagiergefäß 1,5 ml der Firma Sarstedt

## II.5 Statistik

Statistische Analysen wurden mit dem Programm R für Mac (R 3.3.2 GUI 1.68 Mavericks build (7288)) durchgeführt.

Der Fischer-Test fand bei kleinen Fallzahlen ( $n < 20$ ) oder ungleich verteilten Fallzahlen für nominal skalierte Daten Anwendung, sowie der  $\chi^2$ -Test für größere Stichproben.

Tests auf Normalverteilung bei kontinuierlichen Daten erfolgten mit Hilfe des Shapiro-Wilk-Tests.

Bei einer Normalverteilung wurde zur interindividuellen Analyse von zwei Gruppen der students T-Test durchgeführt, bei mehr als zwei Gruppen die einfaktorielle Varianzanalyse (ANOVA).

Lag keine Normalverteilung vor, wurde zur interindividuellen Analyse von zwei Gruppen der Wilcoxon-Mann-Whitney-Test, bei mehr als zwei Gruppen der Kruskal-Wallis-Test, durchgeführt.

Der Spearman-Korrelationskoeffizient fand bei Korrelationsanalysen Anwendung.

Werte von  $p < 0,05$  wurden als statistisch signifikant betrachtet. Bei multiplen Verfahren wurde die Bonferroni-Korrektur durchgeführt.

## III Ergebnisse

### III.1 Charakterisierung der FoCus-Kohorte

In der Kieler FoCus-Kohorte wurden 373 Probanden mit einer Parodontitis hinsichtlich ihres Schweregrades in eine Gruppe ohne Zahnverlust (n=245) und eine Gruppe mit Zahnverlust (n=128) eingeteilt. Beiden Gruppen wurden parodontal gesunde gematchte Kontrollen aus der FoCus-Kohorte zugeordnet und anschließend hinsichtlich verschiedener Parameter analysiert.

Die Validierung der gesamten Kohorte ergab hinsichtlich des Geschlechts 40% männliche Probanden, sowohl in der Test- als auch in der Kontrollgruppe. Bei Betrachtung der Subgruppen zeigte sich, dass in der Gruppe der Probanden ohne Zahnverlust sowie den entsprechenden Kontrollen mit 38% und 37% der Anteil der Männer niedriger war als in der Gruppe mit Zahnverlust, die 46% männliche Probanden beinhaltet sowie den dazu gematchten Kontrollen mit 45% männlichen Teilnehmern.

In beiden Gruppen befanden sich jeweils 65% Raucher. Von 2,7% der Probanden lagen keine Informationen zum Rauchverhalten vor. Der prozentuale Anteil der Raucher war in der Gruppe der Probanden mit Parodontitis und Zahnverlust und den Kontrollen mit 73% Rauchern im Gegensatz zur Gruppe der Probanden mit Parodontitis ohne Zahnverlust und entsprechenden Kontrollen mit 61% rauchenden Teilnehmern erhöht.

Studienteilnehmer, welche der Testgruppe zugeordnet wurden, waren im Median 59 Jahre alt. In der Kontrollgruppe lag der Median bei 57 Jahren. Dabei zeigten die Probanden der Parodontitisgruppe mit Zahnverlust sowie ihre Kontrollen mit 62 beziehungsweise 63 Jahren ein höheres medianes Lebensalter als die Probanden der Gruppe mit Parodontitis ohne Zahnverlust mit einem medianen Alter von 56 Jahren sowie deren Kontrollen mit 54 Jahren.

In der Parodontitisgruppe lag der BMI im Median bei 29 und in der Kontrollgruppe bei 28 kg/m<sup>2</sup>. Die Einteilung des BMI in sieben Untergruppen, welche entsprechend der WHO-Definitionen getroffen wurde, zeigte, dass die Probanden der Kohorte einer Gruppe 2 entsprachen, also entsprechend der WHO-Einteilung an Übergewicht leiden. Auch die Subgruppenanalyse zeigte, dass die Probanden der Untergruppen einer BMI-Gruppe 2 angehörten, also laut WHO-Definition übergewichtig sind.

Tests erreichten beim Vergleich der Testgruppe und der Kontrollgruppe keine Signifikanz ( $p > 0,05$ ) hinsichtlich der gematchten Faktoren, also des Geschlechts, Rauchens, Alters und des BMI (siehe Tabelle 4a-c).

**Tabelle 4a-c:** Charakterisierung der FoCUS-Kohorte **a)** Vergleich aller Probanden mit Parodontitis und ihren Kontrollen **b)** Vergleich der Probanden mit Parodontitis ohne Zahnverlust und Kontrollen und **c)** Vergleich der Probanden mit Zahnverlust mit entsprechenden Kontrollen

**a)**

	<b>Kontrollen</b>	<b>Alle</b>	<b>P-Wert</b>
<b>Anzahl</b>	373	373	-
<b>Männer [%]</b>	40	40	0,95
<b>Raucher [%]</b>	65	65	0,98
<b>Alter [Jahren]</b>	57 (48-66)	59 (49-67)	0,26
<b>BMI [kg/m<sup>2</sup>]</b>	28 (24-36)	29 (25-37)	0,2
<b>BMI-Gruppe (0-7)</b>	2 (1-4)	2 (1-4)	0,5

**b)**

	<b>Kontrollen</b>	<b>Kein Zahnverlust</b>	<b>P-Wert</b>
<b>Anzahl</b>	245	245	-
<b>Männer [%]</b>	37	38	1
<b>Raucher [%]</b>	61	61	0,98
<b>Alter [Jahren]</b>	54 (46-65)	56 (47-65)	0,27
<b>BMI [kg/m<sup>2</sup>]</b>	27 (24-35)	28 (24-37)	0,43
<b>BMI-Gruppe (0-7)</b>	2 (1-4)	2 (1-4)	0,7

**c)**

	<b>Kontrollen</b>	<b>Zahnverlust</b>	<b>P-Wert</b>
<b>Anzahl</b>	128	128	-
<b>Männer [%]</b>	45	46	1
<b>Raucher [%]</b>	73	73	1
<b>Alter [Jahren]</b>	62 (53-69)	63 (55-69)	0,65
<b>BMI [kg/m<sup>2</sup>]</b>	29 (25-37)	30 (26-39)	0,29
<b>BMI-Gruppe (0-7)</b>	2,5 (2-4)	2 (2-4)	0,6

BMI=Body Mass Index (Gewicht [kg]/Größe [m<sup>2</sup>]),  
Mediane und Interquartilabstand für Daten angegeben; P-Werte gerundet



### III.2 Validierung der Untergruppen mit Parodontitis

Der Vergleich der zwei Untergruppen brachte, wie in der Tabelle 5 dargestellt, signifikant unterschiedlich Ergebnisse für bekannte auf den Schweregrad der Parodontitis Einfluss nehmende Faktoren wie Rauchen, Alter, CRP, Bluthochdruck (Selbstauskunft) und ein postmenopausaler Studienzeitpunkt bei Frauen (über eine Selbstauskunft, dass die letzte Menstruationsblutung vor über einem Jahr stattfand).

**Tabelle 5:** Validierung der Parodontitis Subgruppen ohne und mit Zahnverlust

	kein Zahnverlust	Zahnverlust	P-Wert
<b>Anzahl</b>	245	128	
<b>Männer [%]</b>	38	46	0,14
<b>Raucher [%]</b>	60	71	0,03
<b>Alter [Jahren]</b>	56 (47–65)	63 (55–69)	<0,01
<b>BMI [kg/m<sup>2</sup>]</b>	28 (24–37)	30 (26–39)	0,09
<b>Bluthochdruck [%]</b>	48	61	0,02
<b>Menopause [%]</b>	55	69	0,03
<b>CRP [mg/L]</b>	1,5 (0,9-3,8)	2,8 (1,1-6,3)	<0,01

BMI=Body Mass Index (Gewicht [kg]/Größe [m<sup>2</sup>]),  
Mediane und Interquartilabstand für Daten angegeben; P-Werte gerundet

### III.3 Die Entzündungsparameter bei Parodontitis

Der Vergleich der Parodontitisgruppe mit den gematchten Kontrollen erreichte bezüglich der klassischen Entzündungsmarker IL6 und CRP in keiner der Gruppen das Signifikanzniveau ( $p > 0,05$ ; siehe Tabelle 6a-b).

**Tabelle 6a-c:** Klassische Entzündungsmarker IL6 und CRP in der FoCus-Kohorte **a)** im Vergleich aller Probanden mit Parodontitis und ihren Kontrollen **b)** im Vergleich der Probanden mit Parodontitis ohne Zahnverlust und Kontrollen und **c)** der Probanden mit Zahnverlust und entsprechenden Kontrollen

**a)**

	Kontrollen	Alle	P-Wert
IL6 [pg/mL]	3,5 (2,0-5,1)	3,4 (2,1-5,4)	0,83
CRP [mg/L]	1,9 (0,9-4,3)	1,9 (0,9-4,9)	0,74

**b)**

	Kontrollen	Kein Zahnverlust	P-Wert
IL6 [pg/mL]	3,3 (1,9-4,9)	3,2 (1,9-4,8)	0,80
CRP [mg/L]	1,7 (0,9-4,2)	1,5 (0,9-3,8)	0,89

**c)**

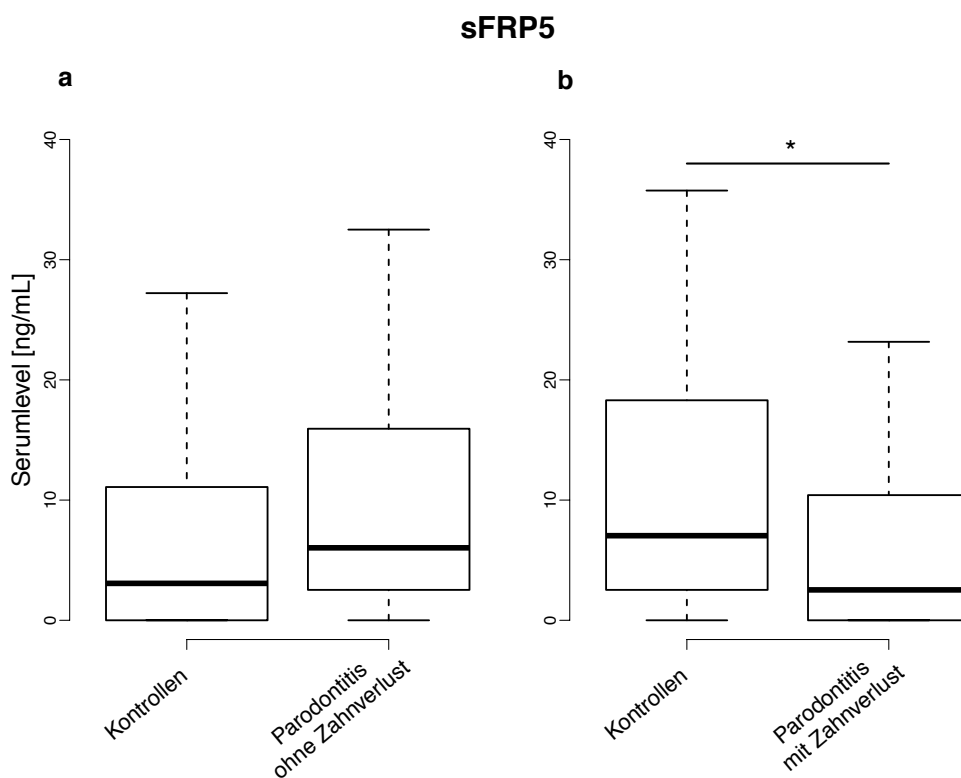
	Kontrollen	Zahnverlust	P-Wert
IL6 [pg/mL]	3,8 (2,2-5,5)	4,1 (2,5-6,2)	0,57
CRP [mg/L]	2,4 (1,0-4,7)	2,8 (1,1-6,3)	0,43

Mediane und Interquartilabstand für Daten angegeben; P-Werte gerundet

### III.4 sFRP5-Serumspiegel bei schwerer Parodontitis signifikant verringert

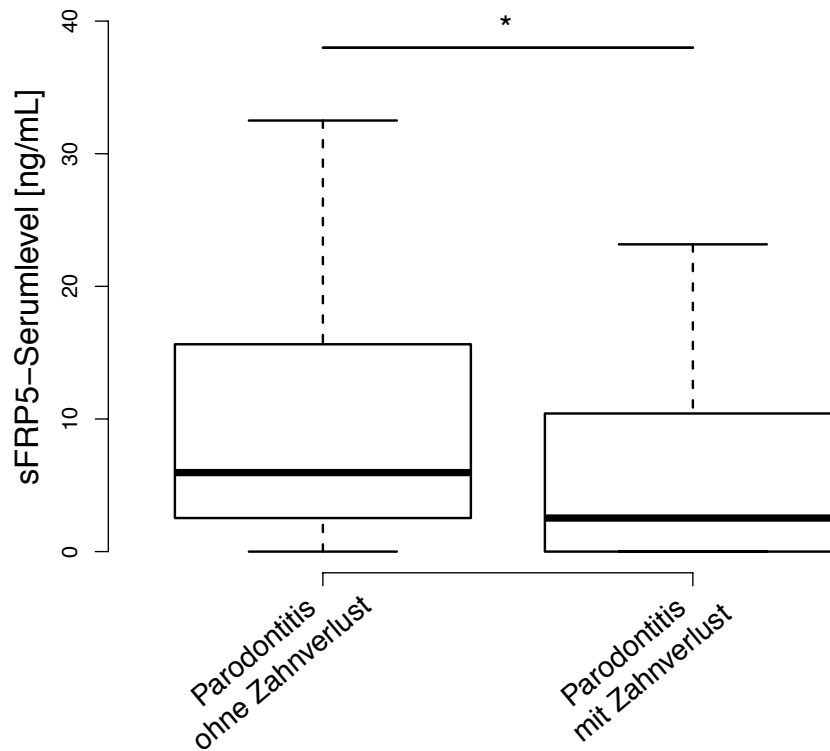
Die per Sandwich-ELISA gemessenen Serumkonzentrationen des anti-inflammatorischen sFRP5 aus der Parodontitisgruppe wurden mit den entsprechenden sFRP5-Serumlevels der gematchten Kontrollen verglichen. Der Median der sFRP5-Werte in der gesamten Parodontitisgruppe (n=97) lag bei 3,4 (2,5-12,6) ng/mL. Der Median der gematchten Kontrollen (n=97) lag bei 4,5 (0,0-13,6). Es zeigten sich keine signifikanten Unterschiede der sFRP5-Serumlevel der gematchten Kontrollen im Vergleich zu denen der Probanden der gesamten Parodontitisgruppe (p=0,88). Die nähere

Betrachtung der Untergruppen zeigte im Vergleich der sFRP5-Serumlevel der gematchten Kontrollen (n=56) mit Probanden der Parodontitisgruppe ohne Zahnverlust (n=56) keine signifikanten Unterschiede im sFRP5-Serumlevel ( $p=0,06$ ). Der Median in der Kontrollgruppe lag bei 3,1 (0,0-10,6) ng/mL, in der Parodontitisgruppe ohne Zahnverlust lagen die sFRP5-Serumwerte bei 6,0 (2,5-15,8) ng/mL (Abbildung 6a). In der Gruppe der Probanden mit einer Parodontitis und Zahnverlust (n=41) zeigte sich signifikant weniger anti-inflammatorisches sFRP5 im Serum als bei den gematchten Kontrollen ( $p=0,02$ ). Der Median des gemessenen sFRP5 lag bei den Kontrollen (n=41) bei 7,0 (2,5-18,3) ng/mL und bei der Gruppe mit Parodontitis und Zahnverlust bei 2,5 (0,0-10,4) ng/mL (Abbildung 6b).



**Abbildung 6a-b:** Box-Whisker-Plot der sFRP5-Serumlevel der Probanden **a)** der Parodontitisgruppe ohne Zahnverlust und entsprechenden Kontrollen und **b)** der Parodontitisgruppe mit Zahnverlust und Kontrollen. Werte außerhalb der Whisker sind nicht abgebildet. \*  $p<0,05$

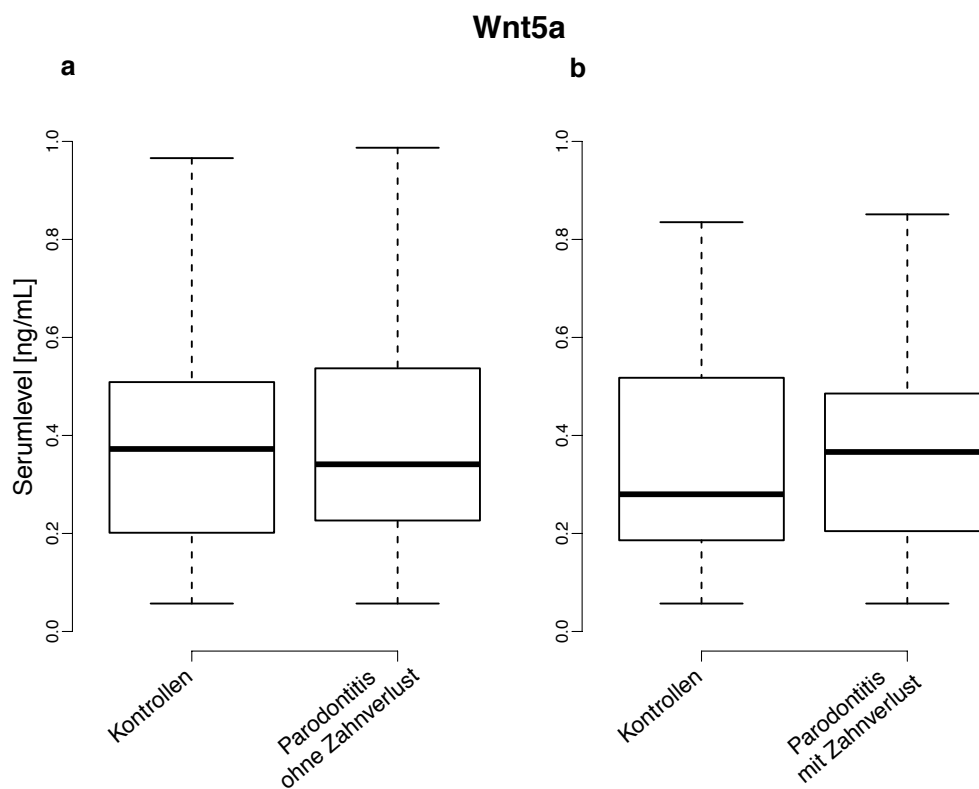
Der direkte Vergleich der ungematchten Untergruppen (Abbildung 7), also der Vergleich der Gruppe ohne Zahnverlust und der Probandengruppe mit Zahnverlust, zeigte ebenfalls signifikant niedrigere sFRP5-Level bei einer Parodontitis mit Zahnverlust ( $p=0,04$ ).



**Abbildung 7:** Box-Whisker-Plot der sFRP5-Serumlevel der Probanden der Parodontitisgruppe ohne Zahnverlust und der Parodontitisgruppe mit Zahnverlust. Werte außerhalb der Whisker sind nicht abgebildet. \*  $p<0,05$

### III.5 Unveränderte Wnt5a-Serumlevel bei Parodontitis

Die per Sandwich-ELISA gemessenen Serumkonzentrationen des pro-inflammatorischen Wnt5a aus der Parodontitisgruppe wurden mit den Wnt5a-Serumlevels der gematchten Kontrollen verglichen. Die Wnt5a-Serumkonzentrationen in der gesamten Parodontitisgruppe (n=132) zeigten mit Werten von 0,34 (0,21-0,53) ng/mL im Vergleich zu gematchten Kontrollen (n=132) mit Wnt5a-Serumkonzentrationen von 0,34 (0,21-0,53) ng/mL keine signifikanten Unterschiede ( $p=0,66$ ). Die Betrachtung der Untergruppen zeigte keine signifikanten Veränderungen der Wnt5a-Serumlevel. Der Wnt5a-Serumlevelvergleich der Probanden der Parodontitisgruppe ohne Zahnverlust (n=85) zeigte mit Konzentrationen 0,34 (0,23-0,54) ng/mL keine signifikanten Unterschiede der Wnt5a-Serumlevel im Vergleich zur Kontrollgruppe (n=85) mit Serumwerten von 0,37 (0,20-0,51) ng/mL ( $p=0,83$ ; Abbildung 8a).



**Abbildung 8a-b:** Box-Whisker-Plot der Wnt5a-Serumlevel **a)** von Probanden der Parodontitisgruppe und Kontrollen ohne Zahnverlust ( $p=0,83$ ) sowie **b)** von Probanden mit Parodontitis mit Zahnverlust und entsprechenden Kontrollen ( $p=0,73$ ); Werte außerhalb der Whisker sind nicht abgebildet.

Auch in der Gruppe mit Zahnverlust (n=47) erreichten Unterschiede der Wnt5a-Serumkonzentrationen von 0,37 (0,20-0,49) ng/mL im Vergleich zu Serumlevel der Kontrollgruppe (n=47) mit 0,28 (0,19-0,52) ng/mL nicht das Signifikanzniveau ( $p=0,73$ ; Abbildung 8b).

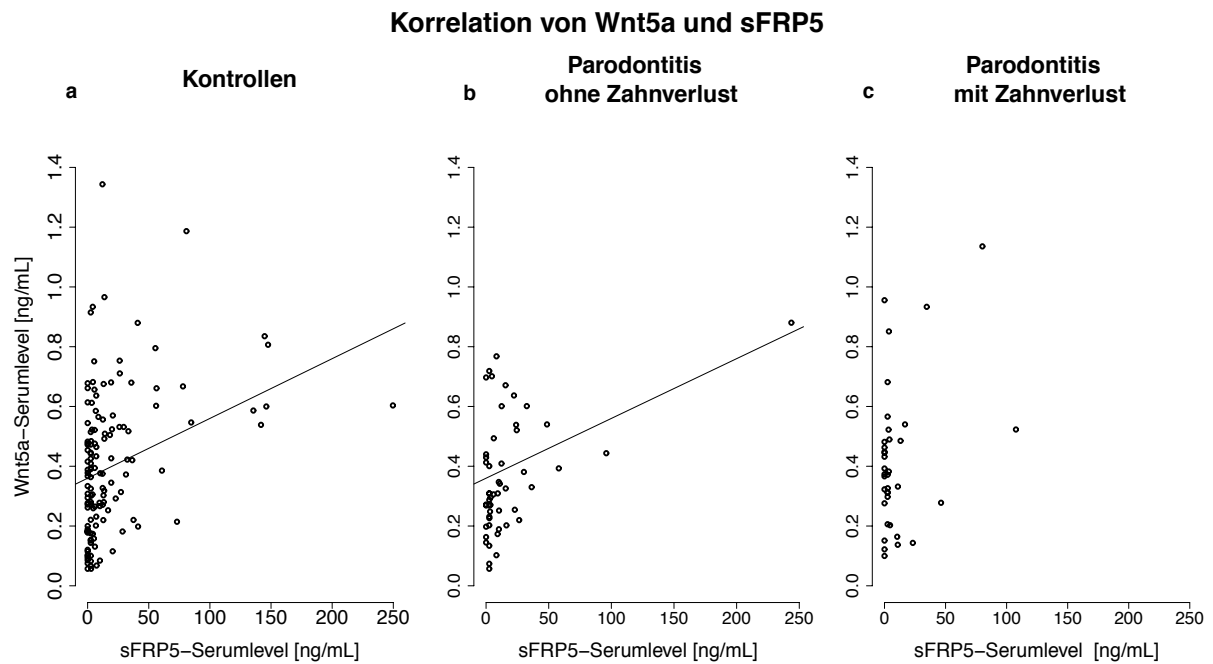
### **III.6 Keine Veränderung der Wnt5a-/sFRP5-Ratio bei Parodontitis verglichen mit Kontrollen**

Das Verhältnis der per Sandwich-ELISA gemessenen Wnt5a- und sFRP5-Serumlevel der Probanden mit Parodontitis wurde mit der Ratio aus Wnt5a- und sFRP5-Serumlevel von gematchten Kontrollen verglichen.

Dabei zeigte sich sowohl im Vergleich aller Probanden mit Parodontitis ( $p=0,7$ ), als auch im Subgruppenvergleich der Probanden ohne Zahnverlust und der gematchten Kontrollen ( $p=0,65$ ) als auch im Vergleich der Gruppe mit einer Parodontitis und Zahnverlust und den Kontrollen ( $p=0,19$ ) keine signifikanten Veränderungen der Ratio aus Wnt5a- und sFRP5-Serumleveln.

### **III.7 Veränderte Korrelation von Wnt5a- und sFRP5-Serumleveln bei Parodontitis mit Zahnverlust**

sFRP5- und Wnt5a-Serumlevel korrelierten signifikant in Serumproben gesunder Kontrollen ( $p<0,01$ ;  $r_s=0,4$ ; Abbildung 9a) und in Proben von Probanden mit einer Parodontitis ohne Zahnverlust ( $p=0,01$ ;  $r_s=0,35$ ; Abbildung 9b). Für Studienteilnehmer der Gruppe mit Parodontitis mit Zahnverlust konnte keine signifikante Korrelation der sFRP5- und Wnt5a-Level gefunden werden ( $p=0,32$ ;  $r_s=0,17$ ; Abbildung 9c).



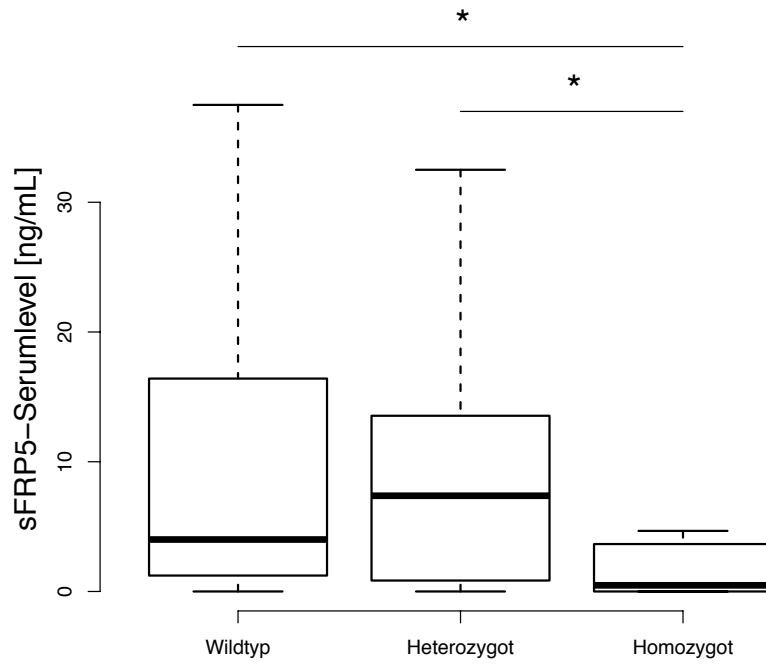
**Abbildung 9a-c:** Korrelationsanalyse der Serumlevel von Wnt5a und sFRP5 **a)** Kontrollen, **b)** Probanden mit Parodontitis ohne Zahnverlust und **c)** Probanden mit Parodontitis und Zahnverlust. Zur Korrelationsanalyse wurde Spearman's Korrelation angewandt.

### III.8 sFRP5- und Wnt5a-SNPs bei Parodontitis

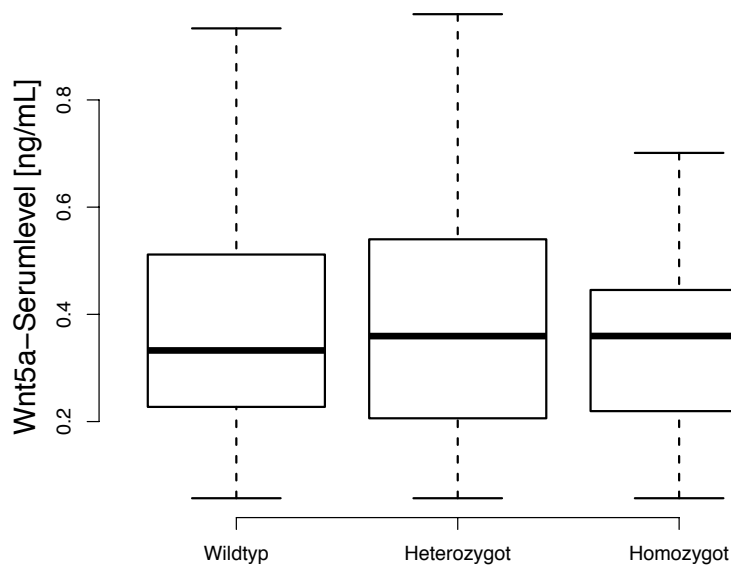
#### III.8.1 Homozygotie des sFRP5-SNPs rs2039826 führt zu niedrigeren sFRP5-Serumwerten

Es wurde ein SNP im *SFRP5*-Gen untersucht. Der bekannte SNP rs2039826 ist ein SNP auf Chromosom 10 in einem Genabschnitt, welcher für sFRP5 kodiert. Er führt zu einer Variante in einem bestimmten untranslatierten Bereich, dem 3'-UTR. Es wurde analysiert, welche Effekte dieser SNP auf die sFRP5- und Wnt5a-Serumlevel hat. Dabei konnte gezeigt werden, dass bei homozygotem Vorliegen des rs2039826 Polymorphismus signifikant geringere sFRP5-Serumkonzentrationen im Vergleich zum heterozygoten Vorliegen des Polymorphismus ( $p=0,047$ ) oder dem Auftreten des Wildtyps ( $p=0,036$ ), messbar waren (siehe Abbildung 10).

Die Wnt5a-Serumlevel zeigten keine signifikanten Veränderungen im Vergleich von Wildtyp und heterozygoter sowie homozygoter rs2039826-Variante (Abbildung 11).



**Abbildung 10:** Box-Whisker-Plot der sFRP5-Serumlevel bei Vorliegen des SNPs rs2039826 als Wildtyp oder hetero- bzw. homozygot verändert. Serumwerte außerhalb der Whisker sind nicht abgebildet. \* $p < 0,05$

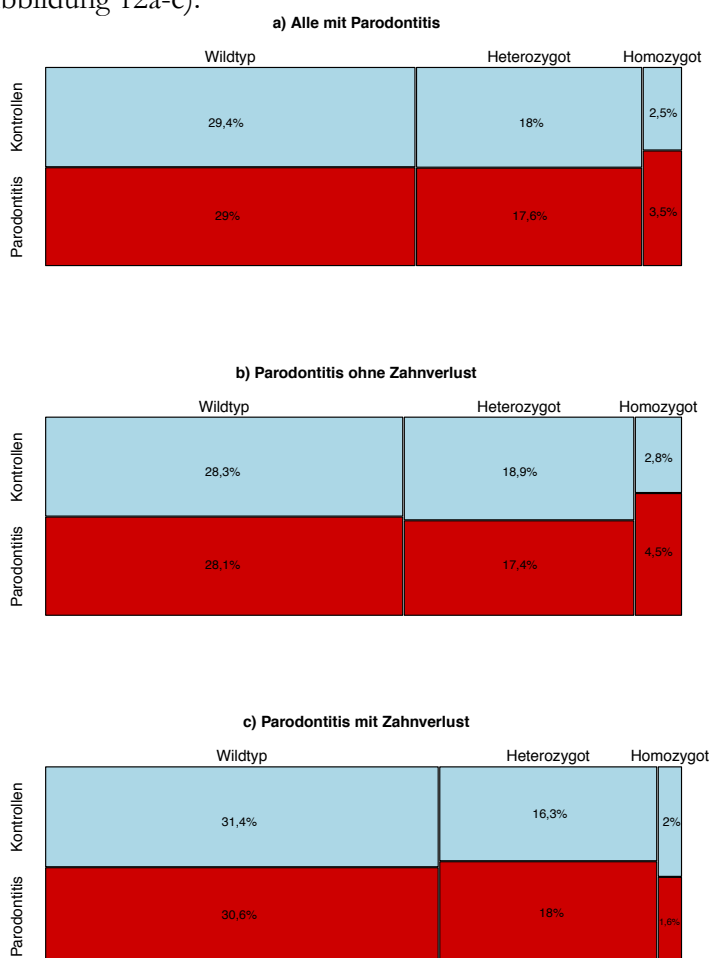


**Abbildung 11:** Box-Whisker-Plot der Wnt5a-Serumlevel bei Vorliegen des SNPs rs2039826 als Wildtyp oder hetero- bzw. homozygot verändert. Serumwerte außerhalb der Whisker sind nicht abgebildet.



Die Untersuchung der Verteilung des SNPs innerhalb der Parodontitisgruppe und den entsprechenden Kontrollen ergab, dass der Wildtyp insgesamt am Häufigsten vorlag. In der gesamten Parodontitisgruppe und den entsprechenden Kontrollen kam er zu 58,4% vor, in der Gruppe ohne Zahnverlust und den Kontrollen zu 56,4% und in der Gruppe mit Parodontitis und Zahnverlust und den dazugehörigen Kontrollen zu 62,0%. Heterozygot lag der SNP rs2039826 in der gesamten Parodontitisgruppe und bei den Kontrollen zu 35,6%, in der Gruppe ohne Zahnverlust und bei den entsprechenden Kontrollen zu 36,27% und in der Gruppe mit Zahnverlust zuzüglich der Kontrollen zu 34,3% vor. Homozygot kam der SNP am Seltensten vor. In der gesamten Gruppe mit Parodontitis und den Kontrollen zu 6%, in der Gruppe ohne Zahnverlust mit den entsprechenden Kontrollen zu 7,3% und in der Parodontitisgruppe mit Zahnverlust und den dazugehörigen Kontrollen zu 3,7%.

Weiter wurde die Verteilung der SNP-Varianten in allen Subgruppen näher betrachtet. Beim Vergleich der Auftrittshäufigkeit der unterschiedlichen Ausprägung des SNPs rs2039826 (Wildtyp, Heterozygotie, Homozygotie) in der gesamten Parodontitisgruppe, der Gruppe ohne Zahnverlust und der Gruppe mit Zahnverlust und einer Parodontitis mit den entsprechenden Kontrollen, wurden keine signifikanten Unterschiede bezüglich der Verteilung der Häufigkeiten gefunden (Abbildung 12a-c).



**Abbildung 12a-c:** Mosaicplots der relativen Häufigkeiten des SNPs rs2039826 in der FoCus-Kohorte **a)** aller Probanden mit Parodontitis und allen Kontrollen (100% entsprechen n=711), **b)** der Probanden mit Parodontitis ohne Zahnverlust und ihren gematchten Kontrollen (100% entsprechen n=466) und **c)** der Gruppe mit Parodontitis und Zahnverlust sowie mit gematchten Kontrollen (100% entsprechen n=245). Horizontal aufgetragen sind die möglichen Ausprägungen des SNPs rs2039826. Vertikal aufgetragen sind die Zugehörigkeit zur Kontroll- (blau) oder Parodontitisgruppe (rot).

### III.8.2 Einfluss von Wnt5a-SNPs auf Wnt5a- und sFRP5-Serumlevel

Es lagen insgesamt zehn SNPs, vor, welche die Expression des *WNT5A*-Gens beeinflussen, nämlich rs1160057, rs472631, rs557077, rs566926, rs648872, rs1795651, rs1829556, rs7624718, rs12497254 und rs17711589. Auf Grund dessen wurde das Signifikanzniveau nach Bonferroni adjustiert und bei einem p-Wert <0,005 erreicht. Für alle diese SNPs wurde sowohl die Verteilung innerhalb der Parodontitisgruppen und den Kontrollen sowie die Höhe der entsprechenden sFRP5- und Wnt5a-Serumlevel untersucht.

Für die acht SNPs rs1795651, rs1160057, rs472631, rs557077, rs566926, rs648872, rs7624718 und rs17711589 welche in der Nähe des *WNT5A*-Gens liegen, konnten keine signifikanten Unterschiede in der Höhe der sFRP5- und/oder Wnt5a-Serumlevel bei unterschiedlicher Ausprägung gezeigt werden (Tabelle 7a-b). Ausnahmen bildeten hierbei in Tabelle 7 und 8 zuerst aufgeführten SNP rs1829556 und SNP rs12497254.

**Tabelle 7a-b:** a) Wnt5a-Serumlevel und b) sFRP5-Serumlevel bei Vorliegen der SNPs als Wildtyp sowie Hetero- oder Homozygot. P-Werte aus Kruskal-Analyse sind aufgeführt.

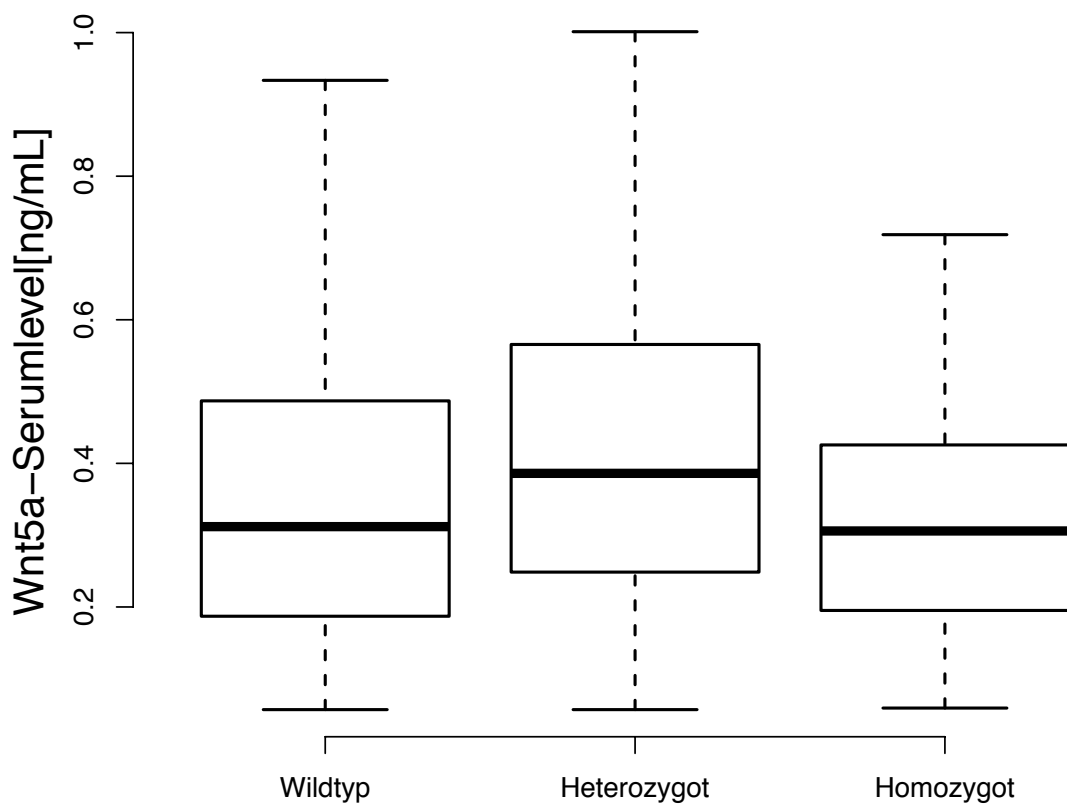
#### a) Wnt5a-Serumlevel [ng/mL]

	Wildtyp	Heterozygot	Homozygot	P-Wert
<b>rs1829556</b>	0,3 (0,2-0,5)	0,4 (0,2-0,6)	0,3 (0,2-0,4)	<b>0,006</b>
<b>rs12497254</b>	0,3 (0,2-0,5)	0,4 (0,2-0,6)	0,3 (0,2-0,4)	<b>0,03</b>
<b>rs1795651</b>	0,3 (0,2-0,5)	0,4 (0,2-0,5)	0,4 (0,2-0,5)	0,9
<b>rs1160057</b>	0,4 (0,2-0,5)	0,3 (0,2-0,5)	0,4 (0,2-0,5)	0,3
<b>rs472631</b>	0,3 (0,2-0,5)	0,4 (0,2-0,5)	0,3 (0,2-0,5)	0,2
<b>rs557077</b>	0,3 (0,2-0,5)	0,4 (0,2-0,5)	0,3 (0,2-0,6)	0,8
<b>rs566926</b>	0,3 (0,2-0,5)	0,3 (0,2-0,5)	0,4 (0,3-0,6)	0,2
<b>rs648872</b>	0,3 (0,2-0,5)	0,4 (0,2-0,5)	0,2 (0,1-0,4)	0,2
<b>rs7624718</b>	0,3 (0,2-0,5)	0,3 (0,2-0,5)	0,4 (0,3-0,6)	0,5
<b>rs17711589</b>	0,4 (0,2-0,5)	0,3 (0,2-0,5)	0,2 (0,2-0,5)	0,2

#### b) sFRP5-Serumlevel [ng/mL]

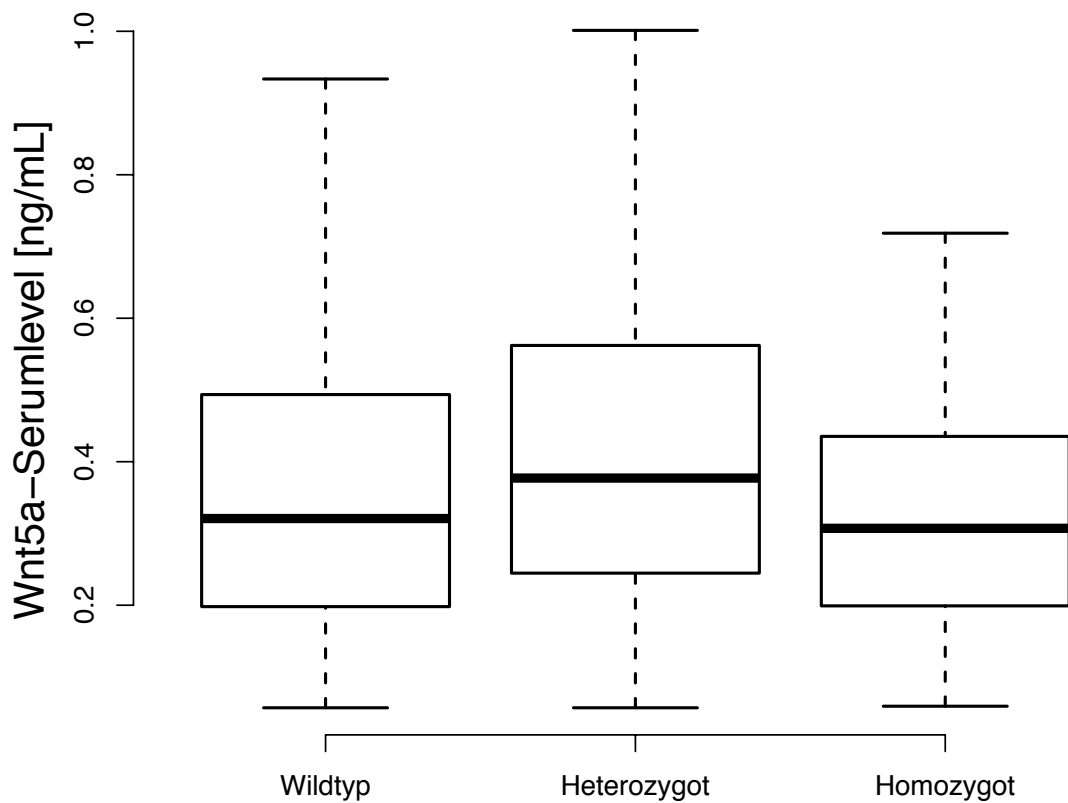
	Wildtyp	Heterozygot	Homozygot	P-Wert
<b>rs1829556</b>	6,2 (0,5-24,4)	3,4 (1,0-13,5)	4,0 (0,0-12,9)	0,6
<b>rs12497254</b>	6,1 (0,2-24,2)	3,4 (1,1-14,1)	4,0 (0,0-12,9)	0,7
<b>rs1795651</b>	4,6 (0,3-15,6)	3,6 (1,0-16,3)	2,6 (0,3-6,3)	0,6
<b>rs1160057</b>	5,8 (1,5-16,4)	4,5 (0,1-13,5)	2,5 (0,0-13,9)	0,7
<b>rs472631</b>	6,3 (0,7-28,1)	3,0 (0,2-12,7)	5,8 (1,2-16,2)	0,4
<b>rs557077</b>	5,1 (1,2-15,7)	2,6 (0,0-13,8)	5,9 (0,2-34,5)	0,6
<b>rs566926</b>	3,8 (0,0-13,4)	3,4 (0,7-12,5)	15,6 (2,2-24,6)	0,2
<b>rs648872</b>	4,5 (0,9-15,9)	2,6 (0,6-13,2)	6,3 (0,0-31,3)	0,9
<b>rs7624718</b>	4,5 (1,3-16,2)	3,1 (0,0-13,3)	1,0 (0,0-7,8)	0,4
<b>rs17711589</b>	4,7 (0,8-16,2)	3,6 (0,8-15,6)	4,6 (0,0-9,4)	0,6

Die nähere Analyse des Effekts von SNP rs1829556 auf die Wnt5a-Serumlevel zeigte nominell signifikant unterschiedliche Serumlevel im Kruskal-Test ( $p=0,006$ ). Die Tendenz zu höheren Wnt5a-Serumspiegeln bei Heterozygotie des SNP rs1829556 ( $n=359$ ) erreichten nach Bonferroni-Korrektur und der Adjustierung des Signifikanzlevels auf  $p<0,005$  im Einzelvergleich von Heterozygotie und Vorliegen des Wildtyps ( $n=224$ ;  $p=0,008$ ) sowie im Einzelvergleich von Heterozygotie und Homozygotie ( $n=126$ ;  $p=0,01$ ) nicht das Signifikanzniveau (siehe Tabelle 7a und Abbildung 13). Es konnten keine signifikanten Unterschiede in den sFRP5-Serumkonzentrationen, bei Homo- oder Heterozygotie des Polymorphismus oder dem Auftreten des Wildtyps festgestellt werden ( $p=0,6$ ; siehe Tabelle 6b)



**Abbildung 13:** Box-Whisker-Plot der Wnt5a-Serumlevel bei Vorliegen von SNPs rs1829556 als Wildtyp oder hetero- bzw. homozygot verändert. Serumwerte außerhalb der Whisker sind nicht abgebildet.

Auch die Analyse des SNPs rs12497254 zeigte, nach der Anwendung der Bonferroni-Korrektur und der Festlegung des Signifikanzniveaus auf  $p < 0,005$ , dass Wnt5a-Serumlevel bei Heterozygotie nominell signifikant erhöht waren ( $n=335$ ;  $p=0,0297$ ). Der Unterschied war jedoch nicht signifikant vom Vorliegen des Wildtyps ( $n=231$ ;  $p=0,03$ ) oder den Serumkonzentrationen von Wnt5a bei Homozygotie ( $n=124$ ;  $p=0,03$ ) zu unterscheiden (siehe Tabelle 7a und Abbildung 14). Es konnten keine signifikanten Unterschiede in den sFRP5-Serumkonzentrationen, bei Homo- oder Heterozygotie des Polymorphismus oder dem Auftreten des Wildtyps festgestellt werden ( $p=0,7$ ; siehe Tabelle 7b).



**Abbildung 14:** Box-Whisker-Plot der Wnt5a-Serumlevel bei Vorliegen von SNPs rs12497254 als Wildtyp oder hetero- bzw. homozygot verändert. Serumwerte außerhalb der Whisker sind nicht abgebildet.

### III.8.3 Verteilung der Auftretshäufigkeiten von Wildtyp, Heterozygotie und Homozygotie der Wnt5a-SNPs

Die mittels  $\chi^2$ -Unabhängigkeitstest analysierte Verteilung der Auftretshäufigkeiten der jeweiligen SNP-Ausprägungen bei den Probanden des gesamten Kollektivs mit Parodontitis und den Untergruppen, also der Gruppe mit Parodontitis ohne Zahnverlust sowie der Parodontitisgruppe mit Zahnverlust und den entsprechenden Kontrollen erreichte für keinen der vorliegenden Wnt5a-SNPs das Signifikanzniveau und war somit unabhängig voneinander (Tabelle 8a-c). Die einzige Ausnahme bildet SNP rs1795651, der eine nominelle Signifikanz im  $\chi^2$ -Test in der Gruppe der Parodontitisprobanden ohne Zahnverlust und entsprechenden Kontrollen zeigte ( $p=0,046$ ), die nach der Anwendung der Bonferroni-Korrektur jedoch nicht das Signifikanzniveau erreichte (Tabelle 8b).

**Tabelle 8a-c:** Die Ausprägung der SNPs rs1795651, rs1829556, rs1160057, rs472631, rs557077, rs566926, rs648872, rs7624718 und rs17711589 (Wildtyp, Heterozygot, Homozygot). Angegeben sind die relativen Häufigkeiten der Probanden in den einzelnen Gruppen, für die die entsprechenden Informationen vorlagen, in Prozent, die Gesamtanzahl der Probanden für die Informationen über den entsprechenden SNP vorlag, sowie P-Werte der  $\chi^2$ -Unabhängigkeitstests.  $P<0,005$  wurde als statistisch signifikant betrachtet.

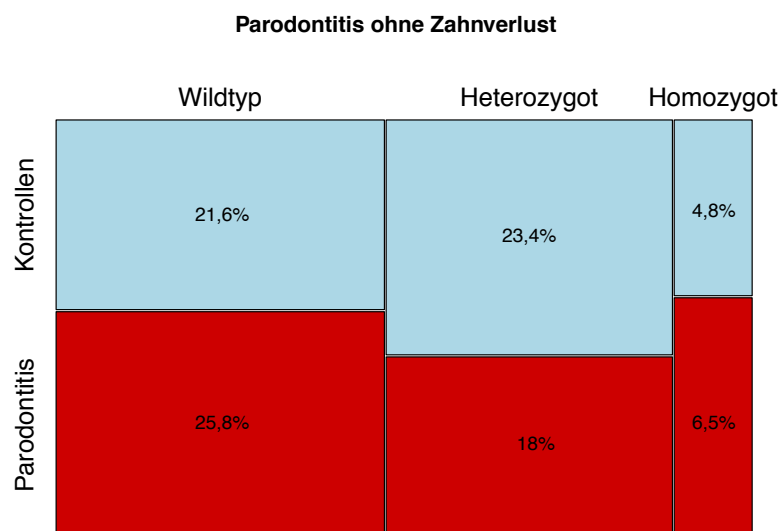
a)		Alle mit Parodontitis				
		Wildtyp	Heterozygot	Homozygot	Anzahl	P-Wert
rs1795651	Kontrollen	22,3%	23,8%	4,3%	698	0,06
	Parodontitis	25,6%	19,6%	5,6%		
rs1829556	Kontrollen	15,1%	26,2%	8,6%	709	0,6
	Parodontitis	16,5%	24,4%	9,1%		
rs12497254	Kontrollen	15,5%	26,1%	8,5%	710	0,5
	Parodontitis	17,0%	24,0%	9,0%		
rs1160057	Kontrollen	13,8%	24,8%	11,3%	710	0,4
	Parodontitis	16,2%	22,7%	11,3%		
rs472631	Kontrollen	13,1%	25,9%	10,9%	708	0,3
	Parodontitis	13,6%	23,6%	13,0%		
rs557077	Kontrollen	30,5%	17,1%	2,4%	710	0,5
	Parodontitis	31,3%	17,2%	1,5%		
rs566926	Kontrollen	30,1%	16,9%	28,2%	710	0,3
	Parodontitis	28,6%	17,2%	43,7%		
rs648872	Kontrollen	30,7%	17,0%	2,1%	710	0,4
	Parodontitis	33,4%	15,1%	1,7%		
rs7624718	Kontrollen	31,7%	16,4%	1,8%	709	0,2
	Parodontitis	35,0%	13,4%	1,3%		
rs17711589	Kontrollen	29,2%	18,5%	2,2%	710	0,7
	Parodontitis	28,9%	18,3%	3,0%		

<b>b)</b>		<b>Parodontitis ohne Zahnverlust</b>				
		<b>Wildtyp</b>	<b>Heterozygot</b>	<b>Homozygot</b>	<b>Anzahl</b>	<b>P-Wert</b>
<b>rs1795651</b>	Kontrollen	21,6%	23,4%	4,8%	462	<b>0,046</b>
	Parodontitis	25,8%	18,0%	6,5%		
<b>rs1829556</b>	Kontrollen	13,8%	26,7%	9,5%	464	0,2
	Parodontitis	17,7%	23,1%	9,3%		
<b>rs12497254</b>	Kontrollen	14,4%	26,5%	9,2%	465	0,16
	Parodontitis	17,4%	22,4%	9,2%		
<b>rs1160057</b>	Kontrollen	13,8%	25,8%	10,3%	465	0,06
	Parodontitis	16,6%	20,4%	13,1%		
<b>rs472631</b>	Kontrollen	12,1%	26,6%	11,2%	463	0,2
	Parodontitis	15,1%	22,2%	12,7%		
<b>rs557077</b>	Kontrollen	30,9%	17,2%	1,9%	465	0,7
	Parodontitis	29,5%	18,9%	1,5%		
<b>rs566926</b>	Kontrollen	30,3%	16,7%	2,8%	465	0,2
	Parodontitis	30,5%	14,8%	4,7%		
<b>rs648872</b>	Kontrollen	30,5%	17,6%	1,7%	465	0,8
	Parodontitis	32,0%	16,1%	1,9%		
<b>rs7624718</b>	Kontrollen	32,3%	16,2%	1,5%	464	0,8
	Parodontitis	33,6%	15,3%	1,1%		
<b>rs17711589</b>	Kontrollen	28,6%	19,8%	1,5%	465	0,3
	Parodontitis	29,0%	18,1%	3,0%		

<b>c)</b>		<b>Parodontitis mit Zahnverlust</b>				
		<b>Wildtyp</b>	<b>Heterozygot</b>	<b>Homozygot</b>	<b>Anzahl</b>	<b>P-Wert</b>
<b>rs1795651</b>	Kontrollen	22,9%	23,7%	3,3%	245	0,85
	Parodontitis	24,5%	22,0%	3,7%		
<b>rs1829556</b>	Kontrollen	17,6%	25,3%	7,0%	245	0,5
	Parodontitis	14,3%	27,0%	9,0%		
<b>rs12497254</b>	Kontrollen	17,6%	25,3%	6,9%	245	0,56
	Parodontitis	14,7%	27,0%	8,6%		
<b>rs1160057</b>	Kontrollen	13,9%	22,9%	13,1%	245	0,1
	Parodontitis	15,5%	26,9%	7,8%		
<b>rs472631</b>	Kontrollen	15,1%	24,5%	10,2%	245	0,2
	Parodontitis	10,6%	26,1%	13,5%		
<b>rs557077</b>	Kontrollen	45,6%	13,0%	2,5%	316	0,2
	Parodontitis	26,9%	10,8%	1,3%		
<b>rs566926</b>	Kontrollen	29,8%	17,1%	2,9%	245	0,3
	Parodontitis	24,9%	21,6%	3,7%		
<b>rs648872</b>	Kontrollen	31,0%	15,9%	2,9%	245	0,2
	Parodontitis	36,0%	13,1%	1,2%		
<b>rs7624718</b>	Kontrollen	30,6%	16,7%	2,4%	245	0,08
	Parodontitis	37,6%	11,0%	1,6%		
<b>rs17711589</b>	Kontrollen	30,2%	15,9%	3,7%	245	0,6
	Parodontitis	28,6%	18,8%	2,9%		

Die weitere Analyse der Verteilung der unterschiedlichen Ausprägung des SNP rs1795651 (Wildtyp, heterozygot, homozygot) in den Parodontitisgruppen und den gematchten Kontrollen zeigte innerhalb der gesamten Parodontitisgruppe und der Parodontitisgruppe mit Zahnverlust keine signifikanten Unterschiede ( $p=0,06$  und  $p=0,8$ ) in der Auftrittshäufigkeit. Die Analyse der Verteilung dieses SNPs innerhalb der Parodontitisgruppe und den entsprechenden Kontrollen ergab, dass der Wildtyp insgesamt am Häufigsten vorkam. In der gesamten Parodontitisgruppe und den entsprechenden Kontrollen kam er insgesamt zu 48% vor, innerhalb der Parodontitisgruppe war er mit 51,3% am häufigsten als Wildtyp vertreten. Zu 43,4% lag SNP rs1795651 in der gesamten Gruppe heterozygot vor. Die Betrachtung der Verteilung zwischen Fall- und Kontrollgruppe zeigte, dass die heterozygote Variante bei 35,8% der Probanden ohne Zahnverlust vorlag, die bei entsprechenden Kontrollen mit einem Anteil an der Gruppe der Kontrollen von 47% hier die größte Gruppe ausmachte. Die restlichen 12,9% entfielen damit bei Probanden mit einer Parodontitis auf die homozygote Variante, die insgesamt bei 11,3% der Teilnehmer aus der Gruppe ohne Zahnverlust und bei den Kontrollen auftrat (Abbildung 15). Bei den Probanden mit Parodontitis und Zahnverlust sowie den entsprechenden Kontrollen war der Wildtyp bei 47,4% der Probanden zu finden, heterozygot mutiert lag er bei 45,7% der Probanden vor und homozygot bei 6,9%.

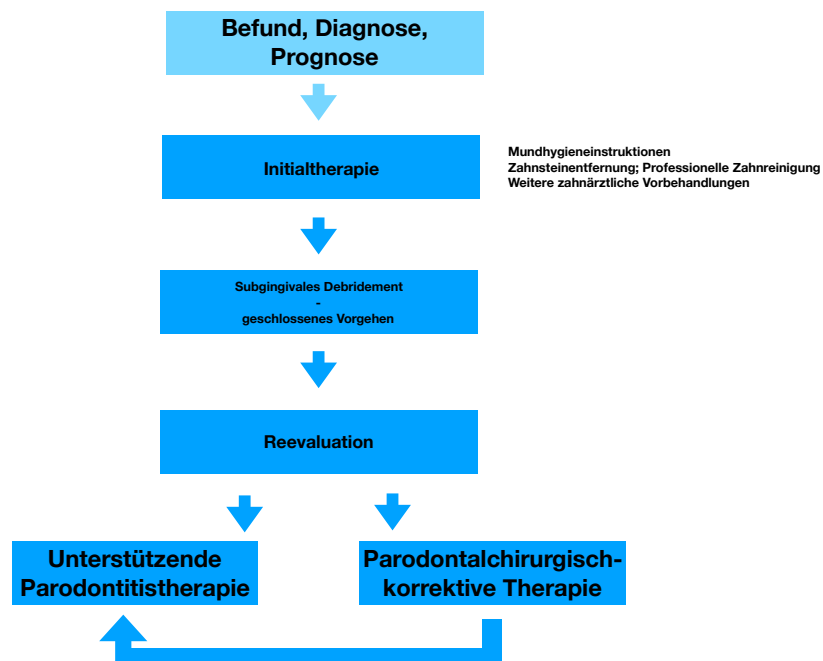


**Abbildung 15:** Mosaicplot der relativen Häufigkeiten des SNPs rs1795651 in der Parodontitisgruppe ohne Zahnverlust und gematchten Kontrollen. 100% entsprechen einer Anzahl von  $n=462$  Probanden. Horizontal aufgetragen sind die möglichen Ausprägungen des SNPs rs1795651. Vertikal aufgetragen sind die Zugehörigkeit zur Kontroll- (blau) oder Parodontitisgruppe (rot).

## IV Diskussion

### IV.1 Die Parodontitistherapie

Die systematische Parodontitistherapie ist ein evidenz-basiertes Konzept zur Behandlung von Parodontopathien. Sie umfasst in der Initialtherapie entsprechende Vorbehandlungen, wie die supragingivale Zahnsteinentfernung und Mundhygieneinstruktionen. Bei gesetzlich krankenversicherten Patienten in Deutschland schließt sich dieser ersten Phase der Initialtherapie der Antrag zur Kostenübernahme der systematischen Parodontitistherapie durch die Krankenversicherungen an. In der zweiten Phase wird ein subgingivales Debridement sowie eine Wurzelglättung und gegebenenfalls Weichteilkürretage der erkrankten Parodontien durchgeführt, mit dem Ziel möglichst entzündungsfreie parodontale Verhältnisse zu schaffen. Nach etwa 12 Wochen wird der Behandlungserfolg reevaluiert. Er entscheidet, ob in der Folge parodontalchirurgische Maßnahmen ergriffen werden müssen oder der Patient in die unterstützende Parodontitistherapie überführt werden kann (Wolf et al. 2012, S. 209; Hellwig et al. 2013, S. 551; Abbildung 16).



**Abbildung 16:** Übersichtsschema der systematischen Parodontitistherapie; Modifiziert nach Hellwig et al. 2013, Wolf et al. 2012



In einem Vorbericht des Instituts für Qualität und Wirtschaftlichkeit im Gesundheitswesen (IQWiG) mit dem Titel „[N15-01] Bewertung der systematischen Behandlung von Parodontopathien“ wurde der Erfolg der derzeitigen Parodontitis-Therapie in Deutschland vollständig in Frage gestellt ([N15-01] Bewertung der systematischen Behandlung von Parodontopathien 2017). Dies wurde von der Deutschen Gesellschaft für Parodontologie sowie der Kassenzahnärztlichen Bundesvereinigung relativiert. Sie führten das schlechte Abschneiden der systematischen Parodontitistherapie auf die lediglich kleine Anzahl analysierter Studien zurück. So wurden lediglich randomisierte, doppelblinde Studien bei der Analyse des IQWiG herangezogen. Eine Durchführung dieses Studiendesigns erscheine im Falle der Parodontitistherapie schwierig, da zumindest der Patient wisse, ob eine Therapie durchgeführt worden sei und so ein doppelblindes Studiendesign nahezu unmöglich sei (Deutsche Gesellschaft für Parodontologie 2017; Kassenzahnärztliche Bundesvereinigung (KZBV) 2017).

Zahlreiche Studien können den Nutzen der derzeit durchgeführten systematischen Parodontitistherapie auf parodontitisbezogene, klinische Parameter, sowie für die Lebensqualität der untersuchten Patientenkollektive, belegen (Shanbhag et al. 2012; Delatola et al. 2014; Franke et al. 2015; Mailoa et al. 2015; Baiju et al. 2017; Song et al. 2017).

Sicher scheint, dass die Therapie maßgeblich von der Compliance der Patienten und dem Erfolg der subgingivalen Wurzelreinigung abhängig ist (Mombelli 2003). Bei manchen Patienten ist zudem die lokale Applikation von antimikrobiellen Medikamenten oder die systemische Antibiose sinnvoll, wobei der volle Nutzen der Therapie nur durch eine Kombination aus subgingivaler Plaquekontrolle und antiinfektiöser Therapie zu erreichen ist (Herrera et al. 2000; Wolf et al. 2012, S. 287–294). Von einer kausalen Therapie ist man bei der Behandlung der entzündlichen Parodontalerkrankungen derzeit jedoch noch weit entfernt (Slots 2017).

Zudem trägt das individuelle Risikoprofil zum Erfolg der Parodontitistherapie bei. Insbesondere bei Vorliegen des metabolischen Syndroms sind protrahierte und schwere Verläufe der Parodontitis zu beobachten, die wiederum den Schweregrad der metabolischen Entzündung bedingen (Taylor et al. 2013; Chapple 2014; Watanabe und Cho 2014; Holmstrup et al. 2017; Kebede et al. 2017; Lamster und Pagan 2017; Winning und Linden 2017). Zudem wurde bereits untersucht, ob es bei erfolgreicher systematischer Parodontitistherapie zu einer Verbesserung eines vorliegenden metabolischen Syndroms führen kann, mit bisher uneindeutigen Ergebnissen (Simpson et al. 2015).

Die enge Assoziation von Stoffwechselfparametern und parodontalen Erkrankungen verdeutlicht die Wichtigkeit des Verständnisses für die pathophysiologischen Vorgänge von Metabolismus und

Immunsystem bei der Parodontitis. Die Suche nach neuen, kausalen und gezielten Therapieansätzen, welche ergänzend zur derzeit bestehenden systematischen Parodontitistherapie eingesetzt werden könnten, sollte dabei ein Ziel weiterer Forschung darstellen.

Die Klassifikation der Erkrankungen des Zahnhalteapparats wurde Anfang 2018 tiefgreifend erneuert. War zuvor im allgemeinen Sprachgebrauch von Parodontitis die Rede, war zumeist die chronische Parodontitis gemeint. Sie machte den weitaus größten Teil der parodontalen Erkrankungen aus (Armitage 1999; Meyle et al. 2002). Von ihr abzugrenzen war die aggressive Parodontitis, die früh entsteht und eine sehr rasche Progression zeigt (Armitage und Cullinan 2010).

Aufgrund neuer Forschungserkenntnisse, die die alte Klassifikation starr erscheinen ließ, wurde 2018 von der *European Federation of Periodontology* eine neue Klassifikation der parodontalen Erkrankungen vorgestellt. Die Einteilung in das Klassifikationsschema erfolgt hier mit Hilfe von *Stages* und *Grades*.

Die *Stages* ermöglichen eine Einordnung des Schweregrad der Parodontitis in *Stage* I-IV. Sie berücksichtigen dabei neben dem klinischen Attachmentverlust und den radiologisch sichtbaren Knochenverlust, sowie anderen klinischen Parametern, die die Komplexität der Erkrankung berücksichtigen, auch ob ein Patient einen Zahnverlust auf Grund der Parodontitis erleidet hat. *Stage* I und II sind dabei definiert als leichtere Formen der Parodontitis ohne Zahnverlust. Patienten mit Parodontitiden im *Stage* III und IV wiederum haben bereits auf Grund der Parodontitis Zähne verloren. Im *Stage* III bis zu vier Zähne, im *Stage* IV mindestens fünf Zähne. Mithilfe der Einteilung in die Grade A, B und C kann dann wiederum die Progressionsrate näher definiert werden, wobei hier biologische Einflussfaktoren berücksichtigt werden, die Einfluss auf die Progression der Parodontitis nehmen. Außerdem dienen der HbA1c sowie die Rauchgewohnheiten dazu den Grad der Parodontitis näher zu beschreiben (Papapanou et al.).

So eröffnet sie die Möglichkeit einer individuellen Parodontaltherapie im Sinne der Präzisionsmedizin, basierend auf einer präzisen Einordnung der Krankheit in das neue Klassifikationsschema. Zudem wird die ständige Implementierung neuer evidenter Forschungsergebnisse ermöglicht, ohne dabei eine komplette Erneuerung des Systems nötig zu machen.

## IV.2 Gestörtes Wnt5a-/sFRP5-System bei schwerer Parodontitis

Im Januar 2017 veröffentlichte eine Forschungsgruppe aus Japan und den USA ihre Arbeit zur unterschiedlichen Expression von Wnt5a und sFRP5 in humanen Gingivaepithelzellen. Sie fanden im gingivalen Gewebe von Probanden mit einer Parodontitis signifikant mehr Wnt5a- und signifikant weniger sFRP5-Protein als in gesunden Kontrollen. Zudem zeigten humane Gingivaepithelzellen eine unterschiedliche Expression von Wnt5a und sFRP5 nach Gabe der Lipopolysaccharide von *Porphyromonas gingivalis*. Im Mausmodell konnte gezeigt werden, dass die Fehlregulation von sFRP5 nicht nur Folge der Inflammation ist, sondern die Gabe desselbigen den Knochenverlust signifikant verringern kann. Dies legt nahe, dass sFRP5 in der Zukunft eine weitere Therapieoption auch im Menschen sein könnte (Maekawa et al. 2017).

In der vorliegenden Arbeit konnte erstmals gezeigt werden, dass bei Probanden mit einer schweren Parodontitis mit Zahnverlust die quantitativ via ELISA bestimmten sFRP5 Spiegel im Serum signifikant geringer sind als bei Kontrollen ( $p=0,02$ ; Abbildung 6b). Auch der ungematchte Vergleich von Parodontitisprobanden mit und ohne Zahnverlust zeigte signifikant geringere sFRP5 Serumspiegel bei denjenigen Probanden, die angegeben hatten, einen durch Parodontitis bedingten Zahnverlust erlitten zu haben ( $p=0,04$ ; Abbildung 7).

Die Erhöhung des pro-inflammatorischen Wnt5a kommt eine große Bedeutung bei Patienten mit Adipositas (Bilkovski et al. 2010; Schulte et al. 2012), Psoriasis (Gerdes et al. 2014) und Sepsis (Schulte et al. 2015) zu. Die in dieser Arbeit beschriebenen Daten zeigen, dass per ELISA quantitativ gemessene Wnt5a-Serumspiegel bei Parodontitis nicht verändert sind, unabhängig davon ob ein Zahnverlust vorliegt oder nicht (Abbildung 8a-b).

Die Autoren Maekawa et al. stellen in ihrer Veröffentlichung 2017 die Frage, ob eine Ratio aus Wnt5a/sFRP5 ein möglicher Biomarker für die Parodontitis sein könnte (Maekawa et al. 2017).

Die Analyse der Ratio aus Wnt5a- und sFRP5-Serumspiegeln in der FoCUS-Kohorte zeigte keine signifikanten Veränderungen bei Parodontitisprobanden mit und ohne Zahnverlust. Nichtsdestotrotz zeigte die Korrelationsanalyse der Serumkonzentrationen von Wnt5a und sFRP5, dass die Serumspiegel beider Proteine signifikant miteinander korrelieren - bei gesunden Kontrollen und bei Probanden mit Parodontitis ohne Zahnverlust (Abbildung 9a und b). Bei Probanden mit Parodontitis und Zahnverlust konnte keine signifikante Korrelation der parainflammatorischen Moleküle sFRP5 und Wnt5a festgestellt werden (Abbildung 9c).

Dies legt eine Störung der Balance des Wnt5a/sFRP5-Systems bei schwerer Parodontitis nahe. Zu wenig sFRP5 würde demnach zu einem Überwiegen der pro-inflammatorischen Eigenschaft von Wnt5a führen, ohne dass die Spiegel von Wnt5a, wie für zuvor beschriebene Erkrankungen, also bei Adipositas, Psoriasis und Sepsis, direkt erhöht werden.

Ob sFRP5 oder eine Ratio aus Wnt5a und sFRP5 dabei als Biomarker der Parodontitis gelten kann, konnte nicht abschließend geklärt werden. Diese Arbeit spricht dafür, dass sFRP5-Serumspiegel als Biomarker gelten könnten, die Ratio aus Wnt5a und sFRP5 jedoch nicht. Denkbar wäre, dass weitere bekannte oder aber auch unbekannte Antagonisten von Wnt5a, wie sFRP1, DKK-Proteinen oder Sclerostin, zudem an der Modulation der pro-inflammatorischen Antwort von Wnt5a beteiligt sein könnten.

Weitere klinische Studien zum Wnt5a-/sFRP5-System bei der Parodontitis, gegebenenfalls im Verlauf der systematischen Parodontitistherapie, sollten dazu dienen diesen Zusammenhang weiter zu erhellen.

Der Einsatz zielgerichteter Medikamente ist bei vielen chronisch, inflammatorischen Erkrankungen, wie der rheumatoiden Arthritis und chronisch entzündlichen Darmerkrankungen, heutzutage eine etablierte Behandlungsoption (Ben-Horin et al. 2016; Rein und Mueller 2017). Bei entzündlichen parodontalen Erkrankungen wird der Einsatz zielgerichteter Modulatoren der Immunantwort als eine mögliche zukünftige Therapieoption betrachtet (Mark Bartold und Van Dyke 2017; Aarabi et al. 2018; Suvan et al. 2018). Auch für die Therapie der apikalen Parodontitis sind derartige Behandlungsmöglichkeiten bereits in das Interesse derzeitiger Forschung gerückt (Cotti et al. 2014; Cotti et al. 2017; Tan et al. 2018). Auch sind bereits verschiedene Modulatoren der Wnt-Signalwege in das Interesse der Forschung zur präzisen, individuellen Therapie der Parodontitis gerückt (Uehara et al. 2017; Fitri et al. 2018; Haftcheshmeh et al. 2018). Unter Berücksichtigung der Ergebnisse dieser Arbeit käme demnach das Wnt5a-/sFRP5-System als ein potenzielles therapeutisches Ziel in Frage. Eine gezielte Erhöhung der sFRP5-Spiegel bei Patienten mit niedrigen sFRP5-Serumspiegeln, zum Beispiel durch die systemische oder lokale Gabe von rekombinantem sFRP5, könnte so einen erfolgsversprechenden innovativen Ansatz zur gezielten Parodontitistherapie darstellen.

Die therapeutische Beeinflussung anderer Antagonisten der Wnt-Signale ist bereits in der klinischen Erprobung. Hierbei stehen vor allem Sclerostin und Dickkopf als endogene Inhibitoren der Knochenbildung als potenzielle therapeutische Targets im Mittelpunkt der Untersuchungen (Rachner et al. 2011). So werden Sclerostin-Antikörper zur Inaktivierung von Sclerostin eingesetzt und scheinen so zu einer verbesserten Knochendichte und –struktur sowie zu einer verbesserten

Frakturheilung beizutragen (Betts et al. 2010; Ke et al. 2012). Untersuchungen zur gezielten Anwendung von Sclerostin-Antikörpern bei Patienten mit Osteoporose liefern dabei vielsprechende zukünftige Therapieansätze (Nakamura und Tanaka 2014; Genant et al. 2017). Dickkopf-Antikörper verbessern ebenfalls die Knochenneubildung und –heilung und stellen ein mögliches therapeutisches Target für Patienten mit Osteoporose dar (Nakamura und Tanaka 2014). Auch bei Knochenmetastasen durch maligne Erkrankungen, wie das multiple Myelom, Prostata- oder Mammakarzinom, wird der Einsatz von Dickkopf-Antikörpern zur Zeit getestet (Fulciniti et al. 2009; Iyer et al. 2014; Rachner et al. 2014).

Der Einsatz von rekombinanten sFRP5, im Sinne einer Phase-I-Medikamentenstudie am Menschen, ist bisher noch nicht durchgeführt worden. Im Mausmodell zeigt eine Veröffentlichung aus dem Jahr 2017 vielversprechende Ergebnisse für den Einsatz von rekombinantem sFRP5 bei einer nicht-alkoholisch induzierten Fettleber (Chen et al. 2017). Maekawa und Kollegen konnten 2017 im Parodontitis-Mausmodell zeigen, dass der lokale Einsatz von sFRP5 den Knochenverlust signifikant verringerte (Maekawa et al. 2017).

Für den Einsatz beim Menschen sollte bedacht werden, dass das Wnt5a-/sFRP5-System vielfältige Funktionen hat, sowohl bei Gesundheit als auch in Krankheit und zudem eng mit der Entstehung maligner Erkrankungen assoziiert ist (Kumawat und Gosens 2016). Dementsprechend sollten molekulare Zusammenhänge dieser Signalwege bei entzündlichen Parodontalerkrankungen untersucht werden, um die komplexe Wirkung, die der Einsatz dieser Immunmodulatoren mit sich bringen könnte, besser verstehen zu können.

### **IV.3 Einfluss des sFRP5-SNP rs2039826 auf sFRP5-Serumspiegel**

In dieser Arbeit wurden ein sFRP5-SNP und zehn Wnt5a-SNPs hinsichtlich ihrer Verteilung und der Assoziation zu sFRP5- und Wnt5a-Serumkonzentrationen analysiert.

Lag der untersuchte sFRP5-SNP rs2039826 homozygot, also mit je einem Thymin- statt einem Cytosinnukleotid, vor, führte er bei unseren Probanden zu signifikant niedrigeren sFRP5-Serumspiegeln ( $p < 0,05$ ; Abbildung 10). Das ließ, analog zu unseren zuvor beschriebenen Beobachtungen, vermuten, dass bei Probanden mit einer Parodontitis SNP rs2039826 häufiger homozygot vorliegen könnte, da wir signifikant geringere sFRP5-Serumspiegel bei eben diesen Probanden mit einer Parodontitis und Zahnverlust in der FoCUS-Kohorte finden konnten. Jedoch zeigte sich dies nicht. Die Verteilung des SNP, abhängig davon ob er als Wildtyp, heterozygoter

oder homozygoter Genotyp vorlag, unterschied sich nicht von der Verteilung bei Kontrollen oder der Probanden mit Parodontitis ohne Zahnverlust (Abbildung 12 a-c).

Etwa 70% aller bekannten SNPs des humanen Genoms bestehen, wie im vorliegenden Fall bei rs2039826, aus einem Austausch von Cytosin gegen Thymin, da die Methylierung und anschließende Desaminierung von Cytosin zur Entstehung von Thymin führt (Schaaf und Zschocke 2013, S. 41). Varianten im sFRP5-SNP rs2039826 führen laut der Datenbank dbSNP zu einer Veränderung im untranslatierten Bereich der *messenger*RNA (mRNA), der 3'-UTR (rs2039826 [Homo sapiens]). Diese Regionen beinhaltet häufig regulatorische Elemente. So kann zum Beispiel spezielle RNA, miRNA (*micro ribonucleic acid*), an diese Region binden und posttranskriptional die Bildung der Proteine beeinflussen (Valinezhad Orang et al. 2014). Zumeist führt die Beteiligung von miRNA zu einer Degradation des Proteins, in dem sie entweder die Stabilität der mRNA beeinträchtigt oder aber in die Translation eingreift. Dies kann die frühe Phase der Translationsinitiation betreffen, nach der Initiationsphase die Elongation der Polypeptidkette verhindern oder sogar zur co- oder posttranslationalen Degradation des entstehenden Proteins führen. Auch die mRNA kann abgebaut und sequestriert werden (Valinezhad Orang et al. 2014). Jedoch ist in der Literatur auch beschrieben, dass die Herunterregulation der Proteinbiosynthese in manchen Fällen reversibel ist und die Bindung spezieller aktivatorischer miRNA sogar genau das Gegenteil bewirken und die Genexpression erhöhen kann (Vasudevan und Steitz 2007; Vasudevan 2012). Dementsprechend sind zwei Varianten denkbar, die zu den beobachteten Assoziationen in unserer Kohorte passen könnten. Veränderungen auf Grund des homozygoten Genotyps von rs2039826 könnten dazu führen, dass miRNA oder andere Regulatoren leichter binden oder besser arbeiten können und es so zu einem posttranslationalen Abbau von sFRP5 und damit zu niedrigen sFRP5-Serumspiegeln kommt. Denkbar ist aber auch, dass es sich genau andersherum verhält und aktivierende Regulatoren schlechter binden können und die Translation von sFRP5 somit gehemmt wird.

Eine Arbeit aus dem Jahr 2014 beschreibt eine Assoziation zwischen homozygot mutierten SNP rs2039826 und der schlechten Prognose beziehungsweise des Wiederauftretens nicht-kleinzelliger Bronchialkarzinome nach Einleitung von therapeutischen Maßnahmen (Coscio et al. 2014), welche wiederum starke Assoziationen zu systemischer Entzündung zeigen (Jafri et al. 2013).

Dies unterstützt die Hypothese, einer möglichen *loss-of-function* (Funktionsverlust-) Mutation im SNP rs2039826. *Loss-of-function* Mutationen sind Veränderungen des Genoms, die zu einem weniger funktionsfähigen oder funktionslosen Genprodukten (Behe 2010), in diesem Fall also zu niedrigeren messbaren sFRP5-Serumspiegeln und einer verstärkten Entzündungsreaktion, führen könnten.

In der Literatur sind zudem andere, nicht klassisch genetische, Mechanismen beschrieben, die Einfluss auf sFRP5-Spiegel nehmen können. Hierbei spielen epigenetische Modifikationen eine zentrale Rolle. Diese könnten eine Erklärung dafür darstellen, dass sich das Verteilungsmuster von homo- und heterozygoter Mutation und Wildtyp bei Probanden mit Parodontitis und Kontrollen in dieser Arbeit nicht signifikant unterschied, obwohl signifikant geringere sFRP5-Serumlevel bei Probanden mit Parodontitis und Zahnverlust festzustellen waren. Alternative Methylierung der Promotorregion von sFRP5 sind bei Karzinomen des Ovars, der Zervix und der Mamma vorbeschrieben (Zhou et al. 1998; Veeck et al. 2008; Chung et al. 2009; Ho et al. 2010; Kloten et al. 2013). Auch bei der Entstehung kolorektaler Karzinome und für die Prognose der akuten myeloischen Leukämie spielen sie eine entscheidende Rolle (Samaei et al. 2014; Guo et al. 2017). Zudem wurde beschrieben, dass sie für die Entstehung oraler Präkanzerosen mitverantwortlich sein könnten (Zhou et al. 2015).

Die Untersuchung von Adipozyten zeigte, dass die Bindung von PPAR $\gamma$ , einem mit dem metabolischen Syndrom assoziierten Rezeptor, zur DNA-Hypermethylierung der Promotorregion des *SFRP5*-Gens führen kann (Zeng et al. 2017). In unserer Kohorte wurde für den Confounder BMI gematcht. Es zeigten sich dementsprechend bei Probanden mit Parodontitis und Kontrollen keine signifikanten Unterschiede im BMI (siehe Tabelle 4 a-c). Die Bindung von PPAR $\gamma$  ist demnach als ursächlicher Mechanismus für signifikant niedrigere sFRP5-Serumkonzentrationen bei Probanden mit Parodontitis im Vergleich zu gematchten Kontrollen unwahrscheinlich. Jedoch ist ein ähnlicher Effekt durch Bindung anderer, derzeit unbekannter Proteine, denkbar.

Interessant erscheint in diesem Zusammenhang auch, dass die Anwesenheit von Viren, wie die des Papillomavirus oder Hepatitis B Virus zu epigenetischen Veränderungen der *secreted frizzled-related* Proteine führen können (Al-Shabanah et al. 2014; Xie et al. 2014). Denkbar wären solche Modulationen auch in der Mundhöhle, in der eine Vielzahl von Bakterien, aber auch Viren zu finden und an der Pathogenese der Parodontitiden beteiligt sind.

Veränderungen der Wnt5a-Serumspiegel konnten auch bei Homozygotie des sFRP5-SNPs rs2039826 und damit verbundenen niedrigen sFRP5-Serumspiegeln, nicht festgestellt werden. Dies kann vielfältige Gründe haben. Zum einen ist es möglich, dass es sich hierbei um eine Fehlregulation des Wnt5a-/sFRP5-Systems handelt und Wnt5a-Spiegel somit im Verhältnis zur Menge ihres Antagonisten sFRP5 vermehrt vorhanden sind und einen pro-inflammatorischen Einfluss haben könnten. Zum anderen könnte auch eine vermehrte Regulation anderer anti-inflammatorischer Einflussfaktoren und Antagonisten von Wnt5a zu einem balancierten Gleichgewicht führen.

Zudem ist zu bedenken, dass Assoziationen zwischen SNPs und entsprechenden Phänotypen häufig nur vereinzelt in Populationen beschrieben werden und nicht wiederholt in unabhängigen Studien gezeigt werden können (Hirschhorn et al. 2002). Somit erscheinen weitere Untersuchungen des gefundenen Phänomens sinnvoll.

#### **IV.4 Einfluss der untersuchten Wnt5a-SNPs bei Probanden mit Parodontitis und Kontrollen**

Weitere zehn SNPs, welche in der Nähe des *WNT5A*-Gens liegen, wurden zudem in dieser Arbeit analysiert, nämlich rs1160057, rs472631, rs557077, rs566926, rs648872, rs1795651, rs1829556, rs7624718, rs12497254 und rs17711589. Nach Adjustierung des Signifikanzniveaus nach Bonferroni wurde das Signifikanzniveau ab einem p-Wert <0,005 erreicht.

Für die acht SNPs rs1795651, rs1160057, rs472631, rs557077, rs566926, rs648872, rs7624718 und rs17711589 konnten keine signifikanten Unterschiede in der Höhe der sFRP5- und/oder Wnt5a-Serumlevel bei unterschiedlicher Ausprägung gezeigt werden (Tabelle 7a-b). Für die zwei nachfolgend beschriebenen SNPs rs1829556 und rs12497254 zeigt die heterozygote Mutation eine nominell signifikante Assoziation zu höherem Wnt5a-Serumleveln.

SNP rs1829556 liegt auf Chromosom 3 und führt laut dbSNP zu einer Variante im 3'-UTR-Bereich (rs1829556 [Homo sapiens]). Die ClinVar-Datenbank führt eine beschriebene klinische Falluntersuchung auf, bei der eine Variation in diesem SNP zum Robinow-Syndrom führte (NM\_003392.4(WNT5A):c.\*2945A>G). Das Robinow-Syndrom ist eine sehr seltene Erkrankung mit 200 beschriebenen Fällen weltweit. Kinder können durch eine Wachstumsretardierung auffallen und zusätzlich weitere Anomalien aufweisen. Diese reichen von genitalen Anomalien, zu Defekten der Wirbelsäule, Fehlbildungen der Nieren und zu craniofazialen Auffälligkeiten. Das Gaumensegel kann fehlen und doppelte Zahnanlagen, sowohl der Milchzähne als auch der bleibenden Zähne, sind beschrieben (Mazzeu et al. 2007; Cerqueira und de Souza 2008; Mishra et al. 2015). Auch Fälle von Parodontitis beim Robinow-Syndrom sind bekannt. Sie werden hauptsächlich auf die fehlende Reinigungsfähigkeit der Zähne durch überzählige und irreguläre Zahnanlagen sowie die Bildung von Schmutznischen durch bei diesem Syndrom häufig zu beobachtende Hyperplasien der Gingiva zurückgeführt (Basman et al. 2017). Die Datenbank für seltene Erkrankungen, die OMIM (*Online Mendelian Inheritance in Man*), beschreibt heterozygote, autosomal dominant vererbte, Veränderungen im *WNT5A* - und *ROR2*-Gen, so auch im SNP rs1829556, die zu den Anomalien des Robinow-Syndroms führen (# 180700 ROBINOW



SYNDROME, AUTOSOMAL DOMINANT 1; DRS1). Eine weitere autosomal rezessive Variante des Syndroms, mit zum Teil homozygoten Genvarianten, ist zudem beschrieben (# 268310 ROBINOW SYNDROME, AUTOSOMAL RECESSIVE; RRS).

Unsere Untersuchung des SNP rs1829556 zeigte einen nominell signifikanten Effekt auf Wnt5a-Level bei Heterozygotie. Heterozygotie führte bei Betrachtung der gesamten Kohorte, im Vergleich zum Wildtyp sowie zum homozygoten Genotyp, zu nominell signifikant höheren Wnt5a-Serumleveln, welche nach der Bonferroni-Korrektur das Signifikanzniveau nicht erreichten (siehe Abbildung 13). Die einzelnen Genotypen waren sowohl bei gesunden Kontrollen, als auch bei Probanden mit Parodontitis, gleichmäßig verteilt. Am Häufigsten wurde in beiden Gruppen der heterozygote Genotyp gefunden.

Fraglich ist der Zusammenhang unserer Beobachtung mit den in der Literatur beschriebenen Untersuchungen zum Robinow-Syndrom. Heterozygotie des SNP rs1829556 tritt in unserer Kohorte am Häufigsten auf, jedoch ist auf Grund der geringen Prävalenz des Syndroms nicht davon auszugehen, dass diese Probanden der FoCUS-Kohorte am Robinow-Syndrom leiden, wobei dies auf der anderen Seite nicht untersucht wurde. In der Pathogenese des Robinow-Syndroms spielen zudem verminderte Wnt5a-Signale eine Rolle (# 180700 ROBINOW SYNDROME, AUTOSOMAL DOMINANT 1; DRS1). In unserer Kohorte führte Heterozygotie jedoch zu erhöhten Wnt5a-Spiegeln. In der Datenbank ClinVar werden keine Angaben zum klinischen Erscheinungsbild des einen dokumentierten Falles mit verändertem SNP rs1829556 gemacht. Auch ist unklar, ob dieser heterozygot oder doch homozygot verändert war. Denkbar ist zudem, dass bei diesem Fall zusätzlich weitere Komponenten des Wnt-Signalweges beeinträchtigt sind und so zum klinischen Bild des Robinow-Syndroms geführt haben könnten.

Zudem führen Variationen des Wnt5a-SNP rs1829556, wie oben bereits für sFRP5-SNP rs2039826 beschrieben, zu einer Veränderung im untranslatierten Bereich der mRNA. Einzelnukleotidvariationen des SNP rs1829556 führen jedoch zu einer Veränderung in der 3'-UTR in der Nähe des *WNT5A*- und nicht des *SFRP5*-Gens, wie im Fall von rs2039826. Konkret befindet sich ein Cytosin- statt eines Adenosinnukleotids an der Stelle des SNP rs1829556 (rs1829556 [Homo sapiens]; rs2039826 [Homo sapiens]). Häufig finden sich in der 3'-UTR Bindungsstellen für regulatorische Einheiten, wie zum Beispiel miRNA, die posttranskriptional die Bildung der Proteine beeinflussen (Valinezhad Orang et al. 2014). Entsprechend den näheren Erläuterungen oben lässt sich für SNP rs1829556 vermuten, dass im Fall der Heterozygotie Degradationsmechanismen nicht so präsent sein könnten wie beim Wildtyp. Jedoch erklärt dies nicht, warum auch Probanden mit der homozygoten Variante signifikant niedrigere Wnt5a-Serumlevel zeigten, als Probanden mit heterozygotem Genotyp des rs1829556. Denkbar ist, dass

dies auf Grund der geringen Anzahl von Probanden mit homozygoten SNP rs1829556 (n=126) entstanden ist und bei einer größeren Anzahl, wie sie beim Wildtyp (n=224) und bei Heterozygotie (n=359) vorlag, ebenfalls einen Effekt hätte zeigen können.

SNP rs12497254 führt zu einer Variante 500 Basen in 5'-Richtung des *WNT5A*-Genabschnitts (rs12497254 [Homo sapiens]). Wie bei SNP rs1829556 ließ sich bei Heterozygotie (n=335) eine Erhöhung der Wnt5a-Serumkonzentrationen feststellen, welche beim Wildtyp (n=231) und homozygoter Mutation des SNP (n=124) nicht zu beobachten waren. SNP rs12497254 ist auch hier bei Kontrollen sowie Probanden mit Parodontitis gleichmäßig verteilt (siehe Abbildung 14 und Tabelle 8a-c). Auch für SNP rs12497254 lässt sich, analog der Erläuterung zu SNP rs1829556 vermuten, dass ein Effekt für Probanden mit homozygoter Veränderung bei einer größeren Anzahl als den vorliegenden 124 Probanden gegebenenfalls einen Effekt hätte zeigen können.

Die Literaturrecherche zeigt, dass beide zuvor angeführten Wnt5a-SNPs rs1829554 und rs12497254 im Jahr 2013 Teil einer Untersuchung zur diabetischen Nephropathie waren. Jedoch blieben Analysen der Variationen beider SNPs in diesem Kontext hinter dem Signifikanzniveau zurück (Kavanagh et al. 2013). Wie zuvor beschrieben konnte für die SNPs rs1795651, rs1160057, rs472631, rs557077, rs566926, rs648872, rs7624718 und rs17711589 kein signifikanter Unterschied in der Höhe der sFRP5- und/oder Wnt5a-Serumlevel bei unterschiedlicher Ausprägung gezeigt werden. Jedoch zeigte die Analyse eines weiteren Wnt5a-Polymorphismus, SNP rs1795651, dass dieser nominell signifikant seltener ( $p=0,047$ ) heterozygot bei Probanden mit Parodontitis im Vergleich zu ihren gematchten Kontrollen auftritt (Abbildung 15). SNP rs1795651 führt laut dbSNP zu einer Einzelnukleotid-Variante zwei Kilobasen in 5'-Richtung ausgehend von der für *WNT5A* kodierenden Gensequenz entfernt (rs1795651 [Homo sapiens]). In der Literatur sind keine Assoziation zu Veränderungen dieses SNPs vorbeschrieben.

Die weitere Untersuchung der Gruppe mit Parodontitis und Zahnverlust sowie den entsprechenden Kontrollen zeigte keine signifikanten Unterschiede in der Verteilung der Genotypen, wobei der Wildtyp insgesamt mit 47,4% am häufigsten vorkam, Heterozygotie zu 45,7% und Homozygotie mit 6,9% am seltensten gefunden werden konnte. Denkbar wäre demnach ein möglicher protektiver Effekt der heterozygoten SNP-Variante von rs1795651. Dies würde erklären, warum Kontrollen häufiger die heterozygote Genvariante in sich trugen. Nicht erklärt dies, warum dieser Effekt in der Kohorte der Parodontitis mit Zahnverlust nicht zu beobachten ist. Auch ist unklar, warum keine Assoziation zu veränderten Wnt5a-Serumkonzentrationen gefunden werden konnte. Denkbar ist, dass andere, gegebenenfalls nicht untersuchte Varianten im Genom oder auch epigenetische Veränderungen den Effekt von SNP

rs1795651 maskieren, da sie einen stärkeren Einfluss auf die Serumlevel haben könnten, als Veränderungen im SNP.

Weitere Untersuchungen zu genetischen Variationen der Wnt-Signalwege bei der humanen Parodontitis sind nötig, um die gefundenen Ergebnisse letztlich richtig einordnen zu können. So könnten andere SNPs im *WNT5A*- und insbesondere im *SFRP5*-Gen, für das nur ein SNP zur Analyse vorlag, den möglichen genetischen Einfluss auf Wnt5a- und sFRP5-Serumlevel bei der Parodontitis weiter erhellen. Auch die Untersuchung von Varianten in Genen für andere Bestandteile des Wnt-Signalwegs könnten so weitere Informationen zur Ätiopathogenese entzündlicher Parodontalerkrankungen beitragen.

#### IV.5 Kritik an der Methodik

Bei kritischer Betrachtung der Arbeit ergeben sich vereinzelt einschränkende Faktoren zur Aussagekraft der Studie.

Das Studiendesign, das zur Bildung der FoCus-Kohorte führte, war als monozentrische Querschnittsstudie angelegt, welche in einem durch das Bundesministerium für Bildung und Forschung geförderten Verbundprojekt zur Identifizierung von gesundheitsfördernden Nahrungsmitteln führen sollte. Zu diesem Zweck wurde eine Vielzahl von Daten erhoben. Die FoCus-Kohorte liefert dabei zuverlässige Informationen zur Genetik, zu den Phänotypen der Probanden sowie den Daten, welche zuvor aus Serumproben gewonnen wurden (Ji et al. 2017; Munz et al. 2017a). Neben der Bereitstellung von Blut- und Stuhlproben, füllten die Probanden Fragebögen aus, welche unter anderem auch Fragen zur Selbsteinschätzung der parodontalen Gesundheit beinhalteten. Auf der Grundlage der Selbstauskunft der Probanden der FoCus-Kohorte wurden die in dieser Arbeit beschriebenen Gruppen, also die Gruppe mit Parodontitis und entsprechende Kontrollen gebildet. Es wurde keine zahnmedizinische, klinische Untersuchung durchgeführt. Fragebögen haben eine limitierte Aussagekraft (Hughes et al. 2017). Direkte Probandenbefragungen, durch Selbstauskünfte in Form von Fragebögen zur Zahngesundheit, variieren zudem stark in ihrer interindividuellen Genauigkeit (Locker et al. 2009). Grundsätzlich ist es auch möglich, dass Probanden bei dieser Form der Befragung durch Fachpersonal vor Ort beeinflusst werden könnten (Locker 2000). Dies ist im Fall der FoCus-Kohorte jedoch eher unwahrscheinlich, da keine Zahnärzte oder zahnmedizinisch geschulte Personen beim Ausfüllen der Fragebögen, insbesondere der Fragen zur Zahngesundheit, vor Ort waren. Es mussten dementsprechend keine weiteren Maßnahmen ergriffen werden, um eine Beeinflussung der

Probanden durch Fachpersonal, bezüglich der Beantwortung der zahnmedizinischen Fragen, auszuschließen (Jordan et al. 2014). Es wurden zur Erhebung der zahnmedizinisch relevanten Parameter in der FoCus-Kohorte keine bekannten und anerkannten Fragebögen angewandt (Slade und Spencer 1994; Slade 1997; John et al. 2002; John et al. 2006). Die Feststellung des Schweregrades der Parodontitis wurde mit Hilfe einer Frage zum Zahnverlust durch Parodontitis getätigt. So wurden Probanden der Gruppe mit Zahnverlust zugeordnet, wenn Sie im Fragebogen angaben, Zähne aufgrund einer Parodontitis verloren zu haben. Wurde diese Frage verneint, wurden Sie der Parodontitisgruppe ohne Zahnverlust zugeteilt. Dieses Vorgehen erscheint in Anbetracht der neuen Klassifikation der Parodontalerkrankungen, bei der der Verlust von Zähnen die Stadien III und IV mit definiert, sinnvoll (Papapanou et al.).

Positiv zu werten ist, dass in zwei der Fragen, der Fachterminus für parodontale Entzündung, also „Parodontitis“ in Klammern als „Parodontose“ erklärt wurde (Abbildung 17). Da dieser Begriff häufig im Volksmund benutzt wird, könnte dies durch eine Wiedererkennung gegebenenfalls zu einer genaueren Beantwortung der Frage geführt haben könnte.

Grundsätzlich besteht bei Fragebögen die Gefahr, dass Fragen falsch oder gar nicht verstanden werden (Hughes et al. 2017). Auf Grund dessen wurde die Beantwortung der Fragen, vor der Gruppeneinteilung, auf Konsistenz geprüft. So wurden 32 Probanden ausgeschlossen, welche angegeben hatten, wegen einer Parodontitis in Behandlung zu sein und/oder Zähne verloren zu haben, ohne dass diese je von einem Zahnarzt diagnostiziert wurde. Weitere 18 Probanden wurden ausgeschlossen, da sie keine Angaben zum Jahr oder Alter bei Diagnose gegeben hatten.

Die Validierung der Kohorte ergab sehr gute Ergebnisse. Probanden der Gruppe mit Zahnverlust, also der anzunehmenden schwereren parodontalen Destruktion, zeigten signifikant höhere CRP-Serumspiegel ( $p < 0,01$ ), also höhere systemische Entzündungsmarker. Ein signifikant höherer Anteil der Subgruppe mit Zahnverlust gab an zu rauchen ( $p = 0,03$ ), außerdem gaben signifikant mehr Probanden dieser Gruppe an, an einem diagnostizierten Bluthochdruck zu leiden ( $p = 0,02$ ). Zudem beschrieb eine signifikante größere Anzahl der Frauen in dieser Kohorte, sich in der postmenopausalen Phase zu befinden ( $p = 0,03$ ). All diese Faktoren sind bekanntermaßen Einflussfaktoren des Schweregrades von Parodontitiden und eignen sich somit gut zur Validierung der Subkohorten (Bergström und Preber 1994; von Wowern et al. 1994; Martinez-Canut et al. 1995; Mohammad et al. 1996; Paraskevas et al. 2008; Tsioufis et al. 2011; Bansal et al. 2014; Martin-Cabezas et al. 2016; Górska et al. 2017; Gupta et al. 2017; Passos-Soares et al. 2017; Penoni et al. 2017; Savić Pavićin et al. 2017).

Auch konnte gezeigt werden, dass die Probanden der Gruppe mit Parodontitis und Zahnverlust mit einem Alter von 56 (47-65) im Median 7 Jahre älter waren ( $p < 0,01$ ) als die Probanden der Gruppe ohne Zahnverlust 63 (55-69). Auch dies ist für Patienten mit schweren Parodontitiden vorbeschrieben (Cholmakow-Bodechtel 2016; Han und Park 2017).

Dementsprechend kann die Kohorte als gut validiert betrachtet werden.

Der systemmedizinische Ansatz führte bei Auswertung der Gruppen dazu, dass nachdem signifikante Unterschiede der sFRP5-Serumlevel gefunden wurden ein neues Matching durchgeführt wurde, da entsprechende sFRP5- und Wnt5a- Serumwerte nicht für alle zunächst herausgesuchten Kontrollen zur Verfügung standen. Alle Auswertungen und Charakterisierung, sowie die Validierung in dieser Arbeit beziehen sich auf diese nachgematchte Gruppe. Lediglich für die Auswertung der genetischen Daten wurde auf die Anwendung eines erneuten Matching verzichtet, da hier für alle Probanden genetische Daten in Form von SNPs vorlagen.

## IV.6 Fazit

Die Therapieoptionen der Parodontitis beinhalten bisher vorwiegend symptomatische Ansätze zur Begrenzung der parodontalen Entzündung. Zum Erschließen neuer Therapiemöglichkeiten, unter Berücksichtigung der individuellen Immunantwort der Patienten auf die bakterielle Invasion des Zahnhalteapparats, erscheint es notwendig die beteiligten pro- und anti-inflammatorischen Zytokine und ihre Rolle in der Parodontitis näher zu untersuchen. Verlaufsuntersuchungen der systemischen sFRP5- und Wnt5a-Serumspiegel unter einer Parodontitistherapie sowie Untersuchungen zum Einsatz von rekombinanten sFRP5 oder entsprechenden sFRP5-Analoga und dessen möglicherweise die Immunantwort modulierende Wirkung sollten dabei analysiert werden.

Zusammenfassend konnte in dieser Arbeit gezeigt werden, dass systemisches sFRP5-Protein bei Probanden mit einer schweren Parodontitis und Zahnverlust signifikant geringer vorliegt als bei Kontrollen oder Probanden mit einer Parodontitis ohne Zahnverlust. Die Korrelation von sFRP5- und Wnt5a-Serumspiegeln ist bei diesen Parodontitisprobanden mit Zahnverlust aufgehoben, was für ein gestörtes Zytokinsystem bei schwerer Parodontitis spricht. Die homozygote Mutation des sFRP5-SNP rs2039826 führte zudem zu signifikant niedrigeren sFRP5 Serumspiegeln in der untersuchten Kohorte. Das parainflammatorische sFRP5/Wnt5a-System könnte demnach eine entscheidende Rolle in der Pathogenese schwerer Parodontitiden spielen. Für kommende wissenschaftliche Untersuchungen der Parodontitis stellt die Untersuchung des

---

sFRP5/Wnt5a-Systems, möglicherweise als innovatives therapeutisches Target, ein interessantes Themengebiet dar.

## V Zusammenfassung

Ein Ungleichgewicht zwischen dem anti-inflammatorischen Adipozytokin secreted Frizzled-related Protein 5 (sFRP5) und dem pro-inflammatorischen Glykoprotein wingless-type MMTV integration site family member 5a (Wnt5a) ist entscheidend in der Pathophysiologie verschiedener Entzündungsprozesse. Eine lokale Beteiligung des parainflammatorischen sFRP5/Wnt5a-Systems an der Pathogenese der bakteriell induzierten Parodontitis ist vorbeschrieben. Ziel dieser Arbeit war die Evaluation des Einflusses genetischer Alterationen und systemischer Serumkonzentrationen des Duos sFRP5/Wnt5a auf den Schweregrad der humanen Parodontitis.

Dazu wurden 746 Probanden aus der Kieler Food Chain Plus (FoCUS) Kohorte (<http://www.focus.uni-kiel.de>) rekrutiert. In diesen wurden aus venösem Nüchternblut sFRP5- und Wnt5a-Serumspiegel quantitativ mittels ELISA sowie sFRP5- und Wnt5a- Einzelnukleotid-Polymorphismen (SNPs) mittels Omni Express Exome Microarray bestimmt. In einer Case-Control-Studie wurden sFRP5- und Wnt5a-Serumspiegel sowie sFRP5- und Wnt5a-SNPs zwischen Patienten mit einer Parodontitis ohne Zahnverlust (n=245), Patienten mit einer Parodontitis und Zahnverlust (n=128) und gematchten (Geschlecht, Raucherstatus, Alter, Body Mass Index) Kontrollen (n=373) verglichen.

In den 746 Fällen führte Homozygotie im sFRP5-SNP rs2039826 zu signifikant niedrigeren sFRP5-Serumkonzentrationen ( $p < 0,05$ ). sFRP5-Serumspiegel waren signifikant niedriger bei den Patienten mit Parodontitis und Zahnverlust (2,5 (0,0-10,4) im Vergleich zu Patienten mit Parodontitis ohne Zahnverlust 6,0 (2,5-15,8) ng/mL ( $p = 0,04$ ) und gematchten Kontrollen 7,0 (2,5-18,3) ng/mL ( $p = 0,02$ ). Zwischen Patienten mit Parodontitis ohne Zahnverlust 6,0 (2,5-15,8) ng/mL und gematchten Kontrollen 3,1 (0,0-10,6) ng/mL zeigte sich kein signifikanter Unterschied ( $p = 0,06$ ). Signifikante Assoziationen zwischen den untersuchten Gruppen bezogen auf Wnt5a-SNPs und -Serumspiegel zeigten sich nicht.

Systemisches sFRP5 könnte eine entscheidende Rolle in der Pathogenese schwerer Parodontitiden spielen, gegebenenfalls sogar genetisch prädispositioniert. Weitere Studien zur Parodontitis müssen zeigen, ob sFRP5 als systemischer Biomarker gelten kann und eine Option zur Diagnostik sowie eine gezielte, kausale Behandlungsmöglichkeit durch die systematische und/oder lokale Gabe von rekombinantem sFRP5 darstellt.

## VI Literaturverzeichnis

- Aarabi G, Zeller T, Heydecke G, Munz M, Schäfer A, Seedorf U (2018): Roles of the Chr.9p21.3 ANRIL Locus in Regulating Inflammation and Implications for Anti-Inflammatory Drug Target Identification. *Front Cardiovasc Med* 5,47.
- Ah MK, Johnson GK, Kaldahl WB, Patil KD, Kalkwarf KL (1994): The effect of smoking on the response to periodontal therapy. *J Clin Periodontol* 21, 91–97
- Albandar JM, Streckfus CF, Adesanya MR, Winn DM (2000): Cigar, pipe, and cigarette smoking as risk factors for periodontal disease and tooth loss. *J Periodontol* 71, 1874–1881
- Al-Shabanah OA, Hafez MM, Hassan ZK, Sayed-Ahmed MM, Abozeed WN, Alsheikh A, Al-Rejaie SS (2014): Methylation of SFRPs and APC genes in ovarian cancer infected with high risk human papillomavirus. *Asian Pac J Cancer Prev APJCP* 15, 2719–2725
- Anastas JN, Kulikauskas RM, Tamir T, Rizos H, Long GV, Euv EM von, Yang P-T, Chen H-W, Haydu L, Toroni RA, et al. (2014): WNT5A enhances resistance of melanoma cells to targeted BRAF inhibitors. *J Clin Invest* 124, 2877–2890
- Anovazzi G, Medeiros MC de, Pigossi SC, Finoti LS, Mayer MPA, Junior CR, Scarel-Caminaga RM (2017): Functional Haplotypes in Interleukin 4 Gene Associated with Periodontitis. *PLOS ONE* 12, e0169870
- Aran D, Lasry A, Zinger A, Biton M, Pikarsky E, Hellman A, Butte AJ, Ben-Neriah Y (2016): Widespread parainflammation in human cancer. *Genome Biol* 17, 145
- Armingohar Z, Jørgensen JJ, Kristoffersen AK, Schenck K, Dembic Z (2015): Polymorphisms in the interleukin-10 gene and chronic periodontitis in patients with atherosclerotic and aortic aneurysmal vascular diseases. *J Oral Microbiol* 7, 26051.
- Armitage GC (1999): Development of a classification system for periodontal diseases and conditions. *Ann Periodontol* 4, 1–6
- Armitage GC, Cullinan MP (2010): Comparison of the clinical features of chronic and aggressive periodontitis. *Periodontol* 2000 53, 12–27
- Aydin S (2015): A short history, principles, and types of ELISA, and our laboratory experience with peptide/protein analyses using ELISA. *Peptides* 72, 4–15
- Bahekar AA, Singh S, Saha S, Molnar J, Arora R (2007): The prevalence and incidence of coronary heart disease is significantly increased in periodontitis: A meta-analysis. *Am Heart J* 154, 830–837
- Baiju RM, Peter E, Varghese NO, Anju P (2017): Patient Reported Outcome Assessment of Periodontal Therapy: A Systematic Review. *J Clin Diagn Res JCDR* 11, ZC14–ZC19



- Balemans W, Van Hul W (2007): The Genetics of Low-Density Lipoprotein Receptor-Related Protein 5 in Bone: A Story of Extremes. *Endocrinology* 148, 2622–2629
- Balemans W, Piters E, Cleiren E, Ai M, Van Wesenbeeck L, Warman ML, Van Hul W (2008): The binding between sclerostin and LRP5 is altered by DKK1 and by high-bone mass LRP5 mutations. *Calcif Tissue Int* 82, 445–453
- Bansal T, Pandey A, D D, Asthana AK (2014): C-Reactive Protein (CRP) and its Association with Periodontal Disease: A Brief Review. *J Clin Diagn Res JCDR* 8, ZE21–ZE24
- Baron R, Kneissel M (2013): WNT signaling in bone homeostasis and disease: from human mutations to treatments. *Nat Med* 19, 179–192
- Barr RK, Bogoyevitch MA (2001): The c-Jun N-terminal protein kinase family of mitogen-activated protein kinases (JNK MAPKs). *Int J Biochem Cell Biol* 33, 1047–1063
- Basman A, Akay G, Peker I, Gungor K, Akarslan Z, Ozcan S, Ucock CO (2017): Dental management and orofacial manifestations of a patient with Robinow Syndrome. *J Istanbul Univ Fac Dent* 51, 43–48
- Behe MJ (2010): Experimental evolution, loss-of-function mutations, and „the first rule of adaptive evolution“. *Q Rev Biol* 85, 419–445
- Ben-Horin S, Vande Casteele N, Schreiber S, Lakatos PL (2016): Biosimilars in Inflammatory Bowel Disease: Facts and Fears of Extrapolation. *Clin Gastroenterol Hepatol Off Clin Pract J Am Gastroenterol Assoc* 14, 1685–1696
- Bennett CN, Hodge CL, MacDougald OA, Schwartz J (2003): Role of Wnt10b and C/EBPalpha in spontaneous adipogenesis of 243 cells. *Biochem Biophys Res Commun* 302, 12–16
- Bergström J (2006): Periodontitis and Smoking: An Evidence-Based Appraisal. *J Evid Based Dent Pract* 6, 33–41
- Bergström J, Preber H (1994): Tobacco use as a risk factor. *J Periodontol* 65, 545–550
- Bergström J, Eliasson S, Dock J (2000a): A 10-year prospective study of tobacco smoking and periodontal health. *J Periodontol* 71, 1338–1347
- Bergström J, Eliasson S, Dock J (2000b): Exposure to tobacco smoking and periodontal health. *J Clin Periodontol* 27, 61–68
- Betts AM, Clark TH, Yang J, Treadway JL, Li M, Giovanelli MA, Abdiche Y, Stone DM, Paralkar VM (2010): The application of target information and preclinical pharmacokinetic/pharmacodynamic modeling in predicting clinical doses of a Dickkopf-1 antibody for osteoporosis. *J Pharmacol Exp Ther* 333, 2–13
- Bhardwaj U, Zhang Y-H, Lorey F, McCabe LL, McCabe ERB (2005): Molecular genetic confirmatory testing from newborn screening samples for the common African-American, Asian Indian, Southeast Asian, and Chinese  $\beta$ -thalassemia mutations. *Am J Hematol* 78, 249–255

- Bilkovski R, Schulte DM, Oberhauser F, Gomolka M, Udelhoven M, Hettich MM, Roth B, Heidenreich A, Gutschow C, Krone W, Laudes M (2010): Role of Wnt-5a in the Determination of Human Mesenchymal Stem Cells into Preadipocytes. *J Biol Chem* 285, 6170–6178
- Bilkovski R, Schulte DM, Oberhauser F, Mauer J, Hampel B, Gutschow C, Krone W, Laudes M (2011): Adipose tissue macrophages inhibit adipogenesis of mesenchymal precursor cells via wnt-5a in humans. *Int J Obes* 35, 1450–1454
- Blasco-Baque V, Garidou L, Pomié C, Escoula Q, Loubieres P, Le Gall-David S, Lemaitre M, Nicolas S, Klopp P, Waget A, et al. (2017): Periodontitis induced by *Porphyromonas gingivalis* drives periodontal microbiota dysbiosis and insulin resistance via an impaired adaptive immune response. *Gut* 66, 872–885
- Blumenthal A, Ehlers S, Lauber J, Buer J, Lange C, Goldmann T, Heine H, Brandt E, Reiling N (2006): The Wingless homolog WNT5A and its receptor Frizzled-5 regulate inflammatory responses of human mononuclear cells induced by microbial stimulation. *Blood* 108, 965–973
- Bochenek G, Häslér R, Mokhtari N-EE, König IR, Loos BG, Jepsen S, Rosenstiel P, Schreiber S, Schaefer AS (2013): The large non-coding RNA ANRIL, which is associated with atherosclerosis, periodontitis and several forms of cancer, regulates ADIPOR1, VAMP3 and C11ORF10. *Hum Mol Genet* 22, 4516–4527
- Borrell LN, Papapanou PN (2005): Analytical epidemiology of periodontitis. *J Clin Periodontol* 32, 132–158
- Borrell LN, Burt BA, Neighbors HW, Taylor GW (2004): Social factors and periodontitis in an older population. *Am J Public Health* 94, 748–754
- Borrell LN, Burt BA, Neighbors HW, Taylor GW (2008): Social Factors and Periodontitis in an Older Population. *Am J Public Health* 98, S95–S101
- Boutros M, Paricio N, Strutt DI, Mlodzik M (1998): Dishevelled Activates JNK and Discriminates between JNK Pathways in Planar Polarity and wingless Signaling. *Cell* 94, 109–118
- Bovolenta P, Esteve P, Ruiz JM, Cisneros E, Lopez-Rios J (2008): Beyond Wnt inhibition: new functions of secreted Frizzled-related proteins in development and disease. *J Cell Sci* 121, 737–746
- Boyden LM, Mao J, Belsky J, Mitzner L, Farhi A, Mitnick MA, Wu D, Insogna K, Lifton RP (2002): High Bone Density Due to a Mutation in LDL-Receptor-Related Protein 5. *N Engl J Med* 346, 1513–1521
- Brabletz T, Jung A, Dag S, Hlubek F, Kirchner T (1999): beta-catenin regulates the expression of the matrix metalloproteinase-7 in human colorectal cancer. *Am J Pathol* 155, 1033–1038
- Cadigan KM, Peifer M (2009): Wnt Signaling from Development to Disease: Insights from Model Systems. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 1, a002881

- Calay ES, Hotamisligil GS (2013): Turning off the inflammatory, but not the metabolic, flames. *Nat Med* 19, 265–267
- Cavallo RA, Cox RT, Moline MM, Roose J, Polevoy GA, Clevers H, Peifer M, Bejsovec A (1998): *Drosophila* Tcf and Groucho interact to repress Wingless signalling activity. *Nature* 395, 604–608
- Cerqueira DF, de Souza IPR (2008): Orofacial manifestations of Robinow's Syndrome: a case report in a pediatric patient. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endodontology* 105, 353–357
- Chapple ILC (2014): Time to take periodontitis seriously. *BMJ* 348, g2645
- Chen H, He Y, Wu D, Dai G, Zhao C, Huang W, Jiang D (2016): Bone marrow sFRP5 level is negatively associated with bone formation markers. *Osteoporos Int* 1–7
- Chen L, Zhao X, Liang G, Sun J, Lin Z, Hu R, Chen P, Zhang Z, Zhou L, Li Y (2017): Recombinant SFRP5 protein significantly alleviated intrahepatic inflammation of nonalcoholic steatohepatitis. *Nutr Metab* 14, 56
- Chen M, Xu H (2015): Parainflammation, chronic inflammation and age-related macular degeneration. *J Leukoc Biol* 98, 713–725
- Choi HY, Dieckmann M, Herz J, Niemeier A (2009): Lrp4, a Novel Receptor for Dickkopf 1 and Sclerostin, Is Expressed by Osteoblasts and Regulates Bone Growth and Turnover In Vivo. *PLoS ONE* 4, e7930
- Cholmakow-Bodechtel C: Fünfte Deutsche Mundgesundheitsstudie (DMS V). (Materialienreihe / Institut der Deutschen Zahnärzte / Institut der Deutschen Zahnärzte <Köln>. - Köln : Dt. Zahnärzte-Verl, 1988- 35); Deutscher Zahnärzte Verlag DÄV, Köln 2016
- Chovatiya R, Medzhitov R (2014): Stress, Inflammation, and Defense of Homeostasis. *Mol Cell* 54, 281–288
- Christodoulides C, Laudes M, Cawthorn WP, Schinner S, Soos M, O'Rahilly S, Sethi JK, Vidal-Puig A (2006): The Wnt antagonist Dickkopf-1 and its receptors are coordinately regulated during early human adipogenesis. *J Cell Sci* 119, 2613–2620
- Chtarbova S, Müller O (2003): Eine Frage zu Krebs? Die Antwort weiß nur der Wnt Signalweg. *BIOspektrum* 9, 701–703
- Chung M-. T, Sytwu H-. K, Yan M-. D, Shih Y-. L, Chang C-. C, Yu M-. H, Chu T-. Y, Lai H-. C, Lin Y-. W (2009): Promoter methylation of SFRPs gene family in cervical cancer. *Gynecol Oncol* 112
- Cisse B, Caton ML, Lehner M, Maeda T, Scheu S, Locksley R, Holmberg D, Zweier C, den Hollander NS, Kant SG, et al. (2008): Transcription factor E2-2 is an essential and specific regulator of plasmacytoid dendritic cell development. *Cell* 135, 37–48

- Clarke NG, Hirsch RS (1995): Personal risk factors for generalized periodontitis. *J Clin Periodontol* 22, 136–145
- Cook D, Fry MJ, Hughes K, Sumathipala R, Woodgett JR, Dale TC (1996): Wingless inactivates glycogen synthase kinase-3 via an intracellular signalling pathway which involves a protein kinase C. *EMBO J* 15, 4526–4536
- Corey LA, Nance WE, Hofstede P, Schenkein HA (1993): Self-Reported Periodontal Disease in a Virginia Twin Population. *J Periodontol* 64, 1205–1208
- Coscio A, Chang DW, Roth JA, Ye Y, Gu J, Yang P, Wu X (2014): Genetic variants of the Wnt signaling pathway as predictors of recurrence and survival in early-stage non-small cell lung cancer patients. *Carcinogenesis* 35, 1284–1291
- Costerton JW (1999): Introduction to biofilm. *Int J Antimicrob Agents* 11, 217–221; discussion 237-239
- Costerton JW, Stewart PS, Greenberg EP (1999): Bacterial Biofilms: A Common Cause of Persistent Infections. *Science* 284, 1318–1322
- Cotti E, Schirru E, Acquas E, Usai P (2014): An overview on biologic medications and their possible role in apical periodontitis. *J Endod* 40, 1902–1911
- Cotti E, Abramovitch K, Jensen J, Schirru E, Rice DD, Oyoyo U, Torabinejad M (2017): The Influence of Adalimumab on the Healing of Apical Periodontitis in Ferrets. *J Endod* 43 (11), 1841-1846.
- Crawford HC, Fingleton BM, Rudolph-Owen LA, Goss KJ, Rubinfeld B, Polakis P, Matrisian LM (1999): The metalloproteinase matrilysin is a target of beta-catenin transactivation in intestinal tumors. *Oncogene* 18, 2883–2891
- Darveau RP (2010): Periodontitis: a polymicrobial disruption of host homeostasis. *Nat Rev Microbiol* 8, 481–490
- Darveau RP, Tanner A, Page RC (1997): The microbial challenge in periodontitis. *Periodontol* 2000 14, 12–32
- De A (2011): Wnt/Ca<sup>2+</sup> signaling pathway: a brief overview. *Acta Biochim Biophys Sin* 43, 745–756
- Degenhardt F, Niklowitz P, Szymczak S, Jacobs G, Lieb W, Menke T, Laudes M, Esko T, Weidinger S, Franke A, et al. (2016): Genome-wide association study of serum coenzyme Q10 levels identifies susceptibility loci linked to neuronal diseases. *Hum Mol Genet* 25, 2881–2891
- Delatola C, Adonogianaki E, Ioannidou E (2014): Non-surgical and supportive periodontal therapy: predictors of compliance. *J Clin Periodontol* 41, 791–796
- Demmer RT, Jacobs DR, Desvarieux M (2008): Periodontal Disease and Incident Type 2 Diabetes. *Diabetes Care* 31, 1373–1379

Demmer RT, Desvarieux M, Holtfreter B, Jacobs DR, Wallaschofski H, Nauck M, Völzke H, Kocher T (2010): Periodontal Status and A1C Change. *Diabetes Care* 33, 1037–1043

Deng D, Diao Z, Han X, Liu W (2016): Secreted Frizzled-Related Protein 5 Attenuates High Phosphate-Induced Calcification in Vascular Smooth Muscle Cells by Inhibiting the Wnt/ $\beta$ -Catenin Pathway. *Calcif Tissue Int* 99, 66–75

Deutsche Gesellschaft für Parodontologie. [http://mitglieder.dgparo.de/presse/presse\\_details/article-58d3a12a906aa](http://mitglieder.dgparo.de/presse/presse_details/article-58d3a12a906aa) (zuletzt aufgerufen am 24.2.2019)

Diekwisch TGH (2016): Our periodontal tissue: a masterpiece of evolution. *J Clin Periodontol* 43, 320–322

Divaris K, Monda KL, North KE, Olshan AF, Reynolds LM, Hsueh W-C, Lange EM, Kevin Moss, Barros SP, Weyant RJ, et al. (2013): Exploring the genetic basis of chronic periodontitis: a genome-wide association study. *Hum Mol Genet* 22, 2312–2324

Ellies DL, Viviano B, McCarthy J, Rey J-P, Itasaki N, Saunders S, Krumlauf R (2006): Bone Density Ligand, Sclerostin, Directly Interacts With LRP5 but Not LRP5G171V to Modulate Wnt Activity. *J Bone Miner Res* 21, 1738–1749

Fenstermaker AG, Prasad AA, Bechara A, Adolfs Y, Tissir F, Goffinet A, Zou Y, Pasterkamp RJ (2010): Wnt/Planar Cell Polarity Signaling Controls the Anterior–Posterior Organization of Monoaminergic Axons in the Brainstem. *J Neurosci* 30, 16053–16064

Fiebig A, Jepsen S, Loos BG, Scholz C, Schäfer C, Rühling A, Nothnagel M, Eickholz P, van der Velden U, Schenck K, et al. (2008): Polymorphisms in the interleukin-1 (IL1) gene cluster are not associated with aggressive periodontitis in a large Caucasian population. *Genomics* 92, 309–315

Finch PW, He X, Kelley MJ, Üren A, Schaudies RP, Popescu NC, Rudikoff S, Aaronson SA, Varmus HE, Rubin JS (1997): Purification and molecular cloning of a secreted, Frizzled-related antagonist of Wnt action. *Proc Natl Acad Sci U S A* 94, 6770–6775

Fitri AR, Pavasant P, Chamni S, Sumrejkanchanakij P (2018): Asiaticoside induces osteogenic differentiation of human periodontal ligament cells through the Wnt pathway. *J Periodontol* 89, 596–605

Foord SM, Jupe S, Holbrook J (2002): Bioinformatics and type II G-protein-coupled receptors. *Biochem Soc Trans* 30, 473–479

Franceschi C, Campisi J (2014): Chronic inflammation (inflammaging) and its potential contribution to age-associated diseases. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 69 Suppl 1, S4-9

Franke M, Bröseler F, Tietmann C (2015): Patient-related evaluation after systematic periodontal therapy - a clinical study on periodontal health-related quality of life (PHQoL). *Oral Health Prev Dent* 13, 163–168

- Fu H-D, Wang B-K, Wan Z-Q, Lin H, Chang M-L, Han G-L (2016): Wnt5a mediated canonical Wnt signaling pathway activation in orthodontic tooth movement: possible role in the tension force-induced bone formation. *J Mol Histol* 47, 455–466
- Fujita M, Furukawa Y, Tsunoda T, Tanaka T, Ogawa M, Nakamura Y (2001): Up-regulation of the ectodermal-neural cortex 1 (ENC1) gene, a downstream target of the beta-catenin/T-cell factor complex, in colorectal carcinomas. *Cancer Res* 61, 7722–7726
- Fulciniti M, Tassone P, Hideshima T, Vallet S, Nanjappa P, Ettenberg SA, Shen Z, Patel N, Tai Y-T, Chauhan D, et al. (2009): Anti-DKK1 mAb (BHQ880) as a potential therapeutic agent for multiple myeloma. *Blood* 114, 371–379
- Fuster JJ, Zuriaga MA, Ngo DT-M, Farb MG, Aprahamian T, Yamaguchi TP, Gokce N, Walsh K (2015): Noncanonical Wnt Signaling Promotes Obesity-Induced Adipose Tissue Inflammation and Metabolic Dysfunction Independent of Adipose Tissue Expansion. *Diabetes* 64, 1235–1248
- Gao H, Tian Y, Meng H, Hou J, Xu L, Zhang L, Shi D, Lu R, Feng X, Wang X, Chen Z (2015): Associations of apolipoprotein E and low-density lipoprotein receptor-related protein 5 polymorphisms with dyslipidemia and generalized aggressive periodontitis in a Chinese population. *J Periodontol* 86, 509–518
- Genant HK, Engelke K, Bolognese MA, Mautalen C, Brown JP, Recknor C, Goemaere S, Fuerst T, Yang Y-C, Grauer A, Libanati C (2017): Effects of Romosozumab Compared With Teriparatide on Bone Density and Mass at the Spine and Hip in Postmenopausal Women With Low Bone Mass. *J Bone Miner Res Off J Am Soc Bone Miner Res* 32, 181–187
- Genco RJ, Borgnakke WS (2013): Risk factors for periodontal disease. *Periodontol* 2000 62, 59–94
- Gentzel M, Schille C, Rauschenberger V, Schambony A (2015): Distinct functionality of dishevelled isoforms on Ca<sup>2+</sup>/calmodulin-dependent protein kinase 2 (CamKII) in *Xenopus* gastrulation. *Mol Biol Cell* 26, 966–977
- Gerdes S, Laudes M, Neumann K, Baurecht H, Mrowietz U (2014): Wnt5a – a potential factor linking psoriasis to metabolic complications. *Exp Dermatol* 23, 439–440
- Glinka A, Wu W, Delius H, Monaghan AP, Blumenstock C, Niehrs C (1998): Dickkopf-1 is a member of a new family of secreted proteins and functions in head induction. *Nature* 391, 357–362
- Gomes-Filho IS, das Mercês MC, de Santana Passos-Soares J, Seixas da Cruz S, Teixeira Ladeia AM, Trindade SC, de Moraes Marçílio Cerqueira E, Freitas Coelho JM, Marques Monteiro FM, Barreto ML, et al. (2015): Severity of Periodontitis and Metabolic Syndrome: Is There an Association? *J Periodontol* 87, 357–366

Gong Y, Slee RB, Fukai N, Rawadi G, Roman-Roman S, Reginato AM, Wang H, Cundy T, Glorieux FH, Lev D, et al. (2001): LDL Receptor-Related Protein 5 (LRP5) Affects Bone Accrual and Eye Development. *Cell* 107, 513–523

Goode N, Hughes K, Woodgett JR, Parker PJ (1992): Differential regulation of glycogen synthase kinase-3 beta by protein kinase C isotypes. *J Biol Chem* 267, 16878–16882

Górska R, Dembowska E, Konopka TP, Wysokińska-Miszczyk J, Pietruska M, Ganowicz E (2017): Correlation between the state of periodontal tissues and selected risk factors for periodontitis and myocardial infarction. *Adv Clin Exp Med Off Organ Wroclaw Med Univ* 26, 505–514

Goto M (2008): Inflammaging (inflammation + aging): A driving force for human aging based on an evolutionarily antagonistic pleiotropy theory? *Biosci Trends* 2, 218–230

Graetz C, Ehrental JC, Senf D, Semar K, Herzog W, Dörfer CE (2013): Influence of psychological attachment patterns on periodontal disease - a pilot study with 310 compliant patients. *J Clin Periodontol* 40, 1087–1094

Graves D t., Cochran D (2003): The Contribution of Interleukin-1 and Tumor Necrosis Factor to Periodontal Tissue Destruction. *J Periodontol* 74, 391–401

Grotewold L, Rüther U (2002): The Wnt antagonist Dickkopf-1 is regulated by Bmp signaling and c-Jun and modulates programmed cell death. *EMBO J* 21, 966–975

Grumolato L, Liu G, Mong P, Mudbhary R, Biswas R, Arroyave R, Vijayakumar S, Economides AN, Aaronson SA (2010): Canonical and noncanonical Wnts use a common mechanism to activate completely unrelated coreceptors. *Genes Dev* 24, 2517–2530

Guo H, Zhang T-J, Wen X-M, Zhou J-D, Ma J-C, An C, Zhang W, Xu Z-J, Lin J, Qian J (2017): Hypermethylation of secreted frizzled-related proteins predicts poor prognosis in non-M3 acute myeloid leukemia. *OncoTargets Ther* 10, 3635–3644

Gupta S, Pradhan S, Kc S, Shakya S, Giri M (2017): C-reactive Protein in Periodontitis and its Comparison with Body Mass Index and Smoking Behaviour. *JNMA J Nepal Med Assoc* 56, 226–233

Gwak J, Cho M, Gong S-J, Won J, Kim D-E, Kim E-Y, Lee SS, Kim M, Kim TK, Shin J-G, Oh S (2006): Protein-kinase-C-mediated beta-catenin phosphorylation negatively regulates the Wnt/beta-catenin pathway. *J Cell Sci* 119, 4702–4709

Haffajee AD, Socransky SS (1994): Microbial etiological agents of destructive periodontal diseases. *Periodontol* 2000 5, 78–111

Haftcheshmeh SM, Mohammadi A, Soltani A, Momtazi-Borojeni AA, Sattari M (2018): Evaluation of STAT1 and Wnt5a gene expression in gingival tissues of patients with periodontal disease. *J Cell Biochem* 120, 1827–1834

- Han D-H, Lim S, Paek D, Kim H-D (2012): Periodontitis could be related factors on metabolic syndrome among Koreans: a case-control study. *J Clin Periodontol* 39, 30–37
- Han K, Park J-B (2017): Age threshold for moderate and severe periodontitis among Korean adults without diabetes mellitus, hypertension, metabolic syndrome, and/or obesity. *Medicine (Baltimore)* 96, e7835
- Hasan KN, Shoji M, Tsutaya S, Kudo R, Matsuda E, Saito J, Kimura T, Yasujima M (2006): Study of V1a vasopressin receptor gene single nucleotide polymorphisms in platelet vasopressin responsiveness. *J Clin Lab Anal* 20, 87–92
- Hasegawa D, Wada N, Yoshida S, Mitarai H, Arima M, Tomokiyo A, Hamano S, Sugii H, Maeda H (2018): Wnt5a suppresses osteoblastic differentiation of human periodontal ligament stem cell-like cells via Ror2/JNK signaling. *J Cell Physiol* 233, 1752–1762
- He TC, Sparks AB, Rago C, Hermeking H, Zawel L, da Costa LT, Morin PJ, Vogelstein B, Kinzler KW (1998): Identification of c-MYC as a target of the APC pathway. *Science* 281, 1509–1512
- He TC, Chan TA, Vogelstein B, Kinzler KW (1999): PPARdelta is an APC-regulated target of nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *Cell* 99, 335–345
- He X, Semenov M, Tamai K, Zeng X (2004): LDL receptor-related proteins 5 and 6 in Wnt/ $\beta$ -catenin signaling: Arrows point the way. *Development* 131, 1663–1677
- Heitz-Mayfield LJA (2005): Disease progression: identification of high-risk groups and individuals for periodontitis. *J Clin Periodontol* 32, 196–209
- Hellwig E, Klimek J, Attin T: Einführung in die Zahnerhaltung: Prüfungswissen Kariologie, Endodontologie und Parodontologie ; mit 63 Tabellen. 6., überarb. Aufl.; Dt. Zahnärzte-Verl., Köln 2013
- Herbst A, Jurinovic V, Krebs S, Thieme SE, Blum H, Göke B, Kolligs FT (2014): Comprehensive analysis of  $\beta$ -catenin target genes in colorectal carcinoma cell lines with deregulated Wnt/ $\beta$ -catenin signaling. *BMC Genomics* 15, 74
- Herrera D, Roldán S, Sanz M (2000): The periodontal abscess: a review. *J Clin Periodontol* 27, 377–386
- Hirschhorn JN, Lohmueller K, Byrne E, Hirschhorn K (2002): A comprehensive review of genetic association studies. *Genet Med* 4, 45–61
- Hlubek F, Spaderna S, Jung A, Kirchner T, Brabletz T (2004): Beta-catenin activates a coordinated expression of the proinvasive factors laminin-5 gamma2 chain and MT1-MMP in colorectal carcinomas. *Int J Cancer* 108, 321–326
- Ho C-M, Lai H-C, Huang S-H, Chien T-Y, Lin M-C, Chang S-F (2010): Promoter methylation of sFRP5 in patients with ovarian clear cell adenocarcinoma. *Eur J Clin Invest* 40, 310–318



- Holmstrup P, Damgaard C, Olsen I, Klinge B, Flyvbjerg A, Nielsen CH, Hansen PR (2017): Comorbidity of periodontal disease: two sides of the same coin? An introduction for the clinician. *J Oral Microbiol* 9, 1332710
- Hong Y-R, Chen C-H, Chang J-H, Wang S, Sy W-D, Chou C-K, Howng S-L (2000a): Cloning and characterization of a novel human ninein protein that interacts with the glycogen synthase kinase 3 $\beta$ . *Biochim Biophys Acta BBA - Gene Struct Expr* 1492, 513–516
- Hong Y-R, Chen C-H, Chuo M-H, Liou S-Y, Howng S-L (2000b): Genomic Organization and Molecular Characterization of the Human Ninein Gene. *Biochem Biophys Res Commun* 279, 989–995
- Hotamisligil GS (2006): Inflammation and metabolic disorders. *Nature* 444, 860–867
- Hotamisligil GS (2017): Inflammation, metaflammation and immunometabolic disorders. *Nature* 542, 177–185
- Hu Z, Zhang Y, Li Z, Yu Y, Kang W, Han Y, Geng X, Ge S, Sun Y (2016): Effect of *Helicobacter pylori* infection on chronic periodontitis by the change of microecology and inflammation. *Oncotarget* 7, 66700–66712
- Huang C, Rajfur Z, Borchers C, Schaller MD, Jacobson K (2003): JNK phosphorylates paxillin and regulates cell migration. *Nature* 424, 219–223
- Hughes B, Heo G, Levin L (2017): Associations between patients' understanding of periodontal disease, treatment compliance, and disease status. *Quintessence Int Berl Ger* 1985 1–7
- Humphrey LL, Fu R, Buckley DI, Freeman M, Helfand M (2008): Periodontal Disease and Coronary Heart Disease Incidence: A Systematic Review and Meta-analysis. *J Gen Intern Med* 23, 2079–2086
- Huynh-Ba G, Lang NP, Tonetti MS, Salvi GE (2007): The association of the composite IL-1 genotype with periodontitis progression and/or treatment outcomes: a systematic review. *J Clin Periodontol* 34, 305–317
- Igaki T, Pagliarini RA, Xu T (2006): Loss of cell polarity drives tumor growth and invasion through JNK activation in *Drosophila*. *Curr Biol CB* 16, 1139–1146
- Ip YT, Davis RJ (1998): Signal transduction by the c-Jun N-terminal kinase (JNK) — from inflammation to development. *Curr Opin Cell Biol* 10, 205–219
- Iyer SP, Beck JT, Stewart AK, Shah J, Kelly KR, Isaacs R, Bilic S, Sen S, Munshi NC (2014): A Phase IB multicentre dose-determination study of BHQ880 in combination with anti-myeloma therapy and zoledronic acid in patients with relapsed or refractory multiple myeloma and prior skeletal-related events. *Br J Haematol* 167, 366–375

- Jafri SH, Shi R, Mills G (2013): Advance lung cancer inflammation index (ALI) at diagnosis is a prognostic marker in patients with metastatic non-small cell lung cancer (NSCLC): a retrospective review. *BMC Cancer* 13, 158
- Janda CY, Garcia KC (2015): Wnt acylation and its functional implication in Wnt signalling regulation. *Biochem Soc Trans* 43, 211–216
- Jaramillo A, Contreras A, Lafaurie GI, Duque A, Ardila CM, Duarte S, Osorio L (2016): Association of metabolic syndrome and chronic periodontitis in Colombians. *Clin Oral Investig* 21, 1537–1544
- Ji S-G, Juran BD, Mucha S, Folseraas T, Jostins L, Melum E, Kumasaka N, Atkinson EJ, Schlicht EM, Liu JZ, et al. (2017): Genome-wide association study of primary sclerosing cholangitis identifies new risk loci and quantifies the genetic relationship with inflammatory bowel disease. *Nat Genet* 49, 269
- John MT, Patrick DL, Slade GD (2002): The German version of the Oral Health Impact Profile-translation and psychometric properties. *Eur J Oral Sci* 110, 425–433
- John MT, Miglioretti DL, LeResche L, Koepsell TD, Hujoel P, Micheelis W (2006): German short forms of the Oral Health Impact Profile. *Community Dent Oral Epidemiol* 34, 277–288
- Johnson ML, Harnish K, Nusse R, Van Hul W (2004): LRP5 and Wnt Signaling: A Union Made for Bone. *J Bone Miner Res* 19, 1749–1757
- Jones SE, Jomary C (2002): Secreted Frizzled-related proteins: searching for relationships and patterns. *Bioessays* 24, 811–820
- Jordan RA, Bodechtel C, Hertrampf K, Hoffmann T, Kocher T, Nitschke I, Schiffner U, Stark H, Zimmer S, Micheelis W (2014): The Fifth German Oral Health Study (Fünfte Deutsche Mundgesundheitsstudie, DMS V) – rationale, design, and methods. *BMC Oral Health* 14, 161
- Jubb AM, Chalasani S, Frantz GD, Smits R, Grabsch HI, Kavi V, Maughan NJ, Hillan KJ, Quirke P, Koepfen H (2006): Achaete-scute like 2 (*ascl2*) is a target of Wnt signalling and is upregulated in intestinal neoplasia. *Oncogene* 25, 3445–3457
- Kao WHL, Coresh J, Shuldiner AR, Boerwinkle E, Bray MS, Brancati FL (2003): Pro12Ala of the Peroxisome Proliferator-Activated Receptor- $\gamma$ 2 Gene Is Associated With Lower Serum Insulin Levels in Nonobese African Americans. *Diabetes* 52, 1568–1572
- Kassebaum NJ, Bernabé E, Dahiya M, Bhandari B, Murray CJL, Marcenes W (2014): Global Burden of Severe Periodontitis in 1990-2010: A Systematic Review and Meta-regression. *J Dent Res* 93, 1045–1053
- Kassenzahnärztliche Bundesvereinigung (KZBV). <https://www.dgparo.de/media/download-58888fe6b86df>(zuletzt aufgerufen am 24.2.2019)

- Kavanagh DH, Savage DA, Patterson CC, McKnight AJ, Crean JK, Maxwell AP, McKay GJ (2013): Haplotype association analysis of genes within the WNT signalling pathways in diabetic nephropathy. *BMC Nephrol* 14, 126
- Kavitha L, Vijayshree Priyadharshini J, Sivapathasundharam B (2016): Association among interleukin-6 gene polymorphisms, type 2 diabetes mellitus, and chronic periodontitis: a pilot study. *J Investig Clin Dent* 8, e12230
- Kawai M, Mushiake S, Bessho K, Murakami M, Namba N, Kokubu C, Michigami T, Ozono K (2007): Wnt/Lrp/beta-catenin signaling suppresses adipogenesis by inhibiting mutual activation of PPARgamma and C/EBPalpha. *Biochem Biophys Res Commun* 363, 276–282
- Kaye EK, Chen N, Cabral HJ, Vokonas P, Garcia RI (2016): Metabolic Syndrome and Periodontal Disease Progression in Men. *J Dent Res* 95, 822–828
- Ke HZ, Richards WG, Li X, Ominsky MS (2012): Sclerostin and Dickkopf-1 as Therapeutic Targets in Bone Diseases. *Endocr Rev* 33, 747–783
- Kebede TG, Holtfreter B, Kocher T, Meisel P, Dietrich T, Biffar R, Dörr M, Völzke H, Pink C (2017): Association of Periodontal Destruction and Diabetes with Mortality. *J Dent Res* 96, 56–63
- Kebschull M, Guarnieri P, Demmer RT, Boulesteix AL, Pavlidis P, Papananou PN (2013): Molecular Differences between Chronic and Aggressive Periodontitis. *J Dent Res* 92, 1081–1088
- Khader Y, Khassawneh B, Obeidat B, Hammad M, El-Salem K, Bawadi H, Al-akour N (2008): Periodontal Status of Patients With Metabolic Syndrome Compared to Those Without Metabolic Syndrome. *J Periodontol* 79, 2048–2053
- Kikuchi A (1999): Roles of Axin in the Wnt Signalling Pathway. *Cell Signal* 11, 777–788
- Kikuchi A, Yamamoto H, Kishida S (2007): Multiplicity of the interactions of Wnt proteins and their receptors. *Cell Signal* 19, 659–671
- Kikuchi A, Yamamoto H, Sato A (2009): Selective activation mechanisms of Wnt signaling pathways. *Trends Cell Biol* 19, 119–129
- Kim J, Kim J, Kim DW, Ha Y, Ihm MH, Kim H, Song K, Lee I (2010): Wnt5a Induces Endothelial Inflammation via  $\beta$ -Catenin-Independent Signaling. *J Immunol* 185, 1274–1282
- Kim PJ, Plescia J, Clevers H, Fearon ER, Altieri DC (2003): Survivin and molecular pathogenesis of colorectal cancer. *Lancet Lond Engl* 362, 205–209
- Kloten V, Becker B, Winner K, Schrauder MG, Fasching PA, Anzeneder T, Veeck J, Hartmann A, Knüchel R, Dahl E (2013): Promoter hypermethylation of the tumor-suppressor genes ITIH5, DKK3, and RASSF1A as novel biomarkers for blood-based breast cancer screening. *Breast Cancer Res BCR* 15, R4

- König J, Holtfreter B, Kocher T (2010): Periodontal health in Europe: future trends based on treatment needs and the provision of periodontal services--position paper 1. *Eur J Dent Educ Off J Assoc Dent Educ Eur* 14 Suppl 1, 4–24
- Kornman KS (2008): Mapping the Pathogenesis of Periodontitis: A New Look. *J Periodontol* 79, 1560–1568
- Kornman KS, Crane A, Wang H-Y, Giovine FS d., Newman MG, Pirk FW, Wilson TG, Higginbottom FL, Duff GW (1997): The interleukin-1 genotype as a severity factor in adult periodontal disease. *J Clin Periodontol* 24, 72–77
- Koval A, Katanaev VL (2011): Wnt3a stimulation elicits G-protein-coupled receptor properties of mammalian Frizzled proteins. *Biochem J* 433, 435–440
- Krishnan V, Bryant HU, MacDougald OA (2006): Regulation of bone mass by Wnt signaling. *J Clin Invest* 116, 1202–1209
- Kühl M (2004): The WNT/calcium pathway: biochemical mediators, tools and future requirements. *Front Biosci J Virtual Libr* 9, 967–974
- Kühl M, Sheldahl LC, Malbon CC, Moon RT (2000): Ca<sup>2+</sup>/Calmodulin-dependent Protein Kinase II Is Stimulated by Wnt and Frizzled Homologs and Promotes Ventral Cell Fates in *Xenopus*. *J Biol Chem* 275, 12701–12711
- Kühl M, Geis K, Sheldahl LC, Pukrop T, Moon RT, Wedlich D (2001): Antagonistic regulation of convergent extension movements in *Xenopus* by Wnt/ $\beta$ -catenin and Wnt/Ca<sup>2+</sup> signaling. *Mech Dev* 106, 61–76
- Kumar N, Bhardwaj A, Negi P, Jhingta P, Sharma D, Bhardwaj V (2016): Association of chronic periodontitis with metabolic syndrome: A cross-sectional study. *J Indian Soc Periodontol* 20, 324–329
- Kumawat K, Gosens R (2016): WNT-5A: signaling and functions in health and disease. *Cell Mol Life Sci* 73, 567–587
- Kurayoshi M, Yamamoto H, Izumi S, Kikuchi A (2007): Post-translational palmitoylation and glycosylation of Wnt-5a are necessary for its signalling. *Biochem J* 402, 515–523
- Lagathu C, Christodoulides C, Tan CY, Virtue S, Laudes M, Campbell M, Ishikawa K, Ortega F, Tinahones FJ, Fernández-Real J-M, et al. (2010): Secreted frizzled-related protein 1 regulates adipose tissue expansion and is dysregulated in severe obesity. *Int J Obes* 34, 1695–1705
- Lamster IB, Pagan M (2017): Periodontal disease and the metabolic syndrome. *Int Dent J* 67, 67–77
- Laudes M (2011): Role of WNT signalling in the determination of human mesenchymal stem cells into preadipocytes. *J Mol Endocrinol* 46, R65-72

- Lee S-I, Yi J-K, Bae W-J, Lee S, Cha H-J, Kim E-C (2016): Thymosin Beta-4 Suppresses Osteoclastic Differentiation and Inflammatory Responses in Human Periodontal Ligament Cells. *PloS One* 11, e0146708
- Leng W-D, Zeng X-T, Kwong JSW, Hua X-P (2015): Periodontal disease and risk of coronary heart disease: An updated meta-analysis of prospective cohort studies. *Int J Cardiol* 201, 469–472
- Levasseur R, Lacombe D, de Vernejoul MC (2005): LRP5 mutations in osteoporosis-pseudoglioma syndrome and high-bone-mass disorders. *Jt Bone Spine Rev Rhum* 72, 207–214
- Li P, He L, Sha Y, Luan Q (2009): Relationship of Metabolic Syndrome to Chronic Periodontitis. *J Periodontol* 80, 541–549
- Lim WH, Liu B, Cheng D, Williams BO, Mah SJ, Helms JA (2014): Wnt signaling regulates homeostasis of the periodontal ligament. *J Periodontal Res* 49, 751–759
- Linden GJ, Lyons A, Scannapieco FA (2013): Periodontal systemic associations: review of the evidence. *J Periodontol* 84, S8–S19
- Lindhe J, Hamp S-E, Løe H (1975): Plaque induced periodontal disease in beagle dogs. *J Periodontal Res* 10, 243–255
- Liu C, Li Y, Semenov M, Han C, Baeg G-H, Tan Y, Zhang Z, Lin X, He X (2002): Control of  $\beta$ -Catenin Phosphorylation/Degradation by a Dual-Kinase Mechanism. *Cell* 108, 837–847
- Liu T, DeCostanzo AJ, Liu X, Wang H, Hallagan S, Moon RT, Malbon CC (2001): G Protein Signaling from Activated Rat Frizzled-1 to the  $\beta$ -Catenin-Lef-Tcf Pathway. *Science* 292, 1718–1722
- Locker D (2000): Response and Nonresponse Bias in Oral Health Surveys. *J Public Health Dent* 60, 72–81
- Locker D, Maggiri J, Wexler E (2009): What Frames of Reference Underlie Self-Ratings of Oral Health?\*. *J Public Health Dent* 69, 78–89
- Loe H, Theilade E, Jensen SB (1965): EXPERIMENTAL GINGIVITIS IN MAN. *J Periodontol* 36, 177–187
- Logan CY, Nusse R (2004): The Wnt signaling pathway in development and disease. *Annu Rev Cell Dev Biol* 20, 781–810
- Loos BG, Papantonopoulos G, Jepsen S, Laine ML (2015): What is the Contribution of Genetics to Periodontal Risk? *Dent Clin North Am* 59, 761–780
- MacDonald BT, Joiner DM, Oyserman SM, Sharma P, Goldstein SA, He X, Hauschka PV (2007): For submission to BONE: Bone mass is inversely proportional to Dkk1 levels in mice. *Bone* 41, 331–339

- MacLeod RJ, Hayes M, Pacheco I (2007): Wnt5a secretion stimulated by the extracellular calcium-sensing receptor inhibits defective Wnt signaling in colon cancer cells. *Am J Physiol - Gastrointest Liver Physiol* 293, G403–G411
- Maekawa T, Kulwattanaporn P, Hosur K, Domon H, Oda M, Terao Y, Maeda T, Hajishengallis G (2017): Differential Expression and Roles of Secreted Frizzled-Related Protein 5 and the Wingless Homolog Wnt5a in Periodontitis. *J Dent Res* 22034516687248
- Mailoa J, Lin G-H, Khoshkam V, MacEachern M, Chan H-L, Wang H-L (2015): Long-Term Effect of Four Surgical Periodontal Therapies and One Non-Surgical Therapy: A Systematic Review and Meta-Analysis. *J Periodontol* 86, 1150–1158
- Majithia AR, Flannick J, Shahinian P, Guo M, Bray M-A, Fontanillas P, Gabriel SB, Rosen ED, Altshuler D (2014): Rare variants in PPARG with decreased activity in adipocyte differentiation are associated with increased risk of type 2 diabetes. *Proc Natl Acad Sci U S A* 111, 13127–13132
- Mao J, Wang J, Liu B, Pan W, Farr III GH, Flynn C, Yuan H, Takada S, Kimelman D, Li L, Wu D (2001): Low-Density Lipoprotein Receptor-Related Protein-5 Binds to Axin and Regulates the Canonical Wnt Signaling Pathway. *Mol Cell* 7, 801–809
- Mark Bartold P, Van Dyke TE (2017): Host modulation: controlling the inflammation to control the infection. *Periodontol 2000* 75, 317–329
- Marsh PD, Bradshaw DJ (1997): Physiological approaches to the control of oral biofilms. *Adv Dent Res* 11, 176–185
- Martin JA, Page RC, Kaye EK, Hamed MT, Loeb CF (2009): Periodontitis severity plus risk as a tooth loss predictor. *J Periodontol* 80, 202–209
- Martin-Cabezas R, Seelam N, Petit C, Agossa K, Gaertner S, Tenenbaum H, Davideau J-L, Huck O (2016): Association between periodontitis and arterial hypertension: A systematic review and meta-analysis. *Am Heart J* 180, 98–112
- Martinez-Canut P, Lorca A, Magán R (1995): Smoking and periodontal disease severity. *J Clin Periodontol* 22, 743–749
- Martinez-Herrera M, Silvestre-Rangil J, Silvestre F-J (2017): Association between obesity and periodontal disease. A systematic review of epidemiological studies and controlled clinical trials. *Med Oral Patol Oral Cirugia Bucal*, 22, e708–e715
- Matthews DR, Hosker JP, Rudenski AS, Naylor BA, Treacher DF, Turner RC (1985): Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia* 28, 412–419
- Mayr T, Deutsch U, Kühl M, Drexler HC, Lottspeich F, Deutzmann R, Wedlich D, Risau W (1997): Fritz: a secreted frizzled-related protein that inhibits Wnt activity. *Mech Dev* 63, 109–125

- Mazzeu JF, Pardono E, Vianna-Morgante AM, Richieri-Costa A, Ae Kim C, Brunoni D, Martelli L, de Andrade CEF, Colin G, Otto PA (2007): Clinical characterization of autosomal dominant and recessive variants of Robinow syndrome. *Am J Med Genet A* 143A, 320–325
- McEwen DG, Peifer M (2000): Wnt signaling: Moving in a new direction. *Curr Biol* 10, R562–R564
- Medzhitov R (2008): Origin and physiological roles of inflammation. *Nature* 454, 428–435
- Melkonyan HS, Chang WC, Shapiro JP, Mahadevappa M, Fitzpatrick PA, Kiefer MC, Tomei LD, Umansky SR (1997): SARPs: A family of secreted apoptosis-related proteins. *Proc Natl Acad Sci U S A* 94, 13636–13641
- Meyle J, Hoffmann T, Bengel W: *Klassifikation der Parodontalerkrankungen*. Quintessenz-Verl.-GmbH, Berlin [u.a.] 2002
- Michalowicz BS, Aepli DP, Kuba RK, Bereuter JE, Conry JP, Segal NL, Bouchard TJ, Pihlstrom BL (1991a): A twin study of genetic variation in proportional radiographic alveolar bone height. *J Dent Res* 70, 1431–1435
- Michalowicz BS, Aepli D, Virag JG, Klump DG, Hinrichs E, Segal NL, Bouchard TJ, Pihlstrom BL (1991b): Periodontal Findings in Adult Twins. *J Periodontol* 62, 293–299
- Michalowicz BS, Diehl SR, Gunsolley JC, Sparks BS, Brooks CN, Koertge TE, Califano JV, Burmeister JA, Schenkein HA (2000): Evidence of a Substantial Genetic Basis for Risk of Adult Periodontitis. *J Periodontol* 71, 1699–1707
- Mikels AJ, Nusse R (2006): Purified Wnt5a Protein Activates or Inhibits  $\beta$ -Catenin–TCF Signaling Depending on Receptor Context. *PLOS Biol* 4, e115
- Miranda TS, Napimoga MH, Feres M, Marins LM, da Cruz DF, da Silva HDP, Duarte PM (2018): Antagonists of Wnt/ $\beta$ -catenin signalling in the periodontitis associated with type 2 diabetes and smoking. *J Clin Periodontol* 45, 293–302
- Mishra S, Agarwalla SK, Pradhan S (2015): Robinow Syndrome: A Rare Diagnosis. *J Clin Diagn Res JCDR* 9, SD04–SD05
- Mlodzik M (2002): Planar cell polarization: do the same mechanisms regulate Drosophila tissue polarity and vertebrate gastrulation? *Trends Genet TIG* 18, 564–571
- Mohammad AR, Brunsvold M, Bauer R (1996): The strength of association between systemic postmenopausal osteoporosis and periodontal disease. *Int J Prosthodont* 9, 479–483
- Mombelli A (2003): Periodontitis as an infectious disease: specific features and their implications. *Oral Dis* 9 Suppl 1, 6–10
- Mombelli A, McNabb H, Lang NP (1991): Black-pigmenting Gram-negative bacteria in periodontal disease. I. Topographic distribution in the human dentition\*. *J Periodontal Res* 26, 301–307

- Monteiro R, Azevedo I (2010): Chronic Inflammation in Obesity and the Metabolic Syndrome. *Mediators Inflamm* 2010, 2010: 289645
- Moon RT, Kohn AD, Ferrari GVD, Kaykas A (2004): WNT and  $\beta$ -catenin signalling: diseases and therapies. *Nat Rev Genet* 5, 691–701
- Morata G, Lawrence PA (1977): The development of wingless, a homeotic mutation of *Drosophila*. *Dev Biol* 56, 227–240
- Mori H, Prestwich TC, Reid MA, Longo KA, Gerin I, Cawthorn WP, Susulic VS, Krishnan V, Greenfield A, MacDougald OA (2012): Secreted frizzled-related protein 5 suppresses adipocyte mitochondrial metabolism through WNT inhibition. *J Clin Invest* 122, 2405–2416
- Morita T, Yamazaki Y, Mita A, Takada K, Seto M, Nishinoue N, Sasaki Y, Motohashi M, Maeno M (2010): A Cohort Study on the Association Between Periodontal Disease and the Development of Metabolic Syndrome. *J Periodontol* 81, 512–519
- Müller H-P: Checklisten der Zahnmedizin: Parodontologie. (Checklisten der Zahnmedizin), 3., aktualisierte Aufl.; Thieme, Stuttgart [u.a.] 2012
- Müller H-P, Stadermann S, Heinecke A (2002): Longitudinal association between plaque and gingival bleeding in smokers and non-smokers. *J Clin Periodontol* 29, 287–294
- Müller N, Schulte DM, Türk K, Freitag-Wolf S, Hampe J, Zeuner R, Schröder JO, Gouni-Berthold I, Berthold HK, Krone W, et al. (2015): IL-6 blockade by monoclonal antibodies inhibits apolipoprotein (a) expression and lipoprotein (a) synthesis in humans. *J Lipid Res* 56, 1034–1042
- Munz M, Willenborg C, Richter GM, Jockel-Schneider Y, Graetz C, Staufenberg I, Wellmann J, Berger K, Krone B, Hoffmann P, et al. (2017a): A genome-wide association study identifies nucleotide variants at SIGLEC5 and DEFA1A3 as risk loci for periodontitis. *Hum Mol Genet* 26, 2577–2588
- Munz M, Chen H, Jockel-Schneider Y, Adam K, Hoffman P, Berger K, Kocher T, Meyle J, Eickholz P, Doerfer C, et al. (2017b): A haplotype block downstream of plasminogen is associated with chronic and aggressive periodontitis. *J Clin Periodontol* 44, 962–970
- Murphy KP, Janeway C, Travers P, Walport M, Mowat A, Weaver CT: *Janeway's immunobiology*. 8. Auflage; Garland Science, London [u.a.] 2012
- Musskopf ML, Daudt LD, Weidlich P, Gerchman F, Gross JL, Oppermann RV (2016): Metabolic syndrome as a risk indicator for periodontal disease and tooth loss. *Clin Oral Investig* 1–9
- Nakamura K, Fuster JJ, Walsh K (2014): Adipokines: A link between obesity and cardiovascular disease. *J Cardiol* 63, 250–259
- Nakamura S, Tanaka S (2014): [Biological therapy for osteoporosis]. *Clin Calcium* 24, 919–925



Nanbara H, Wara-aswapati N, Nagasawa T, Yoshida Y, Yashiro R, Bando Y, Kobayashi H, Khongcharoensuk J, Hormdee D, Pitiphat W, et al. (2012): Modulation of Wnt5a Expression by Periodontopathic Bacteria. *PLOS ONE* 7, e34434

Nemoto E, Ebe Y, Kanaya S, Tsuchiya M, Nakamura T, Tamura M, Shimauchi H (2012): Wnt5a signaling is a substantial constituent in bone morphogenetic protein-2-mediated osteoblastogenesis. *Biochem Biophys Res Commun* 422, 627–632

Nibali L, Tatarakis N, Needleman I, Tu Y-K, D’Aiuto F, Rizzo M, Donos N (2013): Clinical review: Association between metabolic syndrome and periodontitis: a systematic review and meta-analysis. *J Clin Endocrinol Metab* 98, 913–920

Nishimura R, Hata K, Ikeda F, Ichida F, Shimoyama A, Matsubara T, Wada M, Amano K, Yoneda T (2008): Signal transduction and transcriptional regulation during mesenchymal cell differentiation. *J Bone Miner Metab* 26, 203

Nishita M, Enomoto M, Yamagata K, Minami Y (2010a): Cell/tissue-tropic functions of Wnt5a signaling in normal and cancer cells. *Trends Cell Biol* 20, 346–354

Nishita M, Itsukushima S, Nomachi A, Endo M, Wang Z, Inaba D, Qiao S, Takada S, Kikuchi A, Minami Y (2010b): Ror2/Frizzled Complex Mediates Wnt5a-Induced AP-1 Activation by Regulating Dishevelled Polymerization. *Mol Cell Biol* 30, 3610–3619

NM\_003392.4(WNT5A):c.\*2945A>G.

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/variation/346224/#clinical-assertions> (zuletzt aufgerufen am 24.2.2019)

Noordermeer J, Klingensmith J, Perrimon N, Nusse R (1994): dishevelled and armadillo act in the Wingless signalling pathway in *Drosophila*. *Nature* 367, 80–83

Nusse R, Varmus HE (1982): Many tumors induced by the mouse mammary tumor virus contain a provirus integrated in the same region of the host genome. *Cell* 31, 99–109

Nüsslein-Volhard C, Wieschaus E (1980): Mutations affecting segment number and polarity in *Drosophila*. *Nature* 287, 795–801

Obesity: preventing and managing the global epidemic. Report of a WHO consultation (2000) World Health Organ Tech Rep Ser 894, i–xii, 1–253

van Ooyen A, Nusse R (1984): Structure and nucleotide sequence of the putative mammary oncogene int-1; proviral insertions leave the protein-encoding domain intact. *Cell* 39, 233–240

Ouchi N, Higuchi A, Ohashi K, Oshima Y, Gokce N, Shibata R, Akasaki Y, Shimono A, Walsh K (2010): Sfrp5 is an anti-inflammatory adipokine that modulates metabolic dysfunction in obesity. *Science* 329, 454–457

Page RC, Schroeder HE (1976): Pathogenesis of inflammatory periodontal disease. A summary of current work. *Lab Investig J Tech Methods Pathol* 34, 235–249

- Page RC, Kornman KS (1997): The pathogenesis of human periodontitis: an introduction. *Periodontol* 2000 14, 9–11
- Pagliarini RA, Xu T (2003): A genetic screen in *Drosophila* for metastatic behavior. *Science* 302, 1227–1231
- Papapanou PN, Sanz M, Buduneli N, Dietrich T, Feres M, Fine DH, Flemmig TF, Garcia R, Giannobile WV, Graziani F, et al. Periodontitis: Consensus report of workgroup 2 of the 2017 World Workshop on the Classification of Periodontal and Peri-Implant Diseases and Conditions. *J Periodontol* 89, S173–S182
- Paraskevas S, Huizinga JD, Loos BG (2008): A systematic review and meta-analyses on C-reactive protein in relation to periodontitis. *J Clin Periodontol* 35, 277–290
- Park J-R, Jung J-W, Lee Y-S, Kang K-S (2008): The roles of Wnt antagonists Dkk1 and sFRP4 during adipogenesis of human adipose tissue-derived mesenchymal stem cells. *Cell Prolif* 41, 859–874
- Passos-Soares J de S, Vianna MIP, Gomes-Filho IS, Cruz SS, Barreto ML, Adan LF, Rösing CK, Trindade SC, Cerqueira EMM, Scannapieco FA (2017): Association between osteoporosis treatment and severe periodontitis in postmenopausal women. *Menopause N Y N* 24, 789–795
- Peifer M, Berg S, Reynolds AB (1994): A repeating amino acid motif shared by proteins with diverse cellular roles. *Cell* 76, 789–791
- Peng L, Ye L, Dong G, Ren LB, Wang CL, Xu P, Zhou XD (2009): WNT5A inhibits human dental papilla cell proliferation and migration. *Biochem Biophys Res Commun* 390, 1072–1078
- Penoni DC, Fidalgo TKS, Torres SR, Varela VM, Masterson D, Leão ATT, Maia LC (2017): Bone Density and Clinical Periodontal Attachment in Postmenopausal Women: A Systematic Review and Meta-Analysis. *J Dent Res* 96, 261–269
- Pereira C, Schaer DJ, Bachli EB, Kurrer MO, Schoedon G (2008): Wnt5A/CaMKII Signaling Contributes to the Inflammatory Response of Macrophages and Is a Target for the Antiinflammatory Action of Activated Protein C and Interleukin-10. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 28, 504–510
- Perepelytsina OM, Yakymchuk OM, Sydorenko MV, Bakalinska ON, Bloisi F, Vicari LRM (2016): Functionalization of Carbon Nanomaterial Surface by Doxorubicin and Antibodies to Tumor Markers. *Nanoscale Res Lett* 11, 314
- Petersen PE (2010): Improvement of global oral health--the leadership role of the World Health Organization. *Community Dent Health* 27, 194–198
- Pischon N, Heng N, Bernimoulin J-P, Kleber B-M, Willich SN, Pischon T (2007): Obesity, Inflammation, and Periodontal Disease. *J Dent Res* 86, 400–409

- Polak D, Shapira L (2018): An update on the evidence for pathogenic mechanisms that may link periodontitis and diabetes. *J Clin Periodontol* 45, 150–166
- Ponting CP, Bork P (1996): Pleckstrin's repeat performance: a novel domain in G-protein signaling? *Trends Biochem Sci* 21, 245–246
- Preber H, Bergström J (1985): Occurrence of gingival bleeding in smoker and non-smoker patients. *Acta Odontol Scand* 43, 315–320
- Preber H, Bergström J (1986): Cigarette smoking in patients referred for periodontal treatment. *Scand J Dent Res* 94, 102–108
- Pribluda A, Elyada E, Wiener Z, Hamza H, Goldstein RE, Biton M, Burstain I, Morgenstern Y, Brachya G, Billauer H, et al. (2013): A Senescence-Inflammatory Switch from Cancer-Inhibitory to Cancer-Promoting Mechanism. *Cancer Cell* 24, 242–256
- Purcell S, Neale B, Todd-Brown K, Thomas L, Ferreira MAR, Bender D, Maller J, Sklar P, de Bakker PIW, Daly MJ, Sham PC (2007): PLINK: A Tool Set for Whole-Genome Association and Population-Based Linkage Analyses. *Am J Hum Genet* 81, 559–575
- Qian D, Jones C, Rzadzinska A, Mark S, Zhang X, Steel KP, Dai X, Chen P (2007): Wnt5a functions in planar cell polarity regulation in mice. *Dev Biol* 306, 121–133
- Rachner TD, Khosla S, Hofbauer LC (2011): Osteoporosis: now and the future. *The Lancet* 377, 1276–1287
- Rachner TD, Göbel A, Benad-Mehner P, Hofbauer LC, Rauner M (2014): Dickkopf-1 as a mediator and novel target in malignant bone disease. *Cancer Lett* 346, 172–177
- Rattner A, Hsieh J-C, Smallwood PM, Gilbert DJ, Copeland NG, Jenkins NA, Nathans J (1997): A family of secreted proteins contains homology to the cysteine-rich ligand-binding domain of frizzled receptors. *Proc Natl Acad Sci U S A* 94, 2859–2863
- Rehman J, Considine RV, Bovenkerk JE, Li J, Slavens CA, Jones RM, March KL (2003): Obesity is associated with increased levels of circulating hepatocyte growth factor. *J Am Coll Cardiol* 41, 1408–1413
- Rein P, Mueller RB (2017): Treatment with Biologicals in Rheumatoid Arthritis: An Overview. *Rheumatol Ther*, 4, 247–261
- Ribeiro MSM, Pacheco RBA, Fischer RG, Macedo JMB (2016): Interaction of IL1B and IL1RN polymorphisms, smoking habit, gender, and ethnicity with aggressive and chronic periodontitis susceptibility. *Contemp Clin Dent* 7, 349
- Rigo-Watermeier T, Kraft B, Ritthaler M, Wallkamm V, Holstein T, Wedlich D (2012): Functional conservation of *Nematostella* Wnts in canonical and noncanonical Wnt-signaling. *Biol Open* 1, 43–51

- Roberts RL, Kennedy MA (2006): Rapid detection of common cytochrome P450 2D6 alleles in Caucasians. *Clin Chim Acta* 366, 348–351
- Robinson PG, Sheiham A, Challacombe SJ, Zakrzewska JM (1996): The periodontal health of homosexual men with HIV infection: a controlled study. *Oral Dis* 2, 45–52
- Robitaille J, Després J-P, Pérusse L, Vohl M-C (2003): The PPAR-gamma P12A polymorphism modulates the relationship between dietary fat intake and components of the metabolic syndrome: results from the Québec Family Study. *Clin Genet* 63, 109–116
- Rockman SP, Currie SA, Ciavarella M, Vincan E, Dow C, Thomas RJ, Phillips WA (2001): Id2 is a target of the beta-catenin/T cell factor pathway in colon carcinoma. *J Biol Chem* 276, 45113–45119
- Ross SE, Hemati N, Longo KA, Bennett CN, Lucas PC, Erickson RL, MacDougald OA (2000): Inhibition of Adipogenesis by Wnt Signaling. *Science* 289, 950–953
- Rosso SB, Sussman D, Wynshaw-Boris A, Salinas PC (2005): Wnt signaling through Dishevelled, Rac and JNK regulates dendritic development. *Nat Neurosci* 8, 34–42
- Rovin S, Costich ER, Gordon HA (1966): The influence of bacteria and irritation in the initiation of periodontal disease in germfree and conventional rats. *J Periodontal Res* 1, 193–204
- rs1795651 [Homo sapiens]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/?term=rs1795651> (zuletzt aufgerufen am 24.2.2019)
- rs1829556 [Homo sapiens]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/?term=rs1829556> (zuletzt aufgerufen am 24.2.2019)
- rs2039826 [Homo sapiens]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/?term=rs2039826> (zuletzt aufgerufen am 24.2.2019)
- rs12497254 [Homo sapiens]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/?term=rs12497254> (zuletzt aufgerufen am 24.2.2019)
- Samaei NM, Yazdani Y, Alizadeh-Navaei R, Azadeh H, Farazmandfar T (2014): Promoter methylation analysis of WNT/ $\beta$ -catenin pathway regulators and its association with expression of DNMT1 enzyme in colorectal cancer. *J Biomed Sci* 21, 73
- Sato A, Yamamoto H, Sakane H, Koyama H, Kikuchi A (2010): Wnt5a regulates distinct signalling pathways by binding to Frizzled2. *EMBO J* 29, 41–54
- Savić Pavičin I, Dumančić J, Jukić T, Badel T (2017): The relationship between periodontal disease, tooth loss and decreased skeletal bone mineral density in ageing women. *Gerodontology*, 34, 441–445
- Scapoli L, Girardi A, Palmieri A, Martinelli M, Cura F, Lauritano D, Pezzetti F, Carinci F (2015): INTERLEUKIN-6 GENE POLYMORPHISM MODULATES THE RISK OF PERIODONTAL DISEASES. *J Biol Regul Homeost Agents* 29, 111–116

Schaaf CP, Zschocke J: Basiswissen Humangenetik. (Springer-Lehrbuch); Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg 2013

Schäfer A, Dommisch H, Søren J. <https://www.zm-online.de/archiv/2015/10/titel/parodontitis-gene-als-risikofaktor/seite/alle/> (zuletzt aufgerufen am 24.2.2019)

Schaefer AS, Jochens A, Dommisch H, Graetz C, Jockel-Schneider Y, Harks I, Staufenbiel I, Meyle J, Eickholz P, Folwaczny M, et al. (2014): A large candidate-gene association study suggests genetic variants at IRF5 and PRDM1 to be associated with aggressive periodontitis. *J Clin Periodontol* 41, 1122–1131

Schaefer AS, Bochenek G, Jochens A, Ellinghaus D, Dommisch H, Güzeldemir-Akçakanat E, Graetz C, Harks I, Jockel-Schneider Y, Weinspach K, et al. (2015): Genetic Evidence for PLASMINOGEN as a Shared Genetic Risk Factor of Coronary Artery Disease and Periodontitis. *Circ Cardiovasc Genet* 8, 159–167

Schulte DM, Müller N, Neumann K, Oberhäuser F, Faust M, Güdelhöfer H, Brandt B, Krone W, Laudes M (2012): Pro-Inflammatory wnt5a and Anti-Inflammatory sFRP5 Are Differentially Regulated by Nutritional Factors in Obese Human Subjects. *PLOS ONE* 7, e32437

Schulte DM, Kragelund D, Müller N, Hagen I, Elke G, Titz A, Schädler D, Schumacher J, Weiler N, Bewig B, et al. (2015): The wntless-related integration site-5a/secreted frizzled-related protein-5 system is dysregulated in human sepsis. *Clin Exp Immunol* 180, 90–97

Schulte G, Bryja V (2007): The Frizzled family of unconventional G-protein-coupled receptors. *Trends Pharmacol Sci* 28, 518–525

Sculean A, Stavropoulos A, Berakdar M, Windisch P, Karring T, Brex M (2005): Formation of human cementum following different modalities of regenerative therapy. *Clin Oral Investig* 9, 58–64

Sen M (2005): Wnt signalling in rheumatoid arthritis. *Rheumatology* 44, 708–713

Shanbhag S, Dahiya M, Croucher R (2012): The impact of periodontal therapy on oral health-related quality of life in adults: a systematic review. *J Clin Periodontol* 39, 725–735

Shao M, Huang P, Cheng R, Hu T (2009): Interleukin-6 polymorphisms modify the risk of periodontitis: a systematic review and meta-analysis. *J Zhejiang Univ Sci B* 10, 920–927

Sharma RP, Chopra VL (1976): Effect of the wingless (wg1) mutation on wing and haltere development in *Drosophila melanogaster*. *Dev Biol* 48, 461–465

Shtutman M, Zhurinsky J, Simcha I, Albanese C, D'Amico M, Pestell R, Ben-Ze'ev A (1999): The cyclin D1 gene is a target of the beta-catenin/LEF-1 pathway. *Proc Natl Acad Sci U S A* 96, 5522–5527

- Siegfried E, Wilder EL, Perrimon N (1994): Components of wingless signalling in *Drosophila*. *Nature* 367, 76–80
- Simons M, Mlodzik M (2008): Planar cell polarity signaling: from fly development to human disease. *Annu Rev Genet* 42, 517–540
- Simpson TC, Weldon JC, Worthington HV, Needleman I, Wild SH, Moles DR, Stevenson B, Furness S, Iheozor-Ejiofor Z: Treatment of periodontal disease for glycaemic control in people with diabetes mellitus; in: *Cochrane Database of Systematic Reviews*; John Wiley & Sons, Ltd 2015
- Slade GD (1997): Derivation and validation of a short-form oral health impact profile. *Community Dent Oral Epidemiol* 25, 284–290
- Slade GD, Spencer AJ (1994): Development and evaluation of the Oral Health Impact Profile. *Community Dent Health* 11, 3–11
- Slonczewski JL: *Mikrobiologie: eine Wissenschaft mit Zukunft*. 2. Auflage; Springer Spektrum, Berlin 2012
- Slots J (2017): Periodontitis: facts, fallacies and the future. *Periodontol* 2000 75, 7–23
- Smith G I. f., Cross D I., Wray D (1995): Comparison of periodontal disease in HIV seropositive subjects and controls (I). *J Clin Periodontol* 22, 558–568
- Song J, Zhao H, Pan C, Li C, Liu J, Pan Y (2017): Risk factors of chronic periodontitis on healing response: a multilevel modelling analysis. *BMC Med Inform Decis Mak* 17, 135
- Stein JM: *Moderne Parodontologie in der Praxis - Band 1: Grundlagen, Klassifikation und Diagnostik. (Praxisorientiertes und praxiswirksames Expertenwissen für ZahnärzteSpitta-Fachinformationen)*; Spitta, Balingen 2010
- Strutt DI, Weber U, Mlodzik M (1997): The role of RhoA in tissue polarity and Frizzled signalling. *Nature* 387, 292–295
- Suh E, Traber PG (1996): An intestine-specific homeobox gene regulates proliferation and differentiation. *Mol Cell Biol* 16, 619–625
- Suvan JE, Finer N, D’Aiuto F (2018): Periodontal complications with obesity. *Periodontol* 2000 78, 98–128
- Tai H, Endo M, Shimada Y, Gou E, Orima K, Kobayashi T, Yamazaki K, Yoshie H (2002): Association of interleukin-1 receptor antagonist gene polymorphisms with early onset periodontitis in Japanese. *J Clin Periodontol* 29, 882–888
- Takemaru K-I, Yamaguchi S, Lee YS, Zhang Y, Carthew RW, Moon RT (2003): Chibby, a nuclear  $\beta$ -catenin-associated antagonist of the Wnt/Wingless pathway. *Nature* 422, 905–909

- Tan X, Huang D, Zhou W, Yan L, Yue J, Lu W, Song D, Zhou X, Ye L, Zhang L (2018): Dickkopf-1 may regulate bone coupling by attenuating wnt/ $\beta$ -catenin signaling in chronic apical periodontitis. *Arch Oral Biol* 86, 94–100
- Taylor GW (2001): Bidirectional interrelationships between diabetes and periodontal diseases: an epidemiologic perspective. *Ann Periodontol* 6, 99–112
- Taylor JJ, Preshaw PM, Donaldson PT (2004): Cytokine gene polymorphism and immunoregulation in periodontal disease. *Periodontol 2000* 35, 158–182
- Taylor JJ, Preshaw PM, Lalla E (2013): A review of the evidence for pathogenic mechanisms that may link periodontitis and diabetes. *J Clin Periodontol* 40, S113–S134
- Teeuw WJ, Slot DE, Susanto H, Gerdes VEA, Abbas F, D’Aiuto F, Kastelein JJP, Loos BG (2014): Treatment of periodontitis improves the atherosclerotic profile: a systematic review and meta-analysis. *J Clin Periodontol* 41, 70–79
- Teeuw WJ, Laine ML, Bizzarro S, Loos BG (2015): A Lead ANRIL Polymorphism Is Associated with Elevated CRP Levels in Periodontitis: A Pilot Case-Control Study. *PLOS ONE* 10, e0137335
- Teo R, Möhrlen F, Plickert G, Müller WA, Frank U (2006): An evolutionary conserved role of Wnt signaling in stem cell fate decision. *Dev Biol* 289, 91–99
- Tetsu O, McCormick F (1999): Beta-catenin regulates expression of cyclin D1 in colon carcinoma cells. *Nature* 398, 422–426
- Tezal M, Wactawski-Wende J, Grossi SG, Ho AW, Dunford R, Genco RJ (2000): The relationship between bone mineral density and periodontitis in postmenopausal women. *J Periodontol* 71, 1492–1498
- Tolwinski NS, Wieschaus E (2004): A Nuclear Function for Armadillo/ $\beta$ -Catenin. *PLOS Biol* 2, e95
- Topol L, Jiang X, Choi H, Garrett-Beal L, Carolan PJ, Yang Y (2003): Wnt-5a inhibits the canonical Wnt pathway by promoting GSK-3-independent  $\beta$ -catenin degradation. *J Cell Biol* 162, 899–908
- Tsioufis C, Kasiakogias A, Thomopoulos C, Stefanadis C (2011): Periodontitis and blood pressure: The concept of dental hypertension. *Atherosclerosis* 219, 1–9
- Uehara S, Udagawa N, Mukai H, Ishihara A, Maeda K, Yamashita T, Murakami K, Nishita M, Nakamura T, Kato S, et al. (2017): Protein kinase N3 promotes bone resorption by osteoclasts in response to Wnt5a-Ror2 signaling. *Sci Signal* 10, eaan0023
- Valinezhad Orang A, Safaralizadeh R, Kazemzadeh-Bavili M (2014): Mechanisms of miRNA-Mediated Gene Regulation from Common Downregulation to mRNA-Specific Upregulation. *Int J Genomics* 2014: 970607

- Vasudevan S (2012): Posttranscriptional upregulation by microRNAs. *Wiley Interdiscip Rev RNA* 3, 311–330
- Vasudevan S, Steitz JA (2007): AU-rich-element-mediated upregulation of translation by FXR1 and Argonaute 2. *Cell* 128, 1105–1118
- Veeck J, Geisler C, Noetzel E, Alkaya S, Hartmann A, Knüchel R, Dahl E (2008): Epigenetic inactivation of the secreted frizzled-related protein-5 (SFRP5) gene in human breast cancer is associated with unfavorable prognosis. *Carcinogenesis* 29, 991–998
- Veeman MT, Axelrod JD, Moon RT (2003): A second canon. Functions and mechanisms of beta-catenin-independent Wnt signaling. *Dev Cell* 5, 367–377
- Virto L, Cano P, Jiménez-Ortega V, Fernández-Mateos P, González J, Esquifino AI, Sanz M (2017): Obesity and Periodontitis. An Experimental Study to Evaluate the Periodontal and Systemic Effects of the Co-Morbidity. *J Periodontol* 89, 176-185
- Wallingford JB, Rowning BA, Vogeli KM, Rothbacher U, Fraser SE, Harland RM (2000): Dishevelled controls cell polarity during *Xenopus* gastrulation. *Nature* 405, 81–85
- Wang C (2014): Obesity, Inflammation, and Lung Injury (OILI): The Good. *Mediators Inflamm* 2014, e978463
- Wang H, Lee Y, Malbon CC (2004): PDE6 is an effector for the Wnt/Ca<sup>2+</sup>/cGMP-signalling pathway in development. *Biochem Soc Trans* 32, 792–796
- Wang J, Thingholm LB, Skiecevičienė J, Rausch P, Kummen M, Hov JR, Degenhardt F, Heinsen F-A, Rühlemann MC, Szymczak S, et al. (2016): Genome-wide association analysis identifies variation in vitamin D receptor and other host factors influencing the gut microbiota. *Nat Genet* 48, 1396
- Watanabe K, Cho YD (2014): Periodontal disease and metabolic syndrome: a qualitative critical review of their association. *Arch Oral Biol* 59, 855–870
- Weeraratna AT, Jiang Y, Hostetter G, Rosenblatt K, Duray P, Bittner M, Trent JM (2002): Wnt5a signaling directly affects cell motility and invasion of metastatic melanoma. *Cancer Cell* 1, 279–288
- Weyant RJ, Pearlstein ME, Churak AP, Forrest K, Famili P, Cauley JA (1999): The association between osteopenia and periodontal attachment loss in older women. *J Periodontol* 70, 982–991
- WHO Expert Committee on Physical Status: the Use and Interpretation of Anthropometry (1993: Geneva, Switzerland), World Health Organization (1995): Physical status: the use of and interpretation of anthropometry, report of a WHO expert committee.
- Willert J, Epping M, Pollack JR, Brown PO, Nusse R (2002): A transcriptional response to Wnt protein in human embryonic carcinoma cells. *BMC Dev Biol* 2, 8



- Willert K, Brown JD, Danenberg E, Duncan AW, Weissman IL, Reya T, Yates JR, Nusse R (2003): Wnt proteins are lipid-modified and can act as stem cell growth factors. *Nature* 423, 448–452
- Winkler JR, Murray PA (1987): Periodontal disease. A potential intraoral expression of AIDS may be rapidly progressive periodontitis. *CDA J* 15, 20–24
- Winning L, Linden GJ (2017): Periodontitis and Systemic Disease: Association or Causality? *Curr Oral Health Rep* 4, 1–7
- Wolf HF, Rateitschak-Plüss EM, Rateitschak K-H, Schroeder HE: *Parodontologie*. 3. Auflage; Thieme, Stuttgart [u.a.] 2012
- von Wowern N, Klausen B, Kollerup G (1994): Osteoporosis: a risk factor in periodontal disease. *J Periodontol* 65, 1134–1138
- Wu G, Liu C, He X (2004): Ozz: A New Name on the Long List of  $\beta$ -Catenin's Nemeses. *Mol Cell* 13, 451–453
- Wu J, Mlodzik M (2009): A quest for the mechanism regulating global planar cell polarity of tissues. *Trends Cell Biol* 19, 295–305
- Xiao LM, Yan YX, Xie CJ, Fan WH, Xuan DY, Wang CX, Chen L, Sun SY, Xie BY, Zhang JC (2009): Association among interleukin-6 gene polymorphism, diabetes and periodontitis in a Chinese population. *Oral Dis* 15, 547–553
- Xie Q, Chen L, Shan X, Shan X, Tang J, Zhou F, Chen Q, Quan H, Nie D, Zhang W, et al. (2014): Epigenetic silencing of SFRP1 and SFRP5 by hepatitis B virus X protein enhances hepatoma cell tumorigenicity through Wnt signaling pathway. *Int J Cancer* 135, 635–646
- Xu L, Ma N, Qiu L, Yu Y, Zhong M, Yu J, Xue M (2015): [Expression of Wnt5a in chronic apical periodontitis and its clinical significance]. *Shanghai Kou Qiang Yi Xue Shanghai J Stomatol* 24, 470–474
- Xu S, Song M, Xiong Y, Liu X, He Y, Qin Z (2017): The association between periodontal disease and the risk of myocardial infarction: a pooled analysis of observational studies. *BMC Cardiovasc Disord* 17, 50
- Yamada T, Takaoka AS, Naishiro Y, Hayashi R, Maruyama K, Maesawa C, Ochiai A, Hirohashi S (2000): Transactivation of the multidrug resistance 1 gene by T-cell factor 4/beta-catenin complex in early colorectal carcinogenesis. *Cancer Res* 60, 4761–4766
- Yamamoto S, Nishimura O, Misaki K, Nishita M, Minami Y, Yonemura S, Tarui H, Sasaki H (2008): Cthrc1 Selectively Activates the Planar Cell Polarity Pathway of Wnt Signaling by Stabilizing the Wnt-Receptor Complex. *Dev Cell* 15, 23–36

- Yamanaka H, Moriguchi T, Masuyama N, Kusakabe M, Hanafusa H, Takada R, Takada S, Nishida E (2002): JNK functions in the non-canonical Wnt pathway to regulate convergent extension movements in vertebrates. *EMBO Rep* 3, 69–75
- Yao W, Cheng Z, Shahnazari M, Dai W, Johnson ML, Lane NE (2010): Overexpression of secreted frizzled-related protein 1 inhibits bone formation and attenuates parathyroid hormone bone anabolic effects. *J Bone Miner Res Off J Am Soc Bone Miner Res* 25, 190–199
- Yavropoulou MP, Yovos JG (2007): The role of the Wnt signaling pathway in osteoblast commitment and differentiation. *Horm Athens Greece* 6, 279–294
- Yoshihara A, Seida Y, Hanada N, Miyazaki H (2004): A longitudinal study of the relationship between periodontal disease and bone mineral density in community-dwelling older adults. *J Clin Periodontol* 31, 680–684
- Yoshihara A, Kaneko N, Iwasaki M, Nohno K, Miyazaki H (2018): Relationship between vitamin D receptor gene polymorphism and susceptibility to chronic kidney disease and periodontal disease in community-dwelling elderly. *J Clin Periodontol* 45, 672–679
- Yu Y, Qiu L, Guo J, Yang D, Qu L, Yu J, Zhan F, Xue M, Zhong M (2015): TRIB3 mediates the expression of Wnt5a and activation of nuclear factor- $\kappa$ B in *Porphyromonas endodontalis* lipopolysaccharide-treated osteoblasts. *Mol Oral Microbiol* 30, 295–306
- Yu YH, Doucette-Stamm L, Rogus J, Moss K, Zee RYL, Steffensen B, Ridker PM, Buring JE, Offenbacher S, Kornman K, Chasman DI (2018): Family History of MI, Smoking, and Risk of Periodontal Disease. *J Dent Res* 97, 1106–1113
- Zeng J, Hu J, Lian Y, Jiang Y, Chen B (2018): SFRP5 is a target gene transcriptionally regulated by PPAR $\gamma$  in 3T3-L1 adipocytes. *Gene* 641, 190–195
- Zeng X-T, Leng W-D, Lam Y-Y, Yan BP, Wei X-M, Weng H, Kwong JSW (2016): Periodontal disease and carotid atherosclerosis: A meta-analysis of 17,330 participants. *Int J Cardiol* 203, 1044–1051
- Zenobia C, Hajishengallis G (2015): Basic biology and role of interleukin-17 in immunity and inflammation. *Periodontol* 2000 69, 142–159
- Zhang L, Gao X, Wen J, Ning Y, Chen Y-G (2006): Dapper 1 Antagonizes Wnt Signaling by Promoting Dishevelled Degradation. *J Biol Chem* 281, 8607–8612
- Zhang X, Gaspard JP, Chung DC (2001): Regulation of vascular endothelial growth factor by the Wnt and K-ras pathways in colonic neoplasia. *Cancer Res* 61, 6050–6054
- Zhou L, Dörfer CE, Chen L, Fawzy El-Sayed KM (2017): *Porphyromonas gingivalis* lipopolysaccharides affect gingival stem/progenitor cells attributes through NF- $\kappa$ B, but not Wnt/ $\beta$ -catenin, pathway. *J Clin Periodontol* 44, 1112–1122

Zhou S, Chen L, Mashrah M, Zhu Y, Liu J, Yang X, He Z, Wang L, Xiang T, Yao Z, et al. (2015): Deregulation of secreted frizzled-related proteins is associated with aberrant beta-catenin activation in the carcinogenesis of oral submucous fibrosis. *OncoTargets Ther* 8, 2923–2931

Zhou Z, Wang J, Han X, Zhou J, Linder S (1998): Up-regulation of human secreted frizzled homolog in apoptosis and its down-regulation in breast tumors. *Int J Cancer* 78, 95–99

Zhu Y, Hollis JH (2015): Associations between the number of natural teeth and metabolic syndrome in adults. *J Clin Periodontol* 42, 113–120

Ziegler A, Koenig IR: A statistical approach to genetic epidemiology. 2nd ed; Wiley-VCH, Weinheim, Bergstr 2010

# 180700 ROBINOW SYNDROME, AUTOSOMAL DOMINANT 1; DRS1.  
<https://omim.org/entry/180700#molecularGenetics> (zuletzt aufgerufen am 24.2.2019)

# 268310 ROBINOW SYNDROME, AUTOSOMAL RECESSIVE; RRS.  
<https://omim.org/entry/268310> (zuletzt aufgerufen am 24.2.2019)

[N15-01] Bewertung der systematischen Behandlung von Parodontopathien.  
[https://www.iqwig.de/download/N15-01\\_Vorbericht\\_Systematische-Behandlung-von-Parodontopathien.pdf](https://www.iqwig.de/download/N15-01_Vorbericht_Systematische-Behandlung-von-Parodontopathien.pdf) (zuletzt aufgerufen am 24.2.2019)

## VII Anhang

<b>SONSTIGE ERKRANKUNGEN</b>	
45)	<p>Ist bei Ihnen von einem Arzt eine Parodontitis (Parodontose) diagnostiziert worden?</p> <p><input type="checkbox"/> ja                      <input type="checkbox"/> nein</p> <p>Wenn ja, wann wurde die Parodontitis festgestellt?</p> <p>Jahr: <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/>      oder damaliges Alter: <input type="text"/> <input type="text"/></p>
46)	<p>Sind bzw. waren Sie aufgrund einer Parodontitis in zahnärztlicher Behandlung?</p> <p><input type="checkbox"/> ja                      <input type="checkbox"/> nein</p>
47)	<p>Haben Sie Zähne aufgrund einer Parodontitis (Parodontose mit fortgeschrittener Zahnlockerung) verloren?</p> <p><input type="checkbox"/> ja                      <input type="checkbox"/> nein</p>
48)	<p>Ist bei Ihnen jemals von einem Arzt eine rheumatoide Arthritis diagnostiziert worden?</p> <p><input type="checkbox"/> ja                      <input type="checkbox"/> nein</p> <p>Wenn ja, wann wurde die rheumatoide Arthritis diagnostiziert?</p> <p>Jahr: <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/>      oder damaliges Alter: <input type="text"/> <input type="text"/></p>
49)	<p>Sind bei Ihnen Hämorrhoiden in einer Operation entfernt worden?</p> <p><input type="checkbox"/> ja                      <input type="checkbox"/> nein</p> <p>Wenn ja, wann wurden die Hämorrhoiden entfernt?</p> <p>Jahr: <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/>      oder damaliges Alter: <input type="text"/> <input type="text"/></p>

«code» 15

Abbildung 17: Auszug des FoCus-Fragebogens

## Danksagung

Ich danke allen, die mir geholfen haben, diese Arbeit entstehen zu lassen.

Zuerst gilt mein Dank meinem Doktorvater Professor Dr. Matthias Laudes, für das Vertrauen bei der Überlassung dieses Themas und die fortwährende großartige wissenschaftliche Unterstützung und Anleitung.

Professor Dr. Dominik Schulte danke ich für seine herausragende Hilfsbereitschaft bei vielen kleinen und großen Problemen und für die produktive Zusammenarbeit, Unterstützung und Förderung, ohne die ich vielleicht nie meine Begeisterung für das wissenschaftliche Arbeiten entdeckt hätte.

Carina Knappe danke ich herzlich für die vielen Stunden an ihren Bildschirmen, den wissenschaftlich und menschlich großartigen Austausch, für die wunderbare Einarbeitung in die Welt der Statistik und insbesondere in „R“, ohne die dies wohl immer noch ein simpler Buchstabe für mich wäre.

Ein herzliches Dankeschön gilt auch PD Dr. Christian Graetz für die produktive Zusammenarbeit und zahlreiche wertvolle Ratschläge.

Ein herzlicher Dank gilt Louisa Mewes für den stets gewinnbringenden Austausch.

Vielen Dank auch Katharina Hartmann für die Anleitung, Hilfe und Geduld im Labor, sowie Kathrin Türk für die immer freundliche Unterstützung in allen Belangen.

Vielen Dank der gesamten AG Laudes für den regen wissenschaftlichen Austausch und die viele Hilfsbereitschaft.

Der herzlichste Dank gilt meinen Eltern, Marion und Dr. Christian Schulz, für die Ermöglichung des Zahnmedizinstudiums, für die Wertschätzung dieser Arbeit, meines Medizinstudiums und für ihre immerwährende Geduld und Hilfe sowie auch meinem Bruder Ansgar-Christian für seine Unterstützung.

Ein besonderer Dank gilt Malte Wagner für das Verständnis, für die unendliche Geduld und die großartige Unterstützung bei der Entstehung dieser Arbeit.

## Publikationen

### Paper:

**Schulz J**, Kreutzer C, Graetz C, Mewes L, Türk K, Black AK, Lieb W, Schaefer AS, Fawzy El-Sayed KM, Dörfer CE, Schreiber S, Laudes M and Schulte DM: „*secreted Frizzled-Related Protein 5 Serum Levels in Human Periodontitis-a nested case control study*“; Journal of Clinical Periodontology 2019, 46: 522-528;

### Wissenschaftliche Präsentationen:

„*sFRP5 – a potential biomarker for patients with chronic periodontitis?*“; 19. Annual Meeting of „Young Active Research in Endocrinology“ (YARE) in Berlin, Oktober 2017;

**Juliane Schulz**, Carina Knappe, Christian Graetz, Louisa Mewes, Kathrin Türk, Karim M. Fawzy El-Sayed, Wolfgang Lieb, Christof Dörfer, Stefan Schreiber, Matthias Laudes and Dominik M. Schulte: *Antidiabetic sFRP5 is low in patients with chronic periodontitis*, 61. Deutscher Kongress für Endokrinologie der DGE (Deutsche Gesellschaft für Endokrinologie) in Bonn, März 2018;

**Juliane Schulz**, Carina Knappe, Christian Graetz, Louisa Mewes, Kathrin Türk, Karim M. Fawzy El-Sayed, Wolfgang Lieb, Christof Dörfer, Stefan Schreiber, Dominik M. Schulte and Matthias Laudes: *sFRP5 – a potential biomarker for patients with chronic periodontitis?*; Oral Presentation, EuroPerio9, Juni 2018;

### Poster:

Carina Kreutzer, Christian Graetz, **Juliane Schulz**, Louisa Mewes, Kathrin Türk, Christof Dörfer, Stefan Schreiber, Dominik M. Schulte and Matthias Laudes: *Antidiabetic sFRP5 is downregulated in patients with periodontitis*; Diabetes Kongress der Deutschen Diabetes Gesellschaft in Hamburg, Mai 2017;

**Juliane Schulz**, Carina Kreutzer, Christian Graetz, Louisa Mewes, Kathrin Türk, Wolfgang Lieb, Christof Dörfer, Stefan Schreiber, Dominik M. Schulte und Matthias Laudes: Niedrigere sFRP5 Serumspiegel bei Patienten mit chronischer Parodontitis; Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Parodontologie in Dresden, September 2017;

**Schulz J**, Knappe C, Graetz C, Mewes L, Türk K, Black AK, Lieb W, Schaefer AS, El-Sayed KF, Dörfer CE, Schreiber S, Laudes M, Schulte DM : *Systemic secreted Frizzled-Related Protein 5 is low in Chronic Periodontitis Patients*, Internationales Cluster Symposium 2018 in Hamburg, März 2018;

Louisa Mewes, Carina Knappe, **Juliane Schulz**, Kathrin Türk, Stefan Schreiber, Christof Dörfer, Matthias Laudes, Dominik M. Schulte and Christian Graetz: *Micronutrients and Gut Microbiota contribute to Human Periodontitis*; EuroPerio9, Juni 2018;

**Schulz J**, Knappe C, Graetz C, Mewes L, Türk K, Black AK, Lieb W, Schaefer AS, El-Sayed KF, Dörfer CE, Schreiber S, Laudes M, Schulte DM: *Antidiabetic secreted Frizzled-Related Protein 5 is low in Patients with Periodontitis*, International Congress of Endocrinology, Dezember 2018