

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 des oralen Mikrobioms bei Patienten mit chronisch entzündlichen Erkrankungen unter einer zielgerichteten Anti-Zytokin Therapie

Inauguraldissertation
zur Erlangung der Doktorwürde der Medizin
der Medizinischen Fakultät
der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel

vorgelegt von
Dr. med. dent. Juliane Wagner
aus
Mainz
Kiel 2023

1. Berichterstatter: Prof. Dr. med. Dominik M. Schulte

2. Berichterstatter: Prof. Dr. rer. nat. Christoph Kaleta

Tag der mündlichen Prüfung: 10.07.2025

Zum Druck genehmigt, Kiel, den 14.03.2025

gez.: Prof. Dr. med. Dominik M. Schulte

(Vorsitzender der Prüfungskommission)

Meinem Ehemann

Inhaltsverzeichnis

ABBILDUNGSVERZEICHNIS	III
TABELLENVERZEICHNIS	II
ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS	II
I EINLEITUNG	1
I.1 DIE ENTZÜNDUNG	1
I.2 MIKROBIOM UND ENTZÜNDUNG AN DEN GRENZFLÄCHEN DES KÖRPERS	5
I.3 CHRONISCH ENTZÜNDLICHE ERKRANKUNGEN	7
I.3.1 <i>Rheumatoide Arthritis</i>	7
I.3.2 <i>Spondylitis ankylosans</i>	9
I.3.3 <i>Psoriasis</i>	10
I.3.4 <i>Chronisch entzündliche Darmerkrankungen</i>	11
I.3.5 <i>Parodontitis</i>	13
I.4 WIRKUNG VON BIOLOGICALS	15
I.4.1 <i>TNF-α Inhibitoren</i>	16
I.4.2 <i>IL-Inhibitoren</i>	18
I.4.2.1 IL-6 Antagonisten	18
I.4.2.2 IL-17 Antagonisten	19
I.4.2.3 IL-12/IL-23 Antagonisten	20
I.5 ZIEL DER ARBEIT	21
II MATERIAL UND METHODEN	22
II.1 STUDIENTYP, STUDIENPOPULATION UND STUDIENDESIGN	22
II.2 ERHEBUNG DER PARODONTALEN PARAMETER	23
II.2.1 <i>Kalibrierung der Untersucher</i>	23
II.2.2 <i>Durchführung der zahnmedizinischen Untersuchung</i>	24
II.2.3 <i>Befunderhebung und Parodontaler Status</i>	24
II.2.3.1 Untersuchung der Sulkusflüssigkeit	26
II.3 UNTERSUCHUNGSMATERIAL, PRÄANALYTISCHES MATERIAL UND VERWENDETE REAGENZIEN	27
II.4 ANALYSE DES SUBGINGIVALEN MIKROBIOMS VIA 16S rRNA-GENSEQUENZIERUNG	28
II.5 STATISTIK	30
II.5.1 <i>Analyse der relativen Abundanzen</i>	30
II.5.2 <i>Analyse der α-Diversitäten</i>	30
II.5.3 <i>Analyse der β-Diversitäten</i>	31
III ERGEBNISSE	32
III.1 CHARAKTERISIERUNG DER KOHORTE	32
III.2 ANALYSEN DES MIKROBIOMS AUF PHYLUMEBENE	34
III.2.1 <i>Das Core Measurable Microbiome</i>	34
III.2.2 <i>Relative Abundanzen</i>	35

<i>III.2.3 Firmicutes und Bacteroidetes</i>	38
III.3 DIVERSITÄTEN	40
<i>III.3.1 α-Diversitäten</i>	40
III.3.1.1 Veränderte α-Diversitäten in den tiefsten parodontalen Taschen der Probanden nach Beginn der Anti-Zytokin-Therapie	40
<i>III.3.2 β-Diversitäten</i>	44
III.3.2.1 Veränderung der β-Diversität der parodontalen Taschen nach Beginn der Anti-Zytokin Therapie	44
III.3.2.2 Unterschiedliche β-Diversität der klinisch gesunden und tiefsten parodontalen Taschen	46
IV DISKUSSION	50
IV.1 VERÄNDERUNGEN DER MIKROBIELLEN ZUSAMMENSETZUNG UND DER DIVERSITÄTEN UNTER EINER SPEZIFISCHEN ANTI-ZYTOKIN THERAPIE	50
IV.2 KRITIK AN DER METHODIK	52
IV.3 FAZIT	55
V ZUSAMMENFASSUNG	56
VI ANHANG	57
VII LITERATURVERZEICHNIS	61

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Vereinfachte Darstellung der Verbindung inflammatorischer Erkrankungen durch NF- κ B und verschiedene Entzündungsmediatoren	4
Abbildung 2: Aufbau der BFU-ParoSubkohorte	23
Abbildung 3: Strukturierte Befunderhebung in der Studie	25
Abbildung 4: a) Boxplot des Kernmikrobioms (CMM) b) Histogramm der Frequenz des CMM	35
Abbildung 5: Relative Abundanzen a) aller subgingivalen Taschen bei beiden Untersuchungszeitpunkten zusammengenommen und b) aller subgingivalen Taschen bei der ersten und der zweiten Untersuchung	37
Abbildung 6: relative Abundanzen der a) klinischen gesunden und b) tiefsten Taschen jeweils bei der ersten und zweiten Untersuchung.	38
Abbildung 7: α -Diversitäten als a) Species richness, b) Shannon Index und c) Chao1 Index	40
Abbildung 8: Shannon Index (Spaghetti-Plots) der Probanden für die erste und zweite Untersuchung für a) die klinisch gesunden Taschen und b) die tiefsten gemessenen Taschen	42
Abbildung 9: a)Species Richness, b) Shannon Index und c) Chao1 Index aller Probanden mit Anti-TNF- α Therapie	43
Abbildung 10: a) Species Richness, b) Shannon Index und c) Chao1 Index aller Probanden mit verschiedenen IL-Antagonisten	44
Abbildung 11: Principal Coordinates Analysis a) der Bray-Curtis-Indizes und b) des Jaccard Index für alle Taschen	45
Abbildung 12: Principal Coordinates Analysis a) der Bray-Curtis-Indizes und b) des Jaccard Index für die Proben aus den klinisch gesunden Taschen.	45
Abbildung 13: Principal Coordinates Analysis a) der Bray-Curtis-Indizes und b) des Jaccard Index für die Proben aus den klinisch tiefsten, gemessenen Taschen	46
Abbildung 14: Principal Coordinates Analysis der Bray-Curtis Indizes für die klinisch gesunden parodontalen Taschen die tiefsten gemessenen Taschen der Probanden, sowie die zusätzlich entnommenen Proben.	46
Abbildung 15: Principal Coordinates Analysis der Bray-Curtis-Indizes für die klinisch gesunden parodontalen Taschen und die tiefsten gemessenen Taschen a)vor Beginn der Anti-Zytokin Therapie und b) 14 Wochen nach Beginn der Anti-Zytokin-Therapie.	47
Abbildung 16: Darstellung der β -Diversität (Bray-Curtis)	47f
Abbildung 17: Darstellung der β -Diversität (Bray-Curtis) aufgeteilt in die auftretenden Phyla.	48
Abbildung 18: Principal Coordinates Analysis des Jaccard-Index an beiden Untersuchungszeitpunkten	49
Abbildung 19: Principal Coordinates Analysis des Jaccard-Index a) vor und b) nach Beginn der Anti-Zytokin Therapie.	50
Abbildung 20: Befundbogen und Legende	57
Abbildung 21: Fragebogen der BFU-ParoSubkohorte	58-60

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Charakterisierung der Kohorte	33
Tabelle 2: Firmicutes und Bacteroidetes: Vergleich der Untersuchungszeitpunkte	39

Abkürzungsverzeichnis

AGE	Advanced Glycation Endproducts
ADAM 17	A Disintegrin And Metalloproteinase Domain 17
ANA	antinukleärer Antikörper
AV	Attachmentverlust
BFU	Biological Follow-up
BOP	Bleeding on Probing Index
CAL	Clinical Attachment Level
(c)AMP	(zyklisches) Adenosinmonophosphat
CCIM	Comprehensive Centre for Inflammation Medicine
CED	Chronisch entzündliche Darmerkrankung
CID	Chronic Inflammatory Disease
CMM	Core Measurable Microbiome
CTLA-4	Cytotoxic T-Lymphocyte Antigen 4
CXCL8	Chemokin (CXC-motif) Ligand 8 oder IL-8
DMARD	Disease-Modifying Anti-Rheumatic Drug
DMFT-Index	Decayed Missed Filled Teeth-Index
IL	Interleukin
INF	Interferon
LAD1	Leukocyte Adhesion Deficiency type 1
NF-κB	Nuclear Factor 'kappa-light-chain-enhancer' of activated B-cells
OTUs	Operational Taxonomic Units
PBS	Phosphate Buffered Saline
PDE	Phosphodiesterase
PKA	Protein kinase A
RAGE	AGE-Rezeptor
RANK(L)	Receptor Activator of NF-κB (-Ligand)
TGF- β	Transforming Growth Factor β
T _H 1/2/17-Zelle	Typ1/2/17-T-Helferzelle
TNF-α	Tumor Necrosis Factor α

I Einleitung

I.1 Die Entzündung

Unter einer Entzündung wird eine Immunantwort des Körpers auf potenziell schädliche Noxen verstanden (Murphy et al. 2012, S. 10–11).

Klassischerweise kann das Immunsystem des Menschen dabei in ein angeborenes, schnelles und ein erworbene, spezifisches Immunsystem unterteilt werden. Zeichen der klassischen Entzündung mit calor, rubor, dolor, tumor und functio laesa (Larsen und Henson 1983) sind als Ausdruck einer ablaufenden Immunantwort des Körpers auf Noxen zu werten, mit dem Ziel einer Wiederherstellung der Integrität des verletzten Gewebes. Die Funktionsweise des angeborenen Immunsystems beruht dabei zum einen auf natürlichen Barrieren und zum anderen auf der Rekrutierung von Entzündungszellen, wie neutrophilen Granulozyten und der Aktivierung von Monozyten und Makrophagen. Außerdem kann es bei Bedarf zur Aktivierung des Komplement-Systems, zur Freisetzung von Akute-Phase Proteinen und verschiedenen Mediatoren und Zytokinen führen. Das erworbene, adaptive Immunsystem führt bei Anwesenheit eines Antigens zum Priming sowie zur Aktivierung und Differenzierung der T- oder B-Zelle. Anschließend kann dann die spezifische Reaktion auf das Antigen stattfinden, entweder durch aktivierte T-Zellen oder über die Freisetzung von Antikörpern aus aktivierte B-Zellen, also Plasmazellen (Parkin und Cohen 2001). Abschließend tritt die Heilung ein (Singer und Clark 1999). Nichtsdestotrotz sind die Langzeitfolgen einer andauernden, chronischen Entzündung nicht vorteilhaft, sondern können vielmehr zu einer dauerhaften Gewebeschädigung (Slonczewski 2012, S. 1023) und schließlich einem verfrühten Tod führen (Hotamisligil 2006).

Medzhitov stellte 2008 ein Modell aus Ursachen, physiologischen und pathologischen Folgen der Inflammation vor (Medzhitov 2008). Potenziell schädliche Noxen können so klassischerweise Infektionen mit Organismen darstellen, die zu einer Entzündung führen und so in einer akuten Immunabwehr mit dem Ziel der Elimination des Eindringlings mündet. Dies kann jedoch, insbesondere bei Chronifizierung, zum entzündlichen Schaden der beteiligten Gewebe bis hin zur Sepsis führen. Auch die Entwicklung einer Autoimmunität ist so möglich.

Zudem können direkte Schäden der Gewebe zur Inflammation führen, hier mit dem Ziel eine Geweberegeneration zu erwirken. Hier ist in der pathologischen Konsequenz eine Fibrosierung sowie Metaplasie oder sogar Tumorwachstum möglich. Eine weitere Möglichkeit ist die Entwicklung einer Entzündung aufgrund von Gewebestress und -fehlfunktionen. Hier ist die Wiederherstellung der Gewebs-Homöostase als Ziel anzusehen. Auch hier kann die Entzündung zu pathologischen Konsequenzen führen und verschiedenen auch autoinflammatorischen Erkrankungen führen (Medzhitov 2008). Wird dieser Stress durch eine Überangebot an Nahrung beziehungsweise Übergewicht versucht wird er auch als Metaflammation (Gregor und Hotamisligil 2011).

Ein klassisches Modell zur Untersuchung des Immunsystems stellt die Fruchtfliege *Drosophila melanogaster* dar. An ihr konnte gezeigt werden, dass viele Schlüsselsignale und Regulatoren evolutionär hoch konserviert sind (Johnston und Nüsslein-Volhard 1992; Lemaitre und Hoffmann 2007; Padmanabha und Baker 2014). Zudem sind viele Organsysteme der Fliegen homolog zu denen von Vertebraten und können so der Untersuchung der Interaktion von Mikrobiom und dem Immunsystem an Grenzflächen, wie dem Darm, dienen (Buchon et al. 2014). Anhand des sogenannten Fettkörpers der *Drosophila melanogaster* zeigt sich außerdem die enge Verknüpfung immunologischer und metabolischer Funktionen (Hotamisligil 2017). So bildet er eine funktionelle Einheit, bestehend aus Homologen der Leber, des hämatopoetischen Systems und schließlich des Immunsystems und des Fettgewebes und zeigt so eindrücklich die funktionelle und strukturelle Nähe der Systeme auf (Hotamisligil 2006).

Dies erklärt auch, dass in der Vergangenheit viele verbindende Assoziationen bei Erkrankungen der Systeme aufgezeigt werden konnten. Konkret werden je nach Entität verschiedene pathogenetische Zusammenhänge diskutiert. Diese reichen von der Anwesenheit glykosylierter Stoffwechselprodukte, sogenannter AGEs (Advanced Glycation Endproducts) (Preshaw et al. 2012; Nonaka et al. 2018; Detzen et al. 2019), dem Vorliegen verschiedenster systemischer Zytokine (Brasier 2010; Meyle und Chapple 2015), wie Interleukin (IL)-6 (Brasier 2010; Nonaka et al. 2018), TNF- α (Tumor necrosis factor α) (Kriegler et al. 1988; Moss et al. 1997) und IL-1 β sowie Chemokinen, wie CXCL8, auch die Aktivierung der IL-23/IL-17-Achse (Mukaida et al. 1994; Takahashi et al. 2011) und ein Ungleichgewicht parainflammatorischer Moleküle (Nishita et al.

2010; Maekawa et al. 2017; Schulz J et al. 2019), sowie Veränderungen des oralen Mikrobioms (Preshaw et al. 2012; Meyle und Chapple 2015).

Hochprävalente Beispiele für diese chronisch entzündliche Erkrankungen (englisch: Chronic Inflammatory Disease, CID) sind zum einen die klassisch entzündlichen Erkrankungen, wie die chronisch entzündlichen Darmerkrankungen (CED), Morbus Crohn und Colitis ulcerosa (Zhang und Li 2014; Kim und Cheon 2017), sowie die rheumatoide Arthritis (Scott et al. 2010) und die Psoriasis und Psoriasis Arthritis (Coates et al. 2016). Zudem wurde in den letzten Jahren immer deutlicher, dass auch andere systemische Erkrankungen zu den entzündlichen Erkrankungen gezählt werden sollten. Dazu gehören die Atherosklerose und damit die kardiovaskuläre Inflammation (Ross 1999) sowie die klassische metabolische Entzündung, also der Diabetes und die Vorstufen (Hotamisligil 2006; Hotamisligil 2017). Ihnen allen ist gemein, dass sie unter anderem mit der Parodontitis assoziiert sind (Preshaw et al. 2012; Araújo et al. 2015; Christophers 2017; Papageorgiou et al. 2017; Potempa et al. 2017; Slots 2017; Ungprasert et al. 2017).

Durch entzündliche Stimuli wird zumeist NF-κB aktiviert. Wie aber die Signalkaskaden angestoßen werden, was es für initierende Stimuli gibt oder wie der Schalter umgelegt wird und es zu einer inflammatorischen Kondition kommt, ist Gegenstand aktueller Forschung. Verschiedene Trigger werden diskutiert, dazu zählen die Gewebsverletzung oder chronische Infektionen. Allerdings wird es immer deutlicher, dass die Interaktion mit dem Mikrobiom der Grenzflächen eine wichtige, wenn auch noch nicht gänzlich geklärte Rolle zu spielen scheint (Buchon et al. 2014) und ist in Abbildung 1 visualisiert.

Die Aktivierung von NF-κB führt in der Folge vornehmlich zur Produktion von IL-6 und TNF-α. Dies erfolgt zum Beispiel im Rahmen der vaskulären Entzündung (Brasier 2010). Durch Freisetzung einer transmembranen TNF-α-Vorstufe durch TACE (TNF-α converting enzyme), welche auch als ADAM17 (A Disintegrin And Metalloproteinase Domain 17) bezeichnet wird (Kriegler et al. 1988; Moss et al. 1997). Der kanonische Weg der Aktivierung von NF-κB wird durch Bindung von TNFα an TNFR (TNF-α-Rezeptor) angestoßen. Bindung von RANKL (Receptor Activator of NF-κB-Ligand) und RANK (Receptor Activator of NF-κB) kann sowohl zur Initiierung des kanonischen als auch des nicht kanonischen Signalwegs führen. Die Bindung des Vasopressors Angiotensin II (Ang II) an seinen Rezeptor AT1A (Typ 1 Angiotensin Rezeptor) führt

zur Aktivierung eines in den kanonischen Signalweg mündenden pathway (Han Youqi et al. 1999). Auch die Bindung von Wnt5a an seinen Rezeptor Frizzled (Fz) und Korezeptor ROR 1/2 führt über Aktivierung des nicht-kanonischen Signalwegs zur Aktivierung von NF-κB (Nishita et al. 2010). Bindung von AGEs (advanced glycation endproducts) an den Rezeptor RAGE führt über Aktivierung von NF-κB ebenfalls zur Produktion von IL-6 (Nonaka et al. 2018). Auch die Bindung an eine lösliche Form des RAGE (sRAGE) führt zu ähnlichen Effekten (Preshaw et al. 2012; Detzen et al. 2019). In humanen Gingivaepithelzellen führt die Stimulation mit IL-17A außerdem zur Produktion von IL-1 β , IL-6 und TNF α sowie zur Produktion des Chemokins CXCL8 (Takahashi et al. 2011). Die Phosphodiesterase 4 (PDE4) baut zirkuläres Adenosinmonophosphat (cAMP) zu AMP ab und verhindert so die Aktivierung der Proteinkinase A (PKA) die wiederum die Aktivierung von NF-κB verringert (Li et al. 2018).

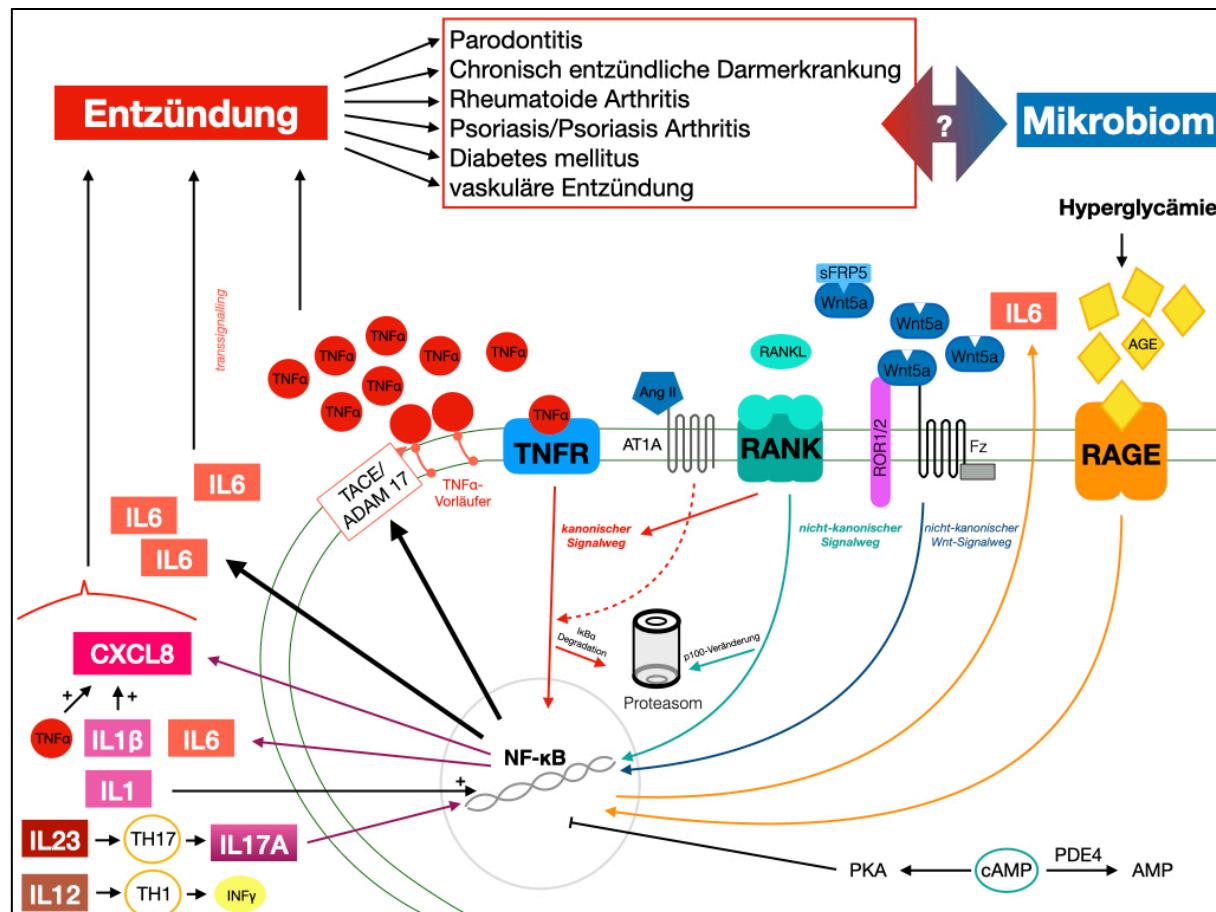


Abbildung 1: Vereinfachte Darstellung der Verbindung inflammatorischer Erkrankungen durch NF-κB und verschiedene Entzündungsmediatoren; modifiziert nach Mukaida et al. 1994, Kriegler et al. 1996, Moss et al. 1997, Brasier et al. 2010, Takahashi et al. 2011, Nishita et al. 2010, Boyce et al. 2015, Meyle und Chapple 2015, Rose-John et al. 2017, Nonaka et al. 2018, Schulz, Knappe, Graetz et al. 2019.

I.2 Mikrobiom und Entzündung an den Grenzflächen des Körpers

Der Mensch ist ständig äußeren Einflüssen ausgesetzt und lebt mit einer Vielzahl von Kleinstorganismen in einer Symbiose (Savage 1977; Whitman et al. 1998). Die Rolle dieser Organismen bei der Aufrechterhaltung von Gesundheit sowie der Entstehung von Krankheiten wurde jedoch lange unterschätzt (Cong und Zhang 2018; Gilbert et al. 2018). Ob sie eine Erkrankung auslösen, hängt zum einen von der Pathogenität des Organismus und zum anderen von der Fähigkeit des menschlichen Immunsystems ab, adäquat auf diese zu reagieren (Parkin und Cohen 2001). Dass mikrobielle bzw. bakterielle Infektionen eine akute Immunantwort auslösen können ist dabei schon lange bekannt und wahrscheinlich die am besten charakterisierte Form der Immunantwort (Medzhitov 2008). Da das Immunsystem ein im höchsten Maße ausbalanciertes System ist, welches bei Fehlaktivitäten seiner pro- und/oder anti-inflammatorischen Mediatoren zur Entwicklung schwerer Erkrankungen führen kann (Palladino et al. 2003), wird zunehmend der Einfluss der Umwelt auf die von Bakterien besiedelten Grenzflächen des Körpers, wie das Mikrobiom der Haut (Baurecht et al. 2018), das Darmmikrobiom (Clemente et al. 2018) und das orale Mikrobiom (Lamont et al. 2018) diskutiert. Hierbei scheint ein enger Zusammenhang zwischen dem besiedelnden Mikrobiom und der Immunantwort des Wirts zu bestehen (Honda und Littman 2016).

In einem 2016 im *Nature* veröffentlichten Review beschreiben Thaiss et al. ausführlich Zusammenhänge zwischen der Nahrungsaufnahme, dem Mikrobiom der Grenzflächen und dem angeborenen Immunsystem. Bereits scheinbar geringfügige Veränderungen in einzelnen Bestandteilen haben danach weitreichende Auswirkungen auf die jeweils anderen Systeme und können metabolische, neoplastische und autoimmune sowie autoinflammatorische Veränderungen bedingen (Thaiss et al. 2016).

Ein prominentes und gut untersuchtes Beispiel hierfür ist die Zusammensetzung des Darmmikobioms. Die beiden hauptsächlich im gesunden Darm vorkommenden Phyla sind die Bacteroidetes und die Firmicutes (Strober et al. 2002). Wiederholte Untersuchungen konnten gezeigt werden, dass Übergewicht mit einer Verringerung der Bacteroidetes, beziehungsweise einer höheren Ratio aus Firmicutes/Bacteroidetes (Ley et al. 2005; Ley et al. 2006; Turnbaugh et al. 2009), und einer

geringeren Diversität (Turnbaugh et al. 2009; Cotillard et al. 2013) im Vergleich zu gesunden, schlanken Probanden assoziiert ist. Auch bestehen bereits human-therapeutische Ansätze die sich das Wissen über diesen Zusammenhang von Mikrobiom und Stoffwechsel zu nutzen machen. So konnte in der Vergangenheit gezeigt werden, dass sowohl eine Gewichtsreduktion (Ley et al. 2006; Heinsen et al. 2016) als auch die gezielte Applikation von Niacin im Ileokolon zu einer erhöhten Abundanz von Bacteroidetes und einer Verbesserung von Parametern der metabolischen Entzündung führt (Fangmann et al. 2018).

Auch für den Typ 1 Diabetes mellitus ist ähnliches bekannt. In Studien konnte so gezeigt werden, dass Veränderungen des Darmmikrobioms im Kindesalter, wie eine geringere α -Diversität und Veränderungen der bakteriellen Zusammensetzung, mit dem Auftreten von Typ 1 Diabetes mellitus assoziiert sind (Kostic et al. 2015). In einem Mausmodell für den Typ 1 Diabetes mellitus, konnte zudem nach einer Stuhltransplantation die Ausprägung des Diabetes verringert werden (Wen et al. 2008).

Zudem konnte ein starker Zusammenhang zwischen dem Auftreten von intestinalen Prevotella copri und einer klassischen autoimmunen Erkrankung, nämlich der rheumatoïden Arthritis, gezeigt werden. So scheinen hohe Abundanzen von Prevotella copri zu einer Verringerung der Bacteroides zu führen und die Entwicklung der rheumatoïden Arthritis so zu begünstigen und außerdem zur Entwicklung einer Colitis beizutragen. Diese Beobachtungen legen ebenfalls eine autoinflammatorische Komponente dieser vornehmlichen autoimmunen Erkrankung dar (Scher et al. 2013). Konkret ist denkbar, dass die Dysbiose des Darmmikrobioms zu einer Aktivierung der Wirtsabwehr führt und so wiederum zu einer peripheren Aktivierung von B-Zellen und damit zur Produktion von Antikörpern führt (Cho und Blaser 2012).

Insgesamt stellt die Darmwand eine wichtige, schützende Barriere dar und beinhaltet zudem metabolische Funktionen und eine große immunologische Kompetenz (O'Hara und Shanahan 2006). Die genauen Zusammenhänge und die schützende Toleranz gegenüber Veränderungen sowie ihr Verlust sind Gegenstand aktueller Forschung.

Aber nicht nur der Darm stellt eine Schnittstelle des Körpers zur Außenwelt dar. Veränderungen der Zusammensetzung der Phyla konnten so in verschiedenen krankhaften Veränderungen der Haut (Cho und Blaser 2012; Johnson et al. 2018), des Magens (Camilo et al. 2017), der Lunge (Moffatt und Cookson 2017) und auch des oralen Mikrobioms festgestellt werden (Teles et al.

2013; Hajishengallis 2014). Auch die Entwicklung maligner Erkrankungen steht damit im Zusammenhang (Francescone et al. 2014).

I.3 Chronisch entzündliche Erkrankungen

Im Folgenden werden die für diese Dissertation relevanten Erkrankungen und eingesetzten Therapeutika näher charakterisiert.

I.3.1 Rheumatoide Arthritis

Die rheumatoide Arthritis ist eine chronisch entzündliche Erkrankung weitgehend unbekannter Genese. Sie hat eine Prävalenz von etwa 1% und beginnt meist um das 40. Lebensjahr. Frauen sind insgesamt häufiger betroffen als Männer (Hense et al. 2016).

Bei der Entstehung der rheumatoiden Arthritis führen verschiedene Umwelt-Gen-Wechselwirkung zu einem Verlust der Toleranz gegenüber citrullinierten Proteinen, also einer autoimmunen Reaktion. Diskutierte umweltbedingte Faktoren sind, das Rauchen, Veränderungen des Darmmikrobioms und eine Parodontitis (McInnes und Schett 2011). Anschließend kommt es zu einer Aktivierung von T-Lymphozyten. Hier wird sowohl eine Rolle der Typ1-T-Helferzellen ($T_{H}1$ -Zellen) als auch der Typ17-T-Helferzellen ($T_{H}17$ -Zellen) als Mediatoren diskutiert (Chabaud et al. 1998; Miossec et al. 2009).

Im weiteren, meist schubartigen Verlauf entwickeln sich dann entzündliche Gelenkergüsse und es kommt zur Destruktion des Knorpels und Knochens, was sich in schmerzhaften Gelenken in Ruhe, häufig auch beidseits, kleinisch manifestiert (van der Heijde 1995). Dabei können pathognomonische Veränderungen der Finger (insbesondere an den Finger- aber auch Zehengrund- und -mittelgelenken) auftreten, die als Knopflochdeformität oder Schwanenhalsdeformität bezeichnet werden (Rehart et al. 2005). Typisches klinisches Zeichen ist auch das sogenannte Gaenslen-Zeichen, ein Kompressionsschmerz der Hand bei Händedruck. Häufig kommt es zu begleitenden Allgemeinsymptomen, wie nächtlichem Schwitzen und Myalgie sowie zur Bildung ebenfalls schmerzhafter Knoten in der Subkutis, den sogenannten Rheumaknoten (Firestein 2003). Die rheumatoide Arthritis wird entsprechend der ACR/EULAR-Klassifikationskriterien von 2010 eingeteilt (Kay und Upchurch 2012).

Als häufig veränderter spezifischer Laborwert ist, neben der unspezifischen Erhöhung von Entzündungsparametern, der Anti-CCP-Antikörper, welcher gegen cyclisches citrulliniertes Peptid gerichtet ist, zu nennen (Waaler 1939; Vincent et al. 1999; Rycke et al. 2004). In etwa einem Drittel der Fälle sind außerdem die antinukleäre Antikörper (ANAs) im Serum erhöht (Biesen et al. 2014).

Die Therapie der rheumatoiden Arthritis umfasst sowohl physikalische Maßnahmen wie die Anwendung von Kälte, als auch die medikamentöse Therapie. Hier kommen in der akuten Situation vor allem Glucocortikoide (systemisch und lokal) zum Einsatz. Die langfristige Therapie wird zumeist mit Disease-Modifying Anti-Rheumatic Drugs (DMARD) durchgeführt. Dazu gehören Methotrexat, sowie auch Leflunomid oder Sulfasalazin, die sowohl bei Kontraindikationen gegen Methotrexat sowie als Reservemittel eingesetzt werden (Fiehn et al. 2018). Zudem werden gehäuft rekombinant hergestellte Therapeutika, die Biologicals eingesetzt. Hier stehen vor allem TNF- α -Antagonisten, wie Adalimumab, Infliximab und Etanercept zur Verfügung. Auch Rituximab, IL-1-Rezeptorantagonisten (Anakinra) und Inhibitoren der Janus-Kinase werden verwendet (Burmester und Pope 2017). Auch interventionelle Verfahren kommen in der Therapie zum Einsatz (Gratz et al. 1999).

Verschiedene Komorbiditäten sind beschrieben. So entwickeln diese Patienten häufiger ein metabolisches Syndrom und Osteoporose. Zudem ist das Risiko für kardiovaskuläre Ereignisse bei diesen Patienten massiv erhöht (McInnes und Schett 2011).

Verschiedene Ansätze, die die Assoziation parodontaler Erkrankungen und der rheumatoiden Arthritis, erklären könnten, sind vorbeschrieben (Ceccarelli et al. 2019). Einer der auffälligsten Links ist der parodontopathogene Keim *Porphyromonas gingivalis*, der über die Produktion einer Peptidylarginin-Desaminase, Proteine direkt citrullinieren kann (Wegner et al. 2010). Aber auch Zytokinen wie TNF- α scheint eine wichtige Rolle zuzukommen (Thilagar et al. 2018). Außerdem wird eine mechanistische Verbindung von T_H17-Zellen und der IL-23/IL-17-Achse vermutet (Pablo et al. 2008; Gümüş et al. 2013). Auch gemeinsame genetische Risikogene wurden bereits identifiziert (Schulz S et al. 2019).

I.3.2 Spondylitis ankylosans (Morbus Bechterew)

Die Spondylitis ankylosans ist eine chronisch-entzündlich Erkrankung der Wirbel- und Iliosakralgelenke (Braun und Sieper 2007). Die Prävalenz in Deutschland liegt bei etwa 0,5% (Braun et al. 1998). Männer und Frauen scheinen etwa gleich häufig betroffen zu sein wie Frauen, wobei die Erkrankung bei Frauen meist seltener und später erkannt wird (Van Linden et al. 1984; Feldtkeller et al. 2003). Es liegt eine genetische Prädisposition vor, etwa 95% der Betroffenen sind HLA-B27 positiv (Braun und Sieper 2007).

Bei der ankylosierenden Spondylitis kann die chronische Arthritis der Wirbel- und Iliosakralgelenke zur Ankylose der Wirbelsäule führen. Auch weitere Gelenke können von der schmerhaften Entzündung betroffen sein. Extraartikuläre Manifestationen können das Auge (Uveitis anterior), den Magen-Darm-Trakt, in bis zu 10% der Fälle als chronisch entzündliche Darmerkrankung, sowie andere Organsysteme betreffen (Rudwaleit et al. 2009a; Rudwaleit et al. 2009b).

Die Diagnostik erfolgt mit Hilfe der klinischen Untersuchung auf Druck- und Kompressionsschmerz der Iliosakralgelenke (Mennell-Zeichen) sowie von Beweglichkeitsmaßen der Wirbelsäule, wie dem Ott- und Schober-Maß. Zur Diagnosestellung werden zudem bildgebende Verfahren, und hier vor allem die Magnetresonanztomographie, eingesetzt. Das konventionelle Röntgen dient vor allem der Darstellung knöcherner Strukturdefekt. Auf das konventionelle Röntgen ist die Bezeichnung „Bambusstab-Wirbelsäule“ für die zunehmend verknöcherte Wirbelsäule zurückzuführen. Im Blut kann sich außerdem eine unspezifische Erhöhung von Entzündungsmarkern zeigen. Zudem ist die Testung auf das Antigen HLA-B27 sehr sensitiv, wenn auch wenig prädiktiv (Klitz et al. 2019).

Die Therapie des Morbus Bechterew beinhaltet stets die Krankgymnastik sowie die symptomatische Einnahme von Nicht-steroidalen Antirheumatischen. Auch die Gabe von Sulfasalazin sowie Glucocorticoiden ist häufig wirksam. Es können zudem TNF- α -Antagonisten und Secukinumab als Anti-IL17-Therapie eingesetzt werden (Klitz et al. 2019).

Die Hauptkomorbiditäten des Morbus Bechterew sind das Auftreten von einer Osteoporose, gastrointestinalen Ulzerationen sowie kardiovaskulären Erkrankungen (Moltó et al. 2016).

Zudem liegen viele Studien dafür vor, dass eine Verbindung von parodontalen Entzündungen mit der Spondylitis ankylosans besteht (Ratz et al. 2015). So konnte unter anderem gezeigt, werden, dass Antikörper von Porphyromonas gingivalis und Prevotella intermedia im Serum von Probanden mit einem Morbus Bechterew höher waren als bei gesunden Kontrollen (Öğrendik 2017). Eine weitere Studie konnte sogar zeigen, dass bei Probanden mit einer Spondylitis ankylosans signifikante Verbesserungen der Sondierungstiefe sowie des Clinical Attachment Level (CAL) nach Beginn einer Therapie mit TNF- α -Inhibitoren vorlagen. Bei Probanden mit einer rheumatoide Arthritis und Anti-TNF- α -Therapie zeigten sich hingegen keine Veränderungen der parodontalen Parameter (Fabri et al. 2015).

1.3.3 Psoriasis

Die Psoriasis ist eine chronisch entzündliche Erkrankung der Haut. Sie tritt bei bis zu 2% der Nordeuropäer auf und zeigt eine äquivalente Geschlechterverteilung. Sie wird hierzulande auch als Plaque-Psoriasis oder Schuppenflechte bezeichnet und kann in verschiedene Subtypen unterteilt werden. Dazu zählen die inverse Psoriasis, die Psoriasis guttata, die Psoriasis pustulosa und der häufigste Subtyp, die Psoriasis vulgaris (Rendon und Schäkel 2019).

Der genaue Ablauf der vermutlich autoimmunen Reaktion ist unklar. Jedoch scheinen Keratinozyten zu einer abnormalen Aktivierung von T-Lymphozyten beitragen. Sie sezernieren Zytokine wie TNF- α , Interferon (INF)- γ , IL-1 β und IL-6 und aktivieren so dendritische Zellen. Diese sezernieren IL-12, was zur Differenzierung von T_H1-Zellen führt, sowie IL-23, welches wiederum in der Differenzierung von T_H17-Zellen mündet. Diese speziellen T_H17-Lymphozyten können IL-17 und IL-22 sezernieren (Nestle et al. 2009). Dieser Prozess wird auch als (TNF- α)-IL-23/IL-17-Achse bezeichnet (Boutet et al. 2018). T_H1-Zellen sezernieren wiederum vorwiegend proinflammatorische Zytokine wie TNF- α und INF- γ . Dadurch werden wiederum Keratinozyten aktiviert und die Produktion antimikrobieller Peptide, wie LL-37, Cathelicidin und β -Defensin, aber auch proinflammatorischer Zytokine und Chemokine, sowie sogenannter S100-Proteine, initiiert. Dieser beschriebene Teufelskreis, der Reaktion des erworbenen Immunsystems und des angeborenen Immunsystems, führt letztlich zum entzündlichen Infiltrat der psoriatischen Läsionen (Nestle et al. 2009).

Neben den typischen, teilweise stark juckenden Hauterscheinungen kann es bei bis zu der Hälfte der Patienten außerdem zu destruierenden Gelenkentzündungen kommen. Diese werden als Psoriasis-Arthritis bezeichnet (Rendon und Schäkel 2019). Unklar ist, ob es sich dabei um eine eigenständige Entität handelt (Sakkas und Bogdanos 2017).

Bei der Therapie kommen je nach Schweregrad verschiedene topische Therapeutika, wie Kortikoide, Teer oder Vitamin D, als auch systemische Therapien zum Einsatz. Die systemische Therapie beinhaltet die Phototherapie, wie auch die Gabe von Acitretin, Ciclosporin, Fumarsäureestern und Metotrexat. Außerdem werden bei Therapieversagen, Unverträglichkeiten oder Kontraindikationen spezifische Biologika wie Apremilast, Etanercept, Infliximab, Ustekinumab sowie Adalimumab und Secukinumab gegeben, die auch bereits frühzeitig verordnet werden können, wenn die First-Line-Therapie keinen ausreichenden Therapieerfolg erwarten lässt (Nast et al. 2011).

Verschiedene Erkrankungen sind mit der Psoriasis assoziiert. Dazu gehören der Morbus Crohn und Typ 2 Diabetes. Einen Erklärungsansatz für diese Assoziation liefern Varianten im Genom, wie eine Variante des CDKLA1-Gens, die mit allen drei Entitäten vergesellschaftet ist (Wolf et al. 2008). Zudem ist bekannt, dass Parodontitis-Patienten signifikant häufiger an einer Psoriasis leiden (Christophers 2017; Ungprasert et al. 2017; Woeste et al. 2019). Interessanterweise ist eine Beteiligung der IL-23/IL-17-Achse an der Parodontitis hier ebenfalls vorbeschrieben und wird als Bindeglied der Parodontitis mit anderen entzündlichen Erkrankungen, wie eben der Psoriasis, aber auch der rheumatoïden Arthritis und chronisch entzündlichen Darmerkrankungen diskutiert (Bunte und Beikler 2019).

I.3.4 Chronisch entzündliche Darmerkrankungen

Die beiden häufigsten Vertreter der chronisch entzündlichen Darmerkrankungen sind die Colitis ulcerosa und der Morbus Crohn. Beide Erkrankungen treten zumeist im jüngeren Erwachsenenalter auf. Für die Colitis ulcerosa wird dabei in Europa eine Prävalenz von 1/200 und beim Morbus Crohn von etwa 1/300 auf angenommen (Molodecky et al. 2012).

Die genetische Prädisposition scheint insbesondere bei der Entstehung des Morbus Crohn, eine große Rolle zu spielen. Hier wurden in der Vergangenheit eine Vielzahl an Risikogenen identifiziert. Gesichert scheint dabei der Einfluss einer Frameshift-Mutation im NOD2-Gen zu

sein. Bei Mutation dieses Gens, kann keine suffiziente Aktivierung von NF-κB (nuclear factor 'kappa-light-chain-enhancer' of activated B-cells) vonstattengehen, wodurch der Wirtsorganismus weniger widerstandsfähig gegen mikrobielle Lipopolysacharide wird (Hugot et al. 2001; Ogura et al. 2001). Interessanterweise wurde ein ähnlicher Mechanismus für den parodontalpathogenen Keim *Porphyromonas gingivalis* beschrieben. Zhou et al. beschreiben so, dass *Porphyromonas gingivalis* die Proliferationsfähigkeit gingivaler Stammzellen via NF-κB beeinflusst (Zhou L et al. 2017). Für die meisten anderen identifizierten Risikogene, wurde gezeigt, dass sie eine Rolle bei der Interaktion mit dem Darmmikrobiom zu spielen scheinen (Jostins et al. 2012) und einen variablen Einfluss auf die Entstehung der chronisch entzündlichen Darmerkrankungen haben (Lees et al. 2011). Aber auch verschiedenste Veränderungen der IL-23/IL-17-Achse werden für die Entstehung beider Entitäten diskutiert (Lees et al. 2011). Außerdem gewinnen komplexe Multi-Omics-Analysen immer mehr an Bedeutung und können bereits vielfältige Veränderungen, der Darmmikrobiota, des Genoms, Transkriptoms und Metaboloms des Stuhls und des Serums bei Probanden mit erhöhter Aktivität der chronisch entzündlichen Darmerkrankung beschreiben (Lloyd-Price et al. 2019). Auch verschiedene Umweltfaktoren werden bezüglich der Pathogenese diskutiert (Gearry 2016; Wehkamp et al. 2016). Dazu gehören der Nikotinkonsum - dieser scheint unter bestimmten Voraussetzungen eher protektiv für die Entwicklung einer Colitis ulcerosa zu sein, aber gilt als Risikofaktor für die Entstehung eines Morbus Crohn - sowie Antibiotikatherapien in der Kindheit, die zu einer Dysbiose des Darmmikrobioms führen können (Frolkis et al. 2013).

Die Therapie der chronisch entzündlichen Darmerkrankungen umfasst sowohl für die Colitis ulcerosa als auch den Morbus Crohn eine eskalierende Stufentherapie. Es werden grundsätzlich die Remissionsinduktion und der Remissionserhalt unterschieden (Wehkamp et al. 2016). Laut der aktuellen S3-Leitlinie aus dem August 2019, richtet sich die Remissionsinduktion der Colitis ulcerosa nach der Schwere der Aktivität im Schub und umfasst die Gabe von Mesalazin (topisch und oral), sowie Gabe von Steroiden (topisch und systemisch). Es wird stets ein Steroid-freier Remissionserhalt angestrebt. Es kommen 5-Aminosalizylate als orale oder rektale Monotherapie oder als Kombination zum Einsatz. Bei schweren, steroid-refraktären Formen der Colitis ulcerosa kommen TNF-α-Antikörper, wie Infliximab, und außerdem Tofacitinib, ein Inhibitor der Januskinase 1 und 3, und die Calcineurininhibitoren Ciclosporin A und Tacrolimus

zum Einsatz. Außerdem wird unter gewissen Voraussetzungen eine Proktokolektomie mit zumeist kurativem Ansatz durchgeführt (Kucharzik et al. 2019).

Die im August 2021 aktualisierte S3-Leitlinie zur „Diagnostik und Therapie des Morbus Crohn“ (S3-Leitlinie Diagnostik und Therapie des Morbus Crohn 2021) beschreibt ebenfalls den Einsatz der genannten Therapeutika, je nach Schweregrad, beziehungsweise Aktivität des Schubes. Bei höherer Aktivität werden zumeist systemische Steroide gegeben. Bei steroidrefraktärem Verlauf aber teilweise auch in der remissionserhaltenden Therapie werden TNF- α -Antagonisten, wie Infliximab, Adalimumab oder Integrin-Antagonisten wie Vedolizumab eingesetzt.

Beide Entitäten zeigen im Verlauf ein deutlich erhöhtes Risiko für die Entwicklung von Neoplasien (Choi et al. 2017), insbesondere bei zusätzlichem Bestehen einer Primär Sklerosierenden Cholangitis (Ricciuto et al. 2018). Zudem besteht eine Assoziation zur Entwicklung entzündlicher Parodontalerkrankungen (Papageorgiou et al. 2017).

I.3.5 Parodontitis

Parodontitis ist die sechst-häufigste Erkrankung weltweit (Kassebaum et al. 2014). 2016 leiden mehr als die Hälfte der 65- bis 74-Jährigen an Parodontitiden. Männer sind dabei insgesamt schwerer betroffen als Frauen (Cholmakow-Bodechtel 2016).

Die Parodontitis ist eine chronisch inflammatorische Erkrankung multikausaler Pathogenese, welche durch eine Dysbiose des subgingivalen Biofilms gekennzeichnet ist (Mombelli et al. 1991; Mombelli 2018; Papapanou et al.). Bereits in den 1960er Jahren konnte gezeigt werden, dass eine Akkumulation des parodontalen Biofilms zur Entwicklung einer Parodontitis führt (Loe et al. 1965). Ende des 20. Jahrhunderts wurde von Marsh und Bradshaw die Biofilmhypothese entwickelt, die besagt, dass eine Parodontitis entsteht, wenn eine bestimmte Anzahl parodontal pathogener Keime den Wirt besiedelt (Marsh und Bradshaw 1997). Außerdem wurden Komplexe definiert, die aus Bakterien einer unterschiedlich starken Pathogenität bestehen (Socransky et al. 1998). Moderne Analysen konnten zeigen, dass diese vereinfachte Darstellung nicht ausreicht. So sind komplexe Interaktionen der im parodontalen Biofilm enthaltenen Bakterien, aber auch Viren und Pilzen, untereinander und mit dem Wirtsorganismus beschrieben. Einzelnen Komponenten des Biofilms scheint dabei eine

relevantere Rolle bei der Entstehung der Parodontitis zuzukommen als anderen (Teles et al. 2013; Lamont und Hajishengallis 2015). So scheint aber insbesondere die entzündliche Immunantwort des Wirts auf die Dysbiose des Biofilms eine Hauptursache für den Beginn, die Etablierung und die Progression der parodontalen Destruktion darzustellen. Diesbezüglich sind verschiedene Mechanismen beschrieben (Cekici et al. 2014). Eine wichtige Rolle scheint, neben den klassisch proinflammatorischen Zytokinen, wie TNF- α , IL-1 β oder auch IL-6 und der Aktivierung von T_H1- und T_H2-Lymphozyten, auch der IL-23/IL-17-Achse und damit den T_H17-Zellen zuzukommen. Sie werden zunehmend auch als Verbindungsglied zu anderen chronisch entzündlichen Erkrankungen diskutiert (Vernal et al. 2005; Ohyama et al. 2009; Takahashi et al. 2011; Hajishengallis 2014; Bunte und Beikler 2019). Außerdem wird eine Rolle der grundsätzlich protektiven Tregs (regulatorischen T-Helfer-Zellen), und deren sezernierten Zytokinen transforming growth factor β (TGF- β) und dem cytotoxic T-lymphocyte antigen 4 (CTLA-4) bei der Entstehung der Parodontitis vermutet (Nakajima et al. 2005; Cardoso et al. 2008).

Die Parodontitis führt zu einer fortschreitenden Destruktion des Zahnhalteapparats und letztlich zu Zahnverlust. Eine Parodontitis verläuft in den wenigsten Fällen schmerhaft, stellt für die Betroffenen aber trotzdem häufig eine große Belastung dar. Der Verlust der mastikatorischen Funktion, Einschränkungen der Ästhetik und nicht zuletzt psychische Belastungen können die Folge sein (Tonetti und Van Dyke 2013).

Die 2018 komplett überarbeitete Klassifikation der Parodontalerkrankungen, gibt eine genaue Definition der Erkrankung und Gesundheit. Sie besagt, dass eine Parodontitis vorliegt, sofern ein interdentaler Attachmentverlust von mindestens 2 mm an mindestens zwei nicht benachbarten Zähnen festgestellt werden kann oder bukkal oder oral ein Attachmentverlust von mindestens 3 mm mit Sulkustiefen von mindestens 3 mm an mehr als zwei Zähnen festgestellt werden kann. Zudem darf der Attachmentverlust nicht durch lokale, also nicht mit einer Parodontitis in Zusammenhang stehenden Faktoren, wie Karies oder Wurzelfrakturen, erklärbar sein. Sollte dies nicht der Fall sein, es kann aber ein Bleeding on Probing Index (BOP) von $\geq 10\%$ festgestellt werden, handelt es sich um eine Gingivitis, die nochmals in eine lokalisierte Form (BOP 10-30%) und eine generalisierte Gingivitis ($BOP \geq 30\%$) eingeteilt werden kann. Es sollen zudem stets eine Bewertung durch einen Röntgenstatus oder Übersichtsaufnahme erfolgen (Papapanou et al.). Außerdem wird eine Einteilung der Parodontitis in Stages und Grades vorgenommen, so dass der individuelle Krankheitsstatus des

Patienten unter Berücksichtigung einer Vielzahl von Faktoren zur Einteilung des Schweregrades und der Progression abgebildet werden können (Papapanou et al.).

Die moderne, systematische Therapie der Parodontitis besteht hauptsächlich in der mechanischen Entfernung des Biofilms und schafft so die Voraussetzungen zur Beendigung der parodontalen Destruktion mit anschließender Reparation der beteiligten Gewebe. In Einzelfällen kann der Einsatz einer lokalen oder systemischen Antibiose sinnvoll sein (Wolf et al. 2012, S. 257, 288–291, 303).

Die Parodontitis ist über eine bestehende Entzündung mit dem Auftreten verschiedenster allgemeiner Erkrankungen, von kardiovaskulären Erkrankungen, über Diabetes mellitus bis zu chronisch inflammatorischen Erkrankungen, wie der rheumatoïden Arthritis, der Psoriasis und chronisch entzündlichen Darmerkrankungen, assoziiert (Tonetti und Van Dyke 2013; Holmstrup et al. 2017; Graziani et al. 2018). Diverse Mechanismen, die die Assoziation erklären könnten, werden vermutet (Bunte und Beikler 2019). Auf sie wurde bereits in den einzelnen Abschnitten der Einleitung bereits näher eingegangen. Spezifische Zytokin-Inhibitoren, wie sie in der Therapie dieser Erkrankungen eingesetzt werden, könnten somit auch Einfluss auf die Entwicklung der Gingivitis und Parodontitis nehmen. Über diesen Zusammenhang und insbesondere auf den Einfluss einer zielgerichteten Anti-Zytokin Therapie auf die subgingivale Mikrobiota ist bisher wenig bekannt.

I.4 Wirkung von Biologicals

Immer häufiger werden Biologicals, die auch als Biologics oder Biologika bezeichnet werden, also spezifische Immunmodulatoren eingesetzt um diese Erkrankungen suffizient, möglichst kausal und so nebenwirkungsarm wie möglich zu bekämpfen (Click und Regueiro 2019). Bekannt ist, dass diese Therapien durchaus erwünschte Auswirkungen, wie die Erhöhung der relativen Abundanz von Bacteroidetes des Darmmikrobioms zur Folge haben können (Jones-Hall und Nakatsu 2016).

Weitgehend unbekannt sind dabei die Auswirkungen solcher Therapien auf die mikrobielle Zusammensetzung der Sulkusflüssigkeit, welche die Zähne umgibt. Unklar ist auch, welche Folgen mögliche mikrobielle Veränderungen in der Sulkusflüssigkeit auf die Entwicklung und die Progression entzündlicher parodontaler Erkrankungen haben kann. Nichtsdestotrotz wird

bereits der Einsatz von Modulatoren des Abwehrsystems, wie Bortezomib, Infliximab und Etanercept sowie der Einsatz von Antiresorptiva wie Denosumab bei der Parodontitis diskutiert (Gokhale und Padhye 2013).

Im Folgenden wird auf die in der Studie eingesetzten Biologika näher eingegangen.

I.4.1 TNF- α Inhibitoren

TNF- α ist ein Zytokin, welches durch aktivierte Monozyten und Makrophage produziert wird. Es induziert die Vasodilatation, erhöht die Gefäßpermeabilität, aktiviert die Gerinnung und reguliert die Produktion der Akute Phase Proteine und anderer Entzündungsmediatoren. Es ist sowohl in der heißen Entzündung, wie bei der Sepsis, als auch an der Entstehung entzündlicher Erkrankungen, wie der rheumatoiden Arthritis, Psoriasis und chronisch entzündlichen Darmerkrankungen beteiligt (Breedveld 2000).

Antagonisten des TNF waren als erste Biologics auf dem Markt erhältlich (Elliott et al. 1994). Sie verhindern die Bindung von TNF an seinen Rezeptor und unterbrechen so auf verschiedenen Wegen den proinflammatorischen Prozess (Breedveld 2000; Palladino et al. 2003). So verhindern sie unter anderem auch die Aktivierung der IL-23/IL-17-Achse (Bunte und Beikler 2019). Zurzeit sind fünf strukturell unterschiedliche TNF- α -Antagonisten auf dem Markt erhältlich: Infliximab, Etanercept, Adalimumab, Certolizumab und Golimumab (Bunte und Beikler 2019). TNF- α -Blocker können subcutan, als Selbstinjektion (Adalimumab (Fachinformation Humira® 20 mg Injektionslösung), Etanercept (Benepali® 25 mg Injektionslösung in einer Fertigspritze 2019; Fachinformation Enbrel® 25 mg), Certolizumab (Fachinformation Cimzia® 200 mg Injektionslösung in einem Fertigpen), Golimumab (Fachinformation Simponi® 100 mg Injektionslösung)) oder als Infusion intravenös (Infliximab (Fachinformation REMICADE® 100 mg)) verabreicht werden. Sie finden in der rheumatoiden Arthritis (Ma und Xu 2013), der Psoriasis (Yost und Gudjonsson 2009), den chronisch entzündlichen Darmerkrankungen (Danese et al. 2015; Schreiber 2015; Levin et al. 2016; Lu und Cohen 2019), wie auch in der ankylosierenden Spondylitis und der Uveitis (Bunte und Beikler 2019) Anwendung.

Es sind bereits einige Untersuchungen der Wirkung von TNF- α -Antagonisten auf die Parodontitis vorbeschrieben. So ist schon länger bekannt, dass bakterielle Lipopolysaccharide

Makrophagen aktivieren, die so Zytokine wie TNF- α vermehrt sezernieren (Page 1991). Zudem sind verschiedene Mechanismen bekannt, wie TNF den Knochenstoffwechsel beeinflussen, wie zum Beispiel durch die Interaktion mit RANK-Liganden (Fujihara et al. 2014; Kim et al. 2017; Zhou et al. 2018). Auf der anderen Seite konnten keine vermehrten TNF-Level in der Sulkusflüssigkeit von Probanden mit Parodontitis im Vergleich zu gesunden Probanden gemessen werden (Ikezawa et al. 2005). Zellexperimente mit dem TNF- α -Antagonisten Infliximab zeigen jedoch, dass die Osteoklastenformation unter bestimmten Voraussetzungen beeinflusst werden kann, jedoch nicht direkt durch parodontale Fibroblasten (Vries et al. 2016). In einem Parodontitis-Modell in der Ratte konnte wiederholt gezeigt werden, dass TNF- α -Antagonisten antiinflammatorisch und protektiv auf den parodontalen Knochen wirken (Cirelli et al. 2009; Gonçalves et al. 2014). Untersuchungen von Patienten mit rheumatoider Arthritis kamen zu unterschiedlichen Ergebnissen (Han und Reynolds 2012). In einer Studie konnte gezeigt werden, dass vermehrt Gingivitiden, aber weniger Attachmentverlust als in einer Kontrollgruppe festzustellen waren (Pers et al. 2008). Eine andere Studie wiederrum konnte verminderte Sulkustiefen bei Patienten mit einer rheumatoiden Arthritis und Therapie mit TNF- α -Antagonisten feststellen (Mayer et al. 2009). Unter Therapie mit Adalimumab konnte in einer Studie, ebenfalls bei Patienten mit rheumatoider Arthritis und Parodontitis gezeigt werden, dass sich klinische Parameter der Parodontitis wie die Sulkustiefen und der Bleeding on Probing Index verbessern (Kobayashi et al. 2014). Im Tiermodell (Ratte) konnte gezeigt werden, dass die Entwicklung der parodontalen Inflammation und Bindegewebsverlustes bei Gabe von Etanercept verringert wird (Di Paola et al. 2007). In einer humanen Beobachtungsstudie bei Kindern mit juveniler idiopathischer Arthritis konnte gezeigt werden, dass ein Therapie mit Etanercept die parodontale Inflammation ebenfalls verringert (Maspero et al. 2017).

Interessante Ergebnisse lieferten zuletzt auch Studien aus Dänemark. Sie beschreiben eine verbesserte Glukosetoleranz und einen verbesserten parodontalen Status bei Ratten, in einem Modell mit Typ 2 Diabetes mellitus und Parodontitis, nach der Gabe von Etanercept (Grauballe et al. 2015). Erklärt wird dies durch die vermehrte Produktion von AGE, die an einen Rezeptor (RAGE) binden und so eine proinflammatorische Antwort durch Aktivierung von NF- κ B und damit durch vermehrte Produktion von TNF- α herbeiführen (Gao Xue et al. 2007; Hu et al. 2015). Dies beeinflusst wiederrum die Level von RAGEs, was für einen Teil der diabetischen

Komplikationen, wie die Entwicklung der diabetischen Nephropathie mit verantwortlich gemacht wird (Yan et al. 2009). Außerdem ist zirkulierendes TNF- α an der Entstehung der Insulinresistenz beteiligt (Cheung et al. 1998; Borst 2004). Bei Patienten mit Parodontitis und einem Typ 2 Diabetes mellitus konnte außerdem bereits zuvor gezeigt werden, dass hohe Plasmalevel an TNF- α mit einem vermehrten Attachmentverlust assoziiert sind (Engebretson et al. 2007). Interessanterweise konnte durch die direkte Blockade der RAGE im Rattenmodell mit Parodontitis und Typ 2 Diabetes mellitus lediglich eine Verbesserung des Diabetes mellitus nicht aber der Parodontitis beobachtet werden. Zudem waren die auf den Diabetes mellitus bezogenen Verbesserungen nicht mit einer verminderten Produktion der gemessenen proinflammatorischen Zytokine, wie IL-1 β oder IL-6, assoziiert. Im Gegenteil, konnten sogar erhöhte TNF- α Level bei Verbesserung des Glukosemetabolismus gemessen werden (Grauballe et al. 2017a). Von der gleichen dänischen Gruppe konnte auch demonstriert werden, dass in ebendiesem Tiermodell bei Behandlung mit Anti-TNF- α oder Anti-RAGE eine Veränderung des subgingivalen Mikrobioms bei den entsprechenden Ratten festzustellen war (Grauballe et al. 2017b). Eine andere Gruppe konnte zuletzt bei Patienten mit rheumatoider Arthritis zeigen, dass die Therapie mit TNF- α -Antagonisten Veränderungen des parodontalen Mikrobioms mit sich brachte (Romero-Sanchez et al. 2017).

I.4.2 IL-Inhibitoren

I.4.2.1 IL-6 Antagonisten

IL-6 ist ein Zytokin, welches unter anderem die Immunkompetenz des Wirtes auf eine bakterielle Invasion vermittelt (Rose-John et al. 2017) Es kann grundsätzlich sowohl zu einer antiinflammatorischen Signalantwort über die Aktivierung des klassischen Signalwegs, als auch zu einer proinflammatorischen Antwort über die Aktivierung des Il-6 trans-signaling Wegs führen (Rose-John 2012; Rose-John 2017).

Tocilizumab ist ein IL-6 Rezeptor Inhibitor und steht sowohl zur subkutanen Injektion (Fachinformation RoActemra® Fertigpen) als auch zur intravenösen Infusion zur Verfügung (Fachinformation RoActemra® i.v.).

Es wird vornehmlich in der Therapie der rheumatoiden Arthritis eingesetzt (Nam et al. 2010). Insgesamt können unter der Therapie mit Tocilizumab schwere, opportunistische Infektionen auftreten (Rose-John et al. 2017). So konnte in einem Case-Report gezeigt werden, dass ein

Patient unter Therapie mit Tocilizumab aus einem Abszess endodontaler Genese, einen Lungenabszess entwickelte (de Kruif et al. 2012). Vermutet wird, dass dies an der gesamten Blockade der IL-6 Signalwege und somit auch an der Blockade des klassischen IL-6 Signalwegs neben dem trans-signaling pathway liegt (Rose-John et al. 2017).

IL-6 scheint zudem eine wichtige Rolle bei der Wundheilung der Parodontitis und auch bei der Periimplantitis zu spielen (McCauley und Nohutcu 2002; Cekici et al. 2014; Eger et al. 2018). So konnten japanische Studien bei Patienten mit rheumatoider Arthritis und Therapie mit Tocilizumab eine Verbesserung der parodontalen Entzündung sowie eine Reduktion der Serumlevel von TNF- α Serumlevels feststellen (Kobayashi et al. 2014; Kobayashi et al. 2015).

I.4.2.2 IL-17 Antagonisten

IL-17 wird vorwiegend von speziellen T-Lymphozyten, den T_H17-Zellen sezerniert (Nestle et al. 2009). Aber auch andere Zellen, wie natürliche Killerzellen, neutrophile Granulozyten, und spezielle Lymphozyten, die innate lymphoid cells (ILCs) sowie die γ - δ -T-Zellen, können verschiedene IL-17 Subtypen, von denen bisher sechs identifiziert wurden (IL-17 A-F), sezernieren (Matsuzaki und Umemura 2018).

Die proinflammatorisch wirkenden Zytokine der IL-17 Familie wirken über ihre Rezeptoren. IL-17 Rezeptoren werden von verschiedenen Zellen, wie epi- und endothelialen Zellen und Fibroblasten, exprimiert (Moseley et al. 2003; Gaffen 2009; Amatya et al. 2017).

Secukinumab ist ein monoklonaler Antikörper, welcher IL-17A bindet und so seine Wirkung verhindert (Langley et al. 2014). Er wird subkutan verabreicht (Fachinformation Cosentyx® 150 mg Injektionslösung in einem Fertigpen). Inzwischen gibt es noch weitere Inhibitoren des IL-17, wie einen weiteren Inhibitor des IL-17A, das Ixekizumab (O’Rielly und Rahman 2018), sowie den Rezeptor-Antagonisten Brodalumab (Mease et al. 2014). Beide fanden jedoch in dieser Studie keine Anwendung, deshalb wird in der Folge nicht näher auf sie eingegangen.

Secukinumab wird bisher in der Psoriasis, Psoriasis Arthritis (Langley et al. 2014) und ankylosierenden Spondylitis (Blair 2019) therapeutisch eingesetzt. Zudem wurden erfolgsversprechende Studien, zum Einsatz bei der rheumatoiden Arthritis (Blanco et al. 2017; Tahir et al. 2017; Dokoupilová et al. 2018) und Uveitis durchgeführt (Dick et al. 2013). Der Einsatz bei chronisch entzündlichen Darmerkrankungen scheint bisher nicht vielversprechend. Zum einen kam es in klinischen Studien zu massiven Verschlechterung des Morbus Crohn (Hueber et al. 2012; Targan et al. 2016). Vermutet wird, dass eine Verlust der Barrierefunktion,

der ohnehin schon geschwächten Darmschleimhaut, für die Verschlechterung des Krankheitszustandes verantwortlich ist (Maxwell et al. 2015). Zum anderen wurden bei einer großen, retrospektiven Studie, bei Therapie mit Secukinumab keine erhöhten Inzidenzen von chronisch entzündlichen Darmerkrankungen beobachtet (Schreiber et al. 2019). Nichtsdestotrotz weist die Fachinformation von Cosentyx® (Secukinumab) darauf hin, dass die Verschreibung bei bestehender chronisch entzündlicher Darmerkrankung mit Vorsicht erfolgen sollte (Fachinformation Cosentyx® 150 mg Injektionslösung in einem Fertigpen). Neben gastrointestinalen Ulcera (Ramonda et al. 2021) sind auch orale Ulcerationen beschrieben (Benzaquen et al. 2020).

Auch humane Gingivaepithelzellen exprimieren IL-17 Rezeptoren. Bei Stimulation mit IL-17A wird über NF-κB, direkt die Produktion des Chemokins CXCL8 (chemokin (cxc-motif) ligand 8 oder IL-8) sowie der Zytokine IL-6, IL-1β und TNF-α stimuliert, wobei IL-1β und TNF-α wiederum die Produktion des Chemokins CXCL8 erhöhen (Takahashi et al. 2011). CXCL8 aus humanen Gingivaepithelzellen ist für die transepitheliale Migration und Akkumulation neutrophiler Granulozyten in parodontalen Läsionen verantwortlich (Madianos et al. 1997).

I.4.2.3 IL-12/IL-23 Antagonisten

Die Produktion von IL-17 durch T_H17-Lymphozyten, wird vornehmlich durch Sekretion des IL-23 durch dendritische Zellen angestoßen (Nestle et al. 2009; Boutet et al. 2018), IL-12 führt zur Differenzierung von T_H1-Lymphozyten und zur Produktion von INF-γ (Trinchieri 2003). Ustekinumab ist ein monoklonaler Antikörper der p40-Untereinheit des IL-12 und IL-23 und sowohl zur intravenösen Infusion als auch zur subkutanen Applikation geeignet (Fachinformation STELARA® 130 mg Konzentrat zur Herstellung einer Infusionslösung). Es findet bei Patienten mit Psoriasis, sowie Psoriasis Arthritis (López-Ferrer et al. 2017) und chronisch entzündlichen Darmerkrankungen Anwendung (Feagan et al. 2016). Eine im New England Journal of Medicine veröffentlichte Studie berichtet in einem Fallbericht von einem Patienten mit Leukocyte Adhesion Deficiency type 1 (LAD1) und einer schweren Parodontitis sowie sakralen Ulcera, die erfolgreich mit Ustekinumab behandelt wurden. Eine Verbesserung der Parodontitis und der Hautwunden werden beschrieben (Moutsopoulos et al. 2017). Bekannterweise ist LAD1 mit einer Fehlregulation der IL-23/IL-17-Achse vergesellschaftet (Forlow et al. 2001; Stark et al. 2005; Moutsopoulos et al. 2014), die zuvor bereits im Mausmodell durch Anti-IL-12/IL-23-Therapie verbessert werden konnte (Moutsopoulos et al. 2014).

I.5 Ziel der Arbeit

Systemische chronisch inflammatorische Erkrankungen, wie die rheumatoiden Arthritis (Araújo et al. 2015; Potempa et al. 2017), die Spondylitis ankylosans (Ratz et al. 2015), die Psoriasis (Woeste et al. 2019), die chronisch entzündlichen Darmerkrankungen (Papageorgiou et al. 2017) sind mit der Parodontitis, einer weit verbreiteten chronisch entzündlichen Erkrankung des Zahnhalteapparats (Cholmakow-Bodechtel 2016) assoziiert.

Bei einem Therapieversagen der klassischen Therapiemöglichkeiten bei Patienten mit chronisch entzündlichen Erkrankungen, werden zunehmend Biologicals als zielgerichtete Anti-Zytokin Therapien eingesetzt. Diese beinhalten, je nach Erkrankung, vor allem den Einsatz verschiedener TNF- α -Antagonisten (Infliximab, Certolizumab, Adalimumab, Golimumab und Etanercept), sowie unterschiedlicher IL-Antagonisten, wie Anti-IL-6 (Tocilizumab), Anti-IL-17 (Secukinumab), Anti-IL-12/Anti-IL-23 (Ustekinumab) und Phosphodiesterase-4-Inhibitoren, wie Apremilast.

Bisher ist jedoch wenig über den Einfluss zielgerichteter Anti-Zytokin Therapien auf parodontale Konditionen, insbesondere die subgingivale mikrobielle Zusammensetzung, bei Patienten mit chronisch entzündlichen Erkrankungen bekannt.

Das Ziel dieser Arbeit ist es, Analysen des oralen Mikrobioms aus der Sulkusflüssigkeit durchzuführen und mögliche Veränderungen während einer zielgerichteten Anti-Zytokin Therapie mit verschiedenen Biologicals festzustellen. Dazu werden Probanden aus der Kiel Biological Follow-up (BFU) Studie vor und 14 Wochen nach Beginn einer Anti-Zytokin Therapie untersucht. Mit Hilfe von sterilen Papierspitzen werden Sulkusproben aus einer klinisch gesunden sowie der tiefsten Tasche des Probanden entnommen und anschließend einer Mikrobiomanalyse (16S rRNA gene sequencing) zugeführt. Zudem werden den Probanden Fragebögen zur allgemeinen und parodontalen Gesundheit sowie Ernährungsgewohnheiten vorgelegt und zu beiden Untersuchungszeitpunkten beantwortet. Es werden außerdem klinische Parameter, wie die Sulkustiefen, der Attachmentverlust, die Blutung auf Sondieren (Bleeding on Probing Index; BOP) an 6 Stellen/Zahn (disto-bukkal, medio-bukkal, mesio-bukkal, disto-oral, medio-oral und mesio-oral) sowie der DMFT-Index (Decayed Missed Filled Teeth-Index) erhoben. Es wird ein vollständiger oraler Befund erhoben und die Plaquemenge festgehalten.

II Material und Methoden

II.1 Studientyp, Studienpopulation und Studiendesign

Bei der durchgeführten Studie handelt es sich um eine prospektive Beobachtungsstudie an einem Einzelzentrum, nämlich dem Universitätsklinikum Schleswig-Holstein (Campus Kiel). Alle Untersuchungen wurden bei Patienten der Biological Follow-up (BFU)-Kohorte, welche im Comprehensive Centre for Inflammation Medicine (CCIM) am Universitätsklinikum Schleswig-Holstein, Campus Kiel angebunden waren, durchgeführt.

In die BFU-Studie wurden seit 2011 Patienten eingeschlossen, die aufgrund verschiedener entzündlicher Erkrankungen gemäß aktueller Leitlinie bei Versagen der klassischen anti-entzündlichen Therapie das erste Mal eine Therapie mit Biologicals erhalten sollten. Der Einschluss jedes Patienten in die Studie wurde in einer interdisziplinären Fallkonferenz, der Entzündungskonferenz, des CCIM diskutiert und gegebenenfalls beschlossen. An einer solchen Fallkonferenz waren sowohl Rheumatologen, Gastroenterologen, Dermatologen, Pädiater, Ophthalmologen als auch Endokrinologen beteiligt.

Bei Einschluss in die BFU-Studie wurde, neben der entsprechenden spezifischen Anti-Zytokin Therapie mit entsprechenden Biologicals, die Patientengeschichte dokumentiert, sowie Blutproben gesammelt und Befragungen mit Hilfe von Fragebögen durchgeführt. Diese Daten wurden zur ersten Gabe der Anti-Zytokin Therapie, sowie nach zwei, vier, 26, 52 und 104 Wochen erhoben.

Die BFU-ParoSubkohorte wurde in den Jahren 2016 und 2017, entsprechend dem Schema aus Abbildung 2, aus der entstehenden BFU-Kohorte rekrutiert. Die Patienten, welche in der Fallkonferenz in die BFU-Studie eingeschlossen wurden, wurden von den Mitarbeiterinnen der Klinik für Zahnerhaltungskunde und Parodontologie zeitnah telefonisch kontaktiert und bei Zustimmung zur Teilnahme an der zahnmedizinischen Untersuchung und Datenerhebung an einem Zeitpunkt vor der ersten Gabe des Biologikums zur zahnärztlichen Untersuchung einbestellt.

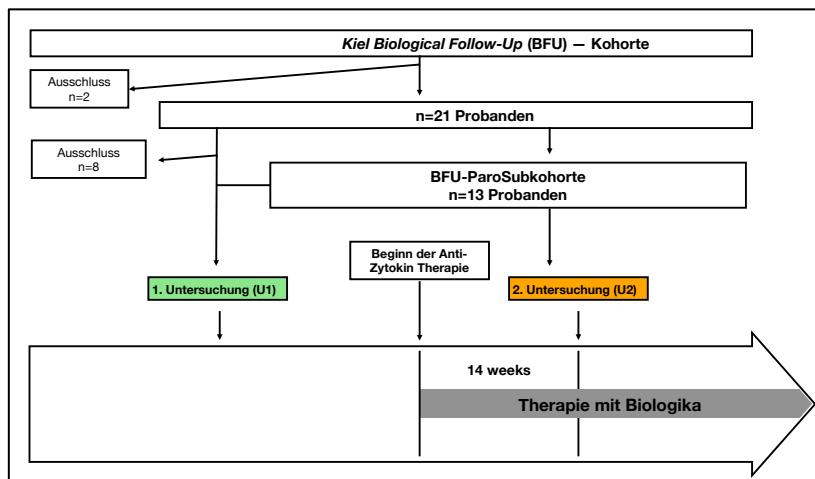


Abbildung 2: Aufbau der BFU-ParoSubkohorte

Zunächst wurde bereits telefonisch sowie unmittelbar vor der Untersuchung evaluiert, ob die Probanden an der Untersuchung teilnehmen konnten. Ausschlusskriterien waren hier die Notwendigkeit einer Endokarditisprophylaxe sowie eine in den vorherigen drei Monaten stattgefundene Parodontitistherapie. Außerdem erfolgte bei Zahnlosigkeit des Probanden der Ausschluss aus der Studie.

Insgesamt mussten zwei Probanden vor der ersten Untersuchung ausgeschlossen werden, weil eines der drei genannten Kriterien zutraf. Keiner der Probanden musste vor der zweiten Untersuchung ausgeschlossen werden, bei der erneut alle drei Ausschlusskriterien erfasst wurden. Jedoch nahmen insgesamt acht Probanden nicht an einer zweiten Untersuchung teil.

II.2 Erhebung der parodontalen Parameter

II.2.1 Kalibrierung der Untersucher

Die gesamte Untersuchung wurde abwechselnd von einer Zahnärztin und einer Studentin der Zahnmedizin im klinischen Abschnitt durchgeführt. Die Untersuchung der Probanden erfolgte an beiden Untersuchungstagen stets durch die gleiche Untersucherin.

Vor Beginn der Studie erfolgte zudem die Kalibrierung der beiden genannten Untersucherinnen, um die Reproduzierbarkeit zu gewährleisten sowie interindividuelle

Messergebnisse vergleichen zu können. Der Sondierungsdruck lag bei etwa 0,25 N. Nach der Kalibrierung lag eine interindividuelle Konkordanz der Messwerte von ≥90% vor.

II.2.2 Durchführung der zahnmedizinischen Untersuchung

Die zahnmedizinische Untersuchung der teilnehmenden Probanden der BFU-Kohorte wurde stets zum gleichen Zeitpunkt in Bezug auf die erste Einnahme der neuen Anti-Zytokin Therapie durchgeführt.

Die Erstuntersuchung wurde vor der ersten Gabe (n=10), spätestens jedoch sieben Tage nach der ersten Gabe durchgeführt (n=3). Die Folgeuntersuchung fand nach 14 Wochen im Rahmen einer Routineuntersuchung zur Untersuchung des Status der zugrundeliegenden chronisch entzündlichen Erkrankung statt. Beide Untersuchungen fanden stets standardisiert nach dem gleichen Schema statt und wurden nach Einschluss des Patienten in die BFU-Subkohorte vom gleichen Untersucher durchgeführt. Die dritten Molaren wurden bei der Untersuchung nicht berücksichtigt.

II.2.3 Befunderhebung und Parodontaler Status

Es erfolgte bei jedem Probanden zu beiden Untersuchungszeitpunkten die standardisierte Untersuchung in vorher vereinbarter Reihenfolge entsprechend des in Abbildung 3 genannten Schemas. Der Attachmentverlust (AV) wurde als positiver Wert notiert, sofern eine Hyperplasie vorlag, als negativer Wert, wenn die marginale Gingiva im Sinne einer Rezession unterhalb der Schmelz-Zement-Grenze lag. Eine eingeschweißte Folie, welche die genannten Ausführungen beinhaltete, lag dem Untersucher, sowie der die Befunde dokumentierenden Person zu jedem Zeitpunkt vor. Die Ergebnisse wurden in einen standardisierten Befundbogen eingetragen (Abb. 20/Anhang). Der zu den beiden Untersuchungszeitpunkten vorliegende Patientenfragebogen war identisch. Es erfolgte, auch auf Nachfrage der Probanden, keine Hilfestellung durch anwesende Personen bei der Bearbeitung der Fragen des Fragebogens (Abb. 21/Anhang). Es lag zu jeder Untersuchung stets ein zahnärztliches Grundinstrumentarium vor. Die Untersuchung wurde stets bei suffizienter Beleuchtung durchgeführt. Die Erhebung der Sondierungstiefen und des Attachmentverlusts sowie des BOP erfolgte mit Hilfe von konventionellen Parodontalsonden der Firma Hu-Friedy (PCP-15UNC).

(1)	<u>1. Quadrant vestibulär</u> ST (d) → direkt AV ablesen ST (b) → direkt AV ablesen ST (m) → direkt AV ablesen BOP bestimmen	(2)	<u>2. Quadrant vestibulär</u> ST (m) → direkt AV ablesen ST (b) → direkt AV ablesen ST (d) → direkt AV ablesen BOP bestimmen		
(3)	<u>4. Quadrant vestibulär</u> ST (d) → direkt AV ablesen ST (b) → direkt AV ablesen ST (m) → direkt AV ablesen BOP bestimmen	(4)	<u>3. Quadrant vestibulär</u> ST (m) → direkt AV ablesen ST (b) → direkt AV ablesen ST (d) → direkt AV ablesen BOP bestimmen		
(5)	<u>1.-4. Quadrant; palatal: in der gleichen Rheinfeldreie wiederholen</u>				
(6)	<u>Lockerungsbestimmung (nach Linde und Nyman)</u> Grad 0 = Normale (physiologische) Beweglichkeit Grad I = Horizontale Beweglichkeit von 0,2 mm bis 1 mm Grad II = Horizontale Beweglichkeit von 1 mm bis 2 mm Grad III = Horizontale Beweglichkeit von mehr als 2 mm und/oder axialer Beweglichkeit				
(7)	<u>Erweiterter DMFT im gleichen Schema 17-27, dann 47-37</u>				
	Befund	Abkürzung			
	Karies	c			
	Krone	k			
	Füllung	f			
	Krone und Karies	ck			
	Tief zerstört	z			
	Fehlt (<i>missing</i>)	m			
	Freiliegende Furkation	fur			
(8)	<u>Entnahme der Proben</u> mit steriler Papierspitze, ggf. Trocknung entsprechender mit Tupfer (Verhinderung Vermengung Speichel mit Sulkusfluid) 1) aus klinisch gesunder/nicht pathologischer Tasche mit ST unter 4 mm 2) aus tiefster Tasche 3) wenn 2) eiternd/blutend, dann zusätzlich aus weiterer tiefer nicht blutender oder eiternder Tasche → Probenkennzeichnung mit a) Patientencode und b) 1 / 2 / 3				
(9)	<u>Patientenfragebogen</u> , wird vom Patienten selbstständig ausgefüllt				

Abbildung 3: Strukturierte Befunderhebung in der Studie

II.2.3.1 Untersuchung der Sulkusflüssigkeit

Es erfolgte zunächst die Vorbereitung der Eppendorf Reaktionsgefäße der Größe 0,5 ml. Sie wurden mit 0,5 ml Phosphate buffered Saline (PBS) gefüllt. Direkt vor der Untersuchung wurden diese mit 70-prozentigem Alkohol desinfiziert.

Zur Entnahme der Sulkusflüssigkeit wurden steril verpackte Papierspitzen der Firma VDW (mtwo, saugende Papierspitzen, 29mm) ohne Druck in den Sulkus eingelegt. Dort wurden Sie für ca. 5 Sekunden belassen und anschließend in ein, wie oben beschrieben, vorbereitetes Eppendorf-Gefäß gegeben. Bei visueller Kontamination mit Blut, Speichel oder Eiter wurde eine weitere Probe entnommen und entsprechend gekennzeichnet. Dies musste insgesamt 4-mal durchgeführt werden, da bei vier Proben eine Kontamination mit Blut wahrscheinlich war. Alle vier Proben stammten aus den tiefsten gemessenen Taschen und wurden beim zweiten Untersuchungszeitpunkt entnommen. Entsprechend erfolgte die zusätzliche Probenentnahme jeweils aus der oder einer der nächsttieferen Taschen. Bei der Entnahme der Proben wurde zudem darauf geachtet, dass keine Kontamination der Papierspitze außerhalb des Sulkus erfolgte.

Nach Entnahme der Proben und entsprechender Markierung mit vorgefertigten Barcodes, zur späteren Zuordnung der Proben und wurden unmittelbar bei -80°C eingefroren. Es wurden zum einen Proben mit Sulkusflüssigkeit entnommen. Zum anderen erfolgte die Konservierung von insgesamt fünf Leerproben im Abstand von vier bis zehn Wochen und bei Chargenwechsel der steril verpackten Papierspitzen.

II.3 Untersuchungsmaterial, präanalytisches Material und verwendete Reagenzien

Lagerung

Eisschränke	Thermo Scientific Hera freeze BHFU400B, Temperatur -80 °C
	Gefrierschrank GNP 3755 Premium NoFrost
	der Firma Liebherr, Temperatur -20°C

Kühlschrank FKS 3600-1 der Firma Liebherr, 4°C

Verbrauchsmaterialien

Pipetten Research Plus 100 µL und 1000 µL der Firma Eppendorf

Pipetten-Spitzen Research Plus 300 µL Multichannel-Pipette der Firma
Eppendorf
Quality Pipette Tips 20-300 µL der Firma Eppendorf

Reagiergefäße Reagiergefäß 500 µl der Firma Eppendorf

Phosphate Buffered Saline

Papierspitzen Mtwo, absorbent Paper points 29mm, 40 .04, sterile, von VDW

Untersuchungsmaterialien

Grundbesteck Zahnärztliche Sonde, zahnärztlicher Spiegel, Pinzette

Parodontalsonde PCP-15UNC der Firma Hu-Friedy

II.4 Analyse des subgingivalen Mikrobioms via 16S rRNA-Gensequenzierung

Die Sequenzierung der Proben erfolgte mittels 16S rRNA gene sequencing im Institut für Molekularbiologie (IKMB) der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel. Das 16S rRNA Gen kodiert für die ribosomale 30S Untereinheit von Prokaryonten (Brosius et al. 1978; Glotz und Brimacombe 1980) und unterscheidet sich von seinem eukaryontischen Gegenstück, dem 18S rRNA Gen, so dass eine präzise Zuordnung zur bakteriellen DNA möglich ist (Karst et al. 2018).

Diese Art der Sequenzierung von Genfragmenten der 16S rRNA Gene ermöglicht es mit wenig Sequenzierungsaufwand, weniger konservierte (Baker et al. 2003), aber hoch spezifische Varianten (v1-v9) (Stern et al. 1989; Smit et al. 2007) in den grundsätzlich stark konservierten Abschnitten, zu erkennen und so eine qualitative und quantitative Aussage über die mikrobielle Zusammensetzung der Probe zu treffen (Chakravorty et al. 2007).

Zunächst erfolgte die automatisierte DNA-Extraktion mit dem QIAcube (Qiagen) Laborsystem und dem QIAamp DNA Mini Kit (Qiagen) nach Herstellerangaben. Die so gewonnene Lösung mit der DNA wurde bis zur weiteren Verwendung bei -20°C gelagert.

Es erfolgte anschließend die Amplifizierung der v1-v2-Region des bakteriellen 16S rRNA-Gens mittels Polymerase-Kettenreaktion (PCR). Es wurde pro Sulkusprobe stets ein Primerpaar aus Forward und Reverse und einer unterschiedlichen Kombination aus zwei Barcodes, bestehend aus je acht Basen, verwendet. Somit sind 384 Kombinationen bei den 16 unterschiedlichen Forward-Primern (1 bis 16) und insgesamt 24 unterschiedlichen Reverse-Primern (A bis X) denkbar. Die Primer wurden von der Firma Metabion International AG (Planegg/Steinkirchen) bezogen. Zudem enthält jeder Primer noch einen Illumina Primer als Startprimer für die Sequenzierung, ein Primer Pad, zur Verhinderung sogenannter hairpin loops, also ungewollter Basenpaarung, und ein Verbindungsstück. Anschließend erfolgten die Aufreinigung und Normalisierung der DNA-Konzentration aus den Produkten der PCR. Hier kam das SequalPrep Normalization Plate Kit (Thermo Fisher Scientific) nach Herstellerangaben zur Anwendung. Zur effizienten Auslastung des MiSeq der Firma Illumina und dem entsprechenden MiSeq Reagent Kit v3 (2x300bp, Illumina) wurden Proben in einem Ansatz sequenziert. Dazu erfolgte ein pooling, also die äquimolare Mischung der Proben. Die Messung der Konzentrationen erfolgte mit dem Qubit Fluorometer (Thermo Fisher Scientific) und dem Qubit dsDNA BR Assay Kit

(Thermo Fisher Scientific) nach Angaben des Herstellers. Die so generierten Sequenzen wurden bei entsprechender Übereinstimmung des Barcodes, den jeweiligen Proben zugeordnet. In beide Leserichtungen komplementäre Sequenzabschnitte mit einer Überschneidung von 250-300 bp wurden mit Hilfe des Programms FLASH fusioniert um längere Leseabschnitte zu generieren (Magoč und Salzberg 2011).

Anschließend erfolgte die Qualitätskontrolle. Anhand der Q Scores, einem Qualitätsindex der Sequenzdaten, welche das MiSeq (FastQ Format, Illumina) lieferte, kann die Wahrscheinlichkeit für einen fälschlichen Basenaufruf in der Sequenzierung berechnet werden (Ewing et al. 1998). Die Software UCHIME (Edgar et al. 2011) wurde verwendet um Sequenzen, bei denen der Q Score in mehr als 5% der Nukleotide unter 30 beträgt, auszusortieren. Dies entspricht einer Wahrscheinlichkeit von 0,1% für einen falschen Basenaufruf. Auch chimäre Sequenzen, welche durch die Fusion mehrerer Fragmente entstehen könnten, wurden mit UCHIME entfernt.

Schließlich wurden mittels USEARCH (Edgar 2010), über verschiedene Schritte aus den Sequenzdaten OTUs (operational taxonomic units) gebildet. Sequenzen, die eine Homologie von über 97% aufwiesen, wurden zu einer OTU zusammengefasst.

Die Daten wurden bis auf 10000 Sequenzen pro Probe normalisiert, um einer künstlichen Inflation entgegenzuwirken. Die taxonomischen Daten wurden mit Hilfe des „SINTAX“-Algorithmus basierend auf der „RDP training Set 16“ der Ribosomal Database Project (RDP) – Datenbank klassifiziert (Cole et al. 2014). Die Abundanzen der jeweiligen Bakterien wurden auf fünf verschiedenen taxonomischen Stufen ermittelt: Phylum (Stamm), class (Klasse), order (Ordnung), family (Familie) und genus (Gattung).

Die Berechnung und Darstellung der Abundanzen sowie die Analysen zur Firmicutes/Bacteroidetes-Ratio wurden auf Phylumebene erstellt.

Alle weiteren Berechnungen wurden auf der höchsten verfügbaren taxonomischen Stufe durchgeführt.

II.5 Statistik

Alle statistische Analysen wurden mit dem Programm R durchgeführt (R Core Team 2019).

II.5.1 Analyse der relativen Abundanzen

Die Berechnung des Core Measurable Microbiome (CMM) stellt die Grundlage der Analysen der relativen Abundanzen dar. Das CMM selbst wurde definiert als die Bakterien, die eine Abundanz von mehr als 1% aller Proben ausmachen, sowie die OTUs die durchschnittlich in mehr als 0,5% einer der beiden Gruppen vorkommen sowie mindestens 40% der mikrobiellen Zusammensetzung der Kohorte erklären.

Die Analyse der relativen mittleren Abundanzen erfolgte mittels des R-Pakets DPLYR sowie dem PHYLOSEQ-Paket.

II.5.2 Analyse der α -Diversitäten

Die Berechnung der intraindividuellen α -Diversitäten erfolgte mit Hilfe der R-Pakete VEGAN, ADE4 und PHYLOSEQ. Es wurden Berechnung der Species Richness, des Shannon diversity index sowie des Chao1 Index durchgeführt. Es wurde auch eine Berechnung des Simpson-Index durchgeführt, auf die aber in dieser Arbeit nicht näher eingegangen wird. Alle Berechnungen wurden sowohl für die vorliegenden Operational taxonomic units (OTUs) als auch auf Genus-Ebene durchgeführt.

Die Berechnung erfolgte, entsprechend der vorliegenden Verteilung, welche mit Hilfe des Shapiro-Wilk-Test geprüft wurde, eine Analyse mit dem gepaarten Student's T-Test, bei Normalverteilung, und dem Wilcoxon-Vorzeichen-Rangtests, wenn keine Normalverteilung vorlag.

Die Species Richness führt eine Zählung der Taxa, ohne Berücksichtigung der vorliegenden Abundanzen durch. Der Shannon diversity index (auch Shannon Index H') berücksichtigt sowohl die Anzahl der Taxa als auch die Abundanz (Shannon 1948). Der Chao1 Index führt eine Schätzung durch. Es werden die Anzahl der vorhandenen Taxa, unter der Annahme, dass man bei einer zusätzlichen Probenentnahme keine weiteren Taxa entdecken würde, geschätzt. Dabei werden sowohl die gesamte Anzahl der vorliegenden Taxa geschätzt, als auch jene die nur sehr selten in der Probe auftauchen, dementsprechend werden diese bei der Durchführung

des Chao 1 Index besonders berücksichtigt (Chao 1984). Der Simpson Index berechnet die Summe der Wahrscheinlichkeiten, dass bei zufälliger Auswahl zweier Taxa, diese nicht derselben Art angehören (Simpson 1949).

II.5.3 Analyse der β -Diversitäten

Die interindividuelle β -Diversität wurde wie folgt bestimmt. Daten der vorliegenden OTUs wurden gemeinsam mit klinischen Informationen und den Informationen aus den Fragebögen sowie den taxonomischen Daten zu einem R-Objekt namens PHYLOSEQ zusammengeführt (McMurdie und Holmes 2013). Die weiteren Analysen wurden zudem mit dem MICROBIOME sowie VEGAN und GGPLOT2 Paketen durchgeführt. So wurden die Analysen zu den β -Diversitäten zum einen mit Hilfe der Principal Coordinates Analyse mit einer Bray-Curtis Dissimilaritäts-Matrix als Berechnungsgrundlage durchgeführt (Bray und Curtis 1957). Die Varianzanalyse erfolgte mit Hilfe einer permutierten MANOVA (permutational multivariate analysis of variance, PerMANOVA) und der adonis2-Funktion des VEGAN-Pakets (Anderson 2001). Die Anzahl der Permutationen wurde auf 10 000 gesetzt.

Zum anderen erfolgte die Berechnung der β -Diversitäten mit Hilfe des Jaccard-Index (Jaccard 1902). Dieser erfolgte mit dem CMM als Grundlage der Berechnungen. Hier erfolgt die Analyse der β -Diversität durch Vergleich der Ähnlichkeiten mittels der An- oder Abwesenheit von Bakterien.

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

Bei einer Normalverteilung wurde zur intraindividuellen Analyse zu zwei Zeitpunkten der gepaarte Student's T-Test verwendet. Bei nicht normalverteilten Daten fand der Wilcoxon-Vorzeichen-Rangtest Anwendung.

Werte von $p < 0,05$ wurden als statistisch signifikant betrachtet.

III Ergebnisse

Im Folgenden werden, sofern nicht explizit erwähnt, nur die Probanden der BFU-ParoSubkohorte dargestellt, bei denen zu beiden Untersuchungszeitpunkten Daten erhoben wurden.

III.1 Charakterisierung der Kohorte

In der BFU-ParoSubkohorte wurden 13 Probanden vor und 14 Wochen (durchschnittliche Zeit von 98,8 Tagen) nach Beginn einer spezifischen Anti-Zytokin Therapie mit verschiedenen Biologicals untersucht (siehe Tabelle 1). Die Kohorte besteht zu 30,8 % aus männlichen Probanden, das heißt dass vier männliche und neun weibliche Personen die BFU-ParoSubkohorte bilden. Die Studienteilnehmer waren im Median 48 Jahre alt und die Gruppe besteht zu 38,5 % aus Rauchern. Dementsprechend waren fünf Probanden Raucher und acht Nicht-Raucher. Dies verändert sich über den Untersuchungszeitraum nicht ($p=1$).

Die Probanden der Kohorte litten an verschiedenen chronisch inflammatorischen Erkrankungen. Die meisten Studienteilnehmer, das heißt insgesamt acht von ihnen, litten an einer rheumatoiden Arthritis, fünf an einer Psoriasis oder Psoriasis Arthritis, drei an einer chronisch entzündlichen Darmerkrankung, davon zwei an einem Morbus Crohn und ein Proband an einer Colitis Ulcerosa. Zudem litt ein Proband an Spondylitis ankylosans. Vier Probanden haben mehr als eine, nämlich genau zwei bekannte chronisch inflammatorische Erkrankungen. Alle diese vier Probanden haben eine rheumatoide Arthritis, drei von ihnen zusätzlich noch eine Psoriasis bzw. Psoriasis Arthritis, ein Proband eine Colitis Ulcerosa.

Es kamen verschiedene Anti-Zytokine als Therapie zum Einsatz. So erhielten insgesamt sieben Probanden eine Therapie mit TNF- α -Antagonisten. Bei zwei Probanden kam Infliximab (Remicade®), bei einem Probanden Golimumab (Simponi®), bei einem weiteren Probanden Certolizumab (Cimzia®) und bei drei weiteren Studienteilnehmern Adalimumab (Humira®) zum Einsatz. Drei der sechs Probanden mit einer Anti-TNF- α -Therapie litten an einer rheumatoiden Arthritis, zwei an einem Morbus Crohn, ein Teilnehmer war an einer Colitis Ulcerosa erkrankt und ein Proband an einer Spondylitis ankylosans.

Sechs weitere Probanden erhielten im Studienverlauf einer Therapie mit verschiedenen IL-Antagonisten. Ein Proband mit einer rheumatoiden Arthritis erhielt Tocilizumab (RoActemra®) als Anti-IL6 Therapie. Zwei weitere Probanden mit einer rheumatoiden Arthritis und einer Psoriasis wurden mit Ustekinumab (Stelara®) als Anti-IL12/23 therapiert. Zudem kamen bei drei Probanden Secukinumab (Cosentyx®) als Anti-IL17 Therapie zum Einsatz. Alle drei litten an einer rheumatoiden Arthritis und einer Psoriasis bzw. Psoriasis Arthritis.

Tabelle 1: Charakterisierung der Kohorte

BFU-ParoSubkohorte				
		U1	U2	P
	Probanden [n]	13	13	-
	Frauen [%]	69,2	69,2	-
	Alter [J]	48 (38-57)	48 (38-57)	1 ^a
	Raucher [%]	38,5	38,5	1 ^b
CID [n]*	Rheumatoide Arthritis	8	8	-
	Psoriasis/Psoriasis Arthritis	5	5	-
	Chronisch entzündliche Darmerkrankung	3	3	-
	Spondylitis ankylosans	1	1	-
Biologicals [n]	Anti-TNF-α	6	7	-
	Anti-IL-17	3	3	-
	Anti-IL-12/IL-23	2	2	-
	Anti-IL-6	1	1	-
Parodontaler Status	Bleeding On Probing [%]	16,1 (9,3-21,0)	13,0 (7,3-30,4)	0,6 ^a
	ST/ Zahn [mm]	2,0 (1,9-2,3)	2,0 (1,9-2,2)	0,5 ^a
	DMFT	1,4 (0,6-1,6)	1,3 (0,6-1,5)	0,9 ^a
Probenentnahme	ST; klinisch gesunde Tasche	2,0 (1,0-2,0)	2,0 (1,0-2,0)	0,3 ^c
	ST; tiefste Tasche	4,5 (4,0-5,0)	4,0 (4,0-5,0)	0,2 ^c

Charakterisierung der Kohorte. Daten werden als Anzahl der Probanden (n), Prozente (%), Millimeter (mm), Jahre (J) und Mediane mit Interquartilabstand angegeben; U1: 1. Untersuchung; U2: 2.Untersuchung 14 Wochen nach Beginn der Anti-Zytokin Therapie; * Mehrere Diagnosen pro Proband möglich. ^a Paired Student's t-test, ^b χ^2 -Test and ^c Wilcoxon signed-rank test; CID: *chronic inflammatory disease*, ST: Sulkustiefe, DMFT-Index: *Decayed Missed Filled Teeth*-Index

Der parodontale Status zeigte einen Bleeding on Probing Index von 16,1 % im Median bei der ersten Untersuchung. 14 Wochen nach Beginn der Anti-Zytokin Therapie zeigte er sich mit

einem Median von 13 % nicht signifikant erniedrigt ($p=0,6$). Die Ermittlung der Sulkustiefen zeigte einen Median von 2,0 mm jeweils zu beiden Untersuchungszeitpunkten. Der Decayed Missed Filled Teeth Index nahm zu beiden Zeitpunkten der Untersuchung einen medianen Wert von 1,3 an.

Die Entnahme der Mikrobiomproben erfolgte zum einen aus klinisch gesunden parodontalen Taschen. Diese zeigten eine mediane Sulkustiefe von 2,0 mm, sowohl vor als auch 14 Wochen nach Beginn der Anti-Zytokin Therapie. Zum anderen erfolgte die Entnahme der Sulkusflüssigkeit aus den klinisch tiefsten gemessenen parodontalen Taschen der Probanden, deshalb wurde zuvor der jeweils höchste Wert der Sulkustiefen-Messung des Probanden ermittelt. Dort erfolgte dann in der Folge die Probeentnahme. In diesen tiefsten gemessenen Taschen der Probanden zeigten sich im Median Sulkustiefen von 4,5 mm bei der ersten und 4,0 mm bei der zweiten Untersuchung der Probanden.

III.2 Analysen des Mikrobioms auf Phylumbene

III.2.1 Das Core Measurable Microbiome

Das Core Measurable Microbiome, also das Kernmikrobiom der Proben, umfasst 257 OTUs und machte in den meisten Proben etwa 80% des Mikrobioms aus (Abbildung 4a und b). Das CMM diente als Basis zur Berechnung der relativen Abundanzen und des Jaccard Index (β -Diversität).

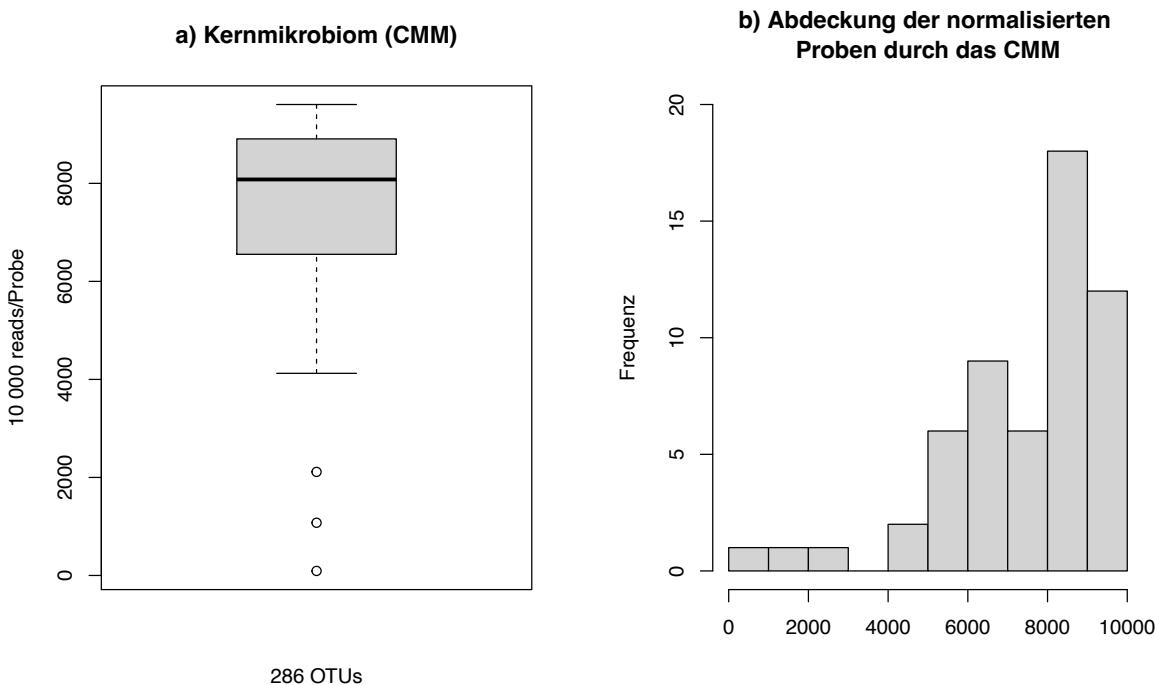


Abbildung 4: a) Boxplot des Kernmikrobioms (CMM) bezogen auf die auf 10000 Sequenzen pro Probe normalisierten Daten der 16S rRNA Analyse. b) Histogramm der Frequenz des CMM bezogen auf die 10000 Sequenzen jeder Probe (x-Achse)

III.2.2 Relative Abundanzen

Die Berechnung der relativen Abundanzen erfolgte auf Phylumbene mit dem Core Measurable Microbiome und zeigte die im Folgenden erläuterten Ergebnisse.

Die relativen Abundanzen des entnommenen Mikrobioms der parodontalen Taschen, also der klinisch gesunden, der tiefsten und einer bei visueller Kontaminierung zusätzlich entnommenen Proben sind für beide Untersuchungszeitpunkte zusammengenommen in Abbildung 5a dargestellt. Die zusätzlichen Proben wurde alle zum zweiten Zeitpunkt entnommen. Es handelt sich hier insgesamt um vier Proben. Die Actinobacteria kommen in den Proben am häufigsten vor. Sie sind in den klinisch gesunden Taschen zu 36,4 %, in den tiefsten Taschen zu 30,6 % und in den zusätzlich entnommenen Proben zu 31,9 % vertreten. Das zweithäufigste Phylum sind die Firmicutes mit 26,1 % in den klinisch gesunden Taschen und 25,4% in den tiefsten gemessenen Taschen der Probanden. In den zusätzlich entnommenen Proben sind sie mit 14,9 % die vierthäufigste der Phyla der Proben. Hier sind mit 15,2 % die Spirochäten am zweithäufigsten vertreten und mit 15,1 % die Proteobacteria am dritthäufigsten vertreten.

Spirochäten sind wiederrum zu 8,5 % in den tiefsten gemessenen Taschen und zu 0,6 % in den klinisch gesunden Taschen vertreten. Proteobakterien machen in den Proben der klinisch gesunden Taschen anteilig 19,6 % aus. In den tiefsten Taschen sind des nur 12,4 % und in den tiefsten parodontalen Taschen 12,7%. Die Bacteroidetes kommen in allen Proben etwa gleichhäufig vor. Sie sind in 13,2 % der klinisch gesunden Taschen, in 14,1 % der tiefsten parodontalen Taschen der Probanden und 12 % der zusätzlich entnommenen Proben vorhanden. Fusobakterien sind in den zusätzlichen entnommenen Proben mit 8,5 % anteilig ähnlich häufig wie in den tiefsten parodontalen Taschen (6,2 %) vertreten. In den klinisch gesunden Parodontaltaschen kommen sie nur zu 2,9 % vor. Die unbekannten Phyla („Unknown Phyla“) machen in den klinisch gesunden Taschen einen Anteil von 0,6 % aus, in den tiefsten parodontalen Taschen einen Anteil von 1,4 %. In den zusätzlichen Proben machen sie einen relativen Anteil von 1,1 % des Mikrobioms aus. Alle anderen in der Grafik aufgeführten Phyla, also die Candidatus Saccharibacteria, SR1, Synergistetes und Verrucomicrobia sind mit einer relativen mittleren Abundanz von unter einem Prozent in den jeweiligen Proben vertreten.

Abbildung 5b zeigt die relativen Abundanzen des CMM für alle Taschen zusammengenommen, auch für die zusätzlich entnommenen Taschen – jeweils im Vergleich zwischen der ersten und zweiten Untersuchung. Es zeigen sich bei der zweiten Untersuchung verminderte Actinobacteria. Bei der ersten Untersuchung zeigen sie einen Anteil von 35,3 %, bei der zweiten Untersuchung von 32,0 %. Die Actinobacteria sind damit die am Häufigsten vertretenden Phyla des gesamten oralen Microbioms zu beiden Zeitpunkten. Der Bacteroidetes-Anteil nimmt bei der zweiten Untersuchung anteilig um 0,4 Prozentpunkte auf 13,7 % ab, der Firmicutes-Anteil nimmt bei den gleichen Untersuchungen insgesamt anteilig von 24,5 % auf 25,8 % zu. Die Firmicutes sind somit das zweithäufigste Phylum des oralen Gesamt mikrobioms der vorliegenden Proben zu beiden Zeitpunkten. Bei der zweiten Untersuchung zeigten sich zudem mit 14,2 % insgesamt weniger Proteobakterien als bei der ersten Untersuchung 18,5 %. Der Anteil der Spirochäten nimmt von 2,7 % bei der ersten Untersuchung auf 6,8 % bei der zweiten Untersuchung zu. Die Fusobakterien machen einen annähernd gleichen Anteil am Mikrobiom aus (4,1 % bei der ersten und 5,1 % bei der zweiten Untersuchung). Die unbekannten Phyla („Unknown Phyla“) machen bei der ersten Untersuchung zudem einen Anteil von 0,7 % und bei der zweiten Untersuchung von 1,2% aus. Die weiteren in der Grafik aufgeführten Phyla zeigen, analog zur Abbildung 5a, alle eine relative mittlere Abundanz von unter einem Prozent.

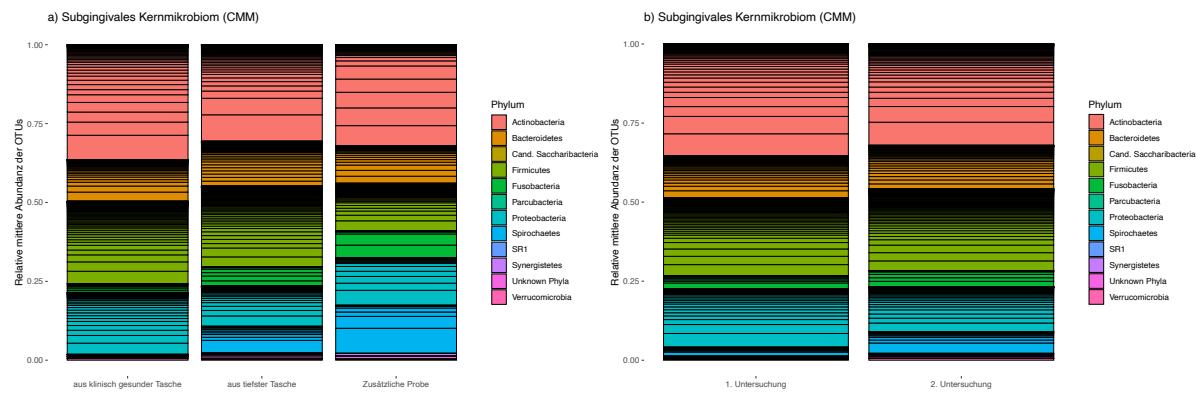


Abbildung 5: Relative Abundanzen a) aller subgingivalen Taschen bei beiden Untersuchungszeitpunkten zusammengenommen und b) aller subgingivalen Taschen bei der ersten und der zweiten Untersuchung, also 14 Wochen nach Beginn der Anti-Zytokin Therapie. Die abgebildeten Querstriche trennen die auftretenden OTUs voneinander.

Es erfolgte zudem die Untersuchung der relativen Abundanzen für die klinisch gesunden und tiefsten Taschen der Probanden getrennt, jeweils zur ersten und zweiten Untersuchung.

Die relativen Abundanzen der klinisch gesunden parodontalen Taschen (Abbildung 6a) zeigen bei der ersten Untersuchung, vor Beginn der Anti-Zytokin Therapie, eine relative mittlere Abundanz der Actinobakterien von 41,5 %. Den zweithäufigsten Anteil machen die Firmicutes mit 25,0 % aus. Proteobakterien sind zu 20,5 %, die Bacteroidetes zu 9,7 % und Fusobakterien zu 2,3 % vertreten. 14 Wochen nach Beginn der spezifischen Anti-Zytokin Therapie zeigt sich ein verringrigerter Anteil der Actinobakterien (33,9 %). Die Firmicutes sind mit 31,6 %, die Proteobakterien mit 20,8 % und die Bacteroidetes mit 12,1 % vertreten. Die Fusobakterien machen eine relative mittlere Abundanz von 3,2 % aus. Die weiteren in der Grafik aufgeführten Phyla, einschließlich der unbekannten Phyla, bilden zu beiden Untersuchungszeitpunkten einen Anteil von unter einem Prozent am Mikrobiom.

Die relativen mittleren Abundanzen der Proben aus den tiefsten parodontalen Taschen sind in Abbildung 6b dargestellt. Actinobakterien machen mit 33,4 % bei der ersten Untersuchung und 30,0 % den größten Anteil der Phyla aus. Firmicutes machen zu beiden Untersuchungszeitpunkten mit 29,7 % beziehungsweise 26,8 % bei der zweiten Untersuchung den zweithäufigsten Anteil der Phyla aus. Der Anteil der Bacteroidetes nimmt von 8,8 % bei der ersten Untersuchung auf 13,1 % bei der zweiten Probenentnahme zu. Fusobakterien treten

ähnlich häufig auf, nämlich bei der ersten Untersuchung mit einem Anteil von 6,9 % und bei der zweiten Untersuchung mit einem Anteil von 6,6 %. Proteobakterien sind bei der ersten Untersuchung mit 20,3 % anteilig deutlich häufiger vertreten als bei der zweiten Untersuchung, bei der sie 8,9 % der relativen mittleren Abundanz der Proben ausmachen. Spirochäten sind in der ersten Untersuchung in keiner der Proben der tiefsten gemessenen Taschen zu finden, bei der zweiten Probenentnahme 14 Wochen nach Beginn der Anti-Zytokin Therapie machen sie einen Anteil von 11,1 % aus. Die restlichen in der Grafik aufgeführten Phyla machen einen Anteil von jeweils unter einem Prozent aus, mit Ausnahme der unbekannten Phyla zum zweiten Untersuchungszeitpunkt, die einen Anteil von 1,9 % der relativen mittleren Abundanz ausmachen.

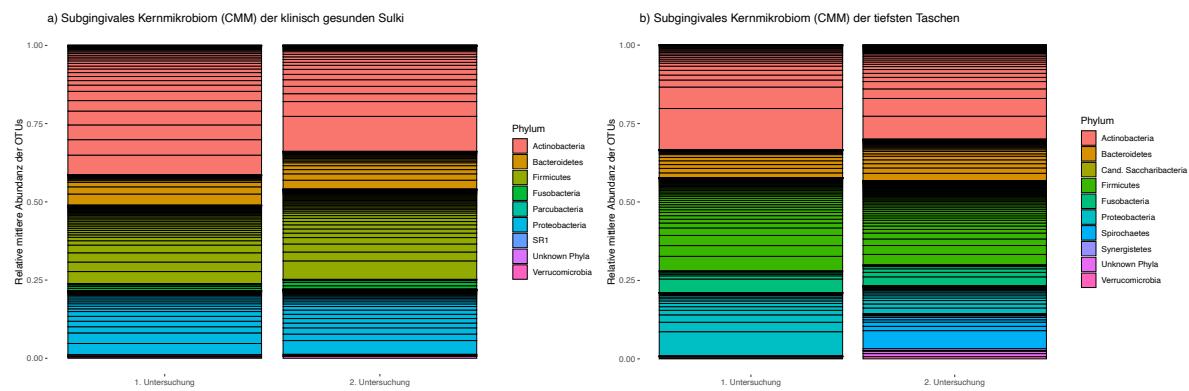


Abbildung 6: relative Abundanzen der a) klinischen gesunden und b) tiefsten Taschen jeweils bei der ersten und zweiten Untersuchung. Die abgebildeten Querstriche trennen die auftretenden OTUs voneinander.

III.2.3 Firmicutes und Bacteroidetes

Die Analyse der Abundanzen der Firmicutes und Bacteroidetes erfolgte auf Phylumbene. Die Analysen der Firmicutes und Bacteroidetes bezüglich der parodontalen Taschen (Tabelle 2) sowie im Vergleich der ersten und zweiten Untersuchung (Tabelle 3) blieben stets hinter dem Signifikanzniveau zurück. Auch der Vergleich der Firmicutes-Bacteroidetes-Ratio zeigte keine signifikanten Unterschiede in Bezug auf die parodontalen Taschen oder auf Veränderungen im Vergleich der Zeitpunkte der Untersuchungen.

Tabelle 2: Firmicutes und Bacteroidetes: Vergleich der Untersuchungszeitpunkte

	Klinisch gesunde Tasche (U1)	Klinisch gesunde Tasche (U2)	P ¹	Tiefste Tasche (U1)	Tiefste Tasche (U2)	P ²
Firmicutes	1968 (1242-2837)	2515 (1894-3638)	0,5 ^a	1724 (1198-3165)	2200 (1260-2678)	0,7 ^b
Bacteroidetes	1157 (948-1789)	1259 (989-1773)	1 ^a	1550 (610-2268)	1736 (598-2818)	0,6 ^a
F/B-Ratio	1,7	2,0	0,6 ^a	1,6	1,4	0,7 ^b

Tabelle 3: Firmicutes und Bacteroidetes: Vergleich der Sulkusflüssigkeiten der parodontalen Taschen

	Klinisch gesunde Tasche (U1)	Tiefste Tasche (U1)	P ³	Klinisch gesunde Tasche (U2)	Tiefste Tasche (U2)	P ⁴
Firmicutes	1968 (1242-2837)	1724 (1198-3165)	0,7 ^b	2515 (1894-3638)	2200 (1260-2678)	0,7 ^b
Bacteroidetes	1157 (948-1789)	1550 (610-2268)	0,3 ^a	1259 (989-1773)	1736 (598-2818)	0,5 ^a
F/B-Ratio	1,7	1,6	0,8 ^b	2,0	1,4	0,3 ^b

Firmicutes und *Bacteroidetes* sowie Ratio aus *Firmicutes* und *Bacteroidetes* (*F/B-Ratio*). Daten werden als Mediane und Interquartilabstand angegeben. P-Werte aus Analysen der Zeitpunkte vor und nach Beginn der Therapie jeweils für die klinisch gesunde parodontale Tasche (P¹) und die tiefste Tasche des Probanden (P²) sowie aus Vergleich der parodontalen Taschen jeweils zum Zeitpunkt vor (P³) und Zeitpunkt nach Beginn der Anti-Zytokin Therapie (P⁴); U1: 1. Untersuchung; U2: 2.Untersuchung 14 Wochen nach Beginn der Anti-Zytokin Therapie; ^a Paired Student's t-test, ^b Wilcoxon signed-rank test

Auch der Vergleich zwischen schlanken und übergewichtigen (BMI>25 kg/m²) blieb für alle Vergleiche der Zeitpunkte und parodontalen Taschen hinter dem Signifikanzniveau zurück (p>0,05).

III.3 Diversitäten

III.3.1 α -Diversitäten

Die Analyse der α -Diversität erfolgte mittels der Berechnung der Species Richness, des Shannon diversity index (Shannon Diversitäts Index) und des Chao1 Index auf OTU-Ebene.

III.3.1.1 Veränderte α -Diversitäten in den tiefsten parodontalen Taschen der Probanden nach Beginn der Anti-Zytokin-Therapie

Die Analyse der α -Diversitäten der OTUs zeigte keine signifikanten Änderungen der Species Richness (Abbildung 7a) sowie des Shannon (Abbildung 7b) und des Chao1 Index (Abbildung 7c), sowohl im Vergleich der Diversitäten der Taschen untereinander als auch der Untersuchungszeitpunkte.

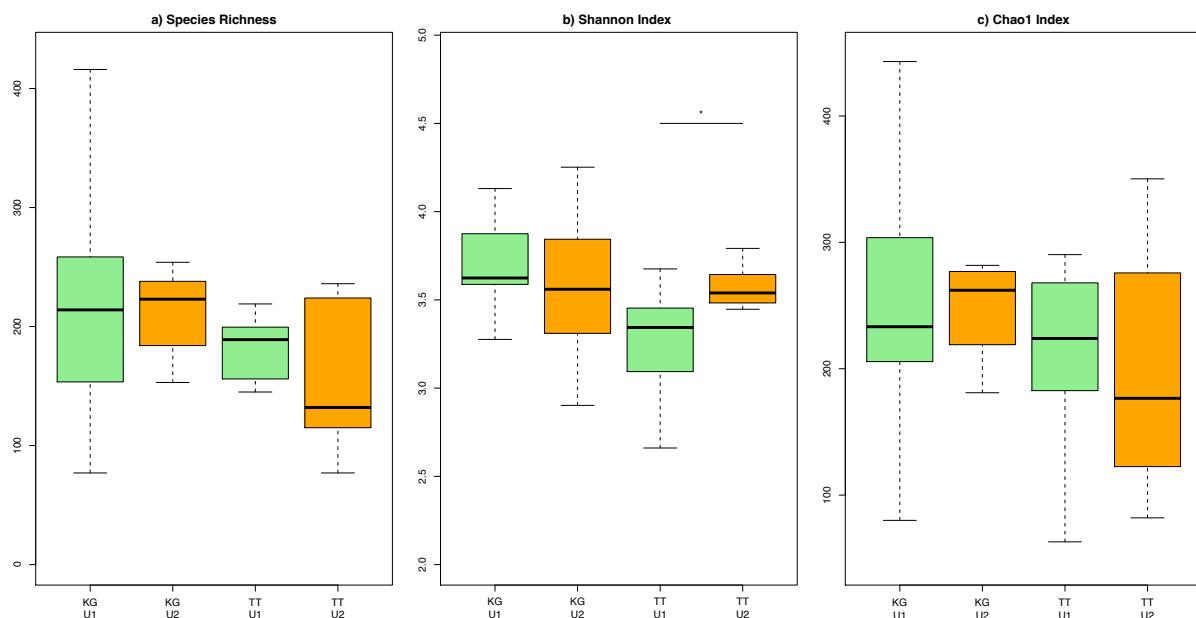


Abbildung 7: α -Diversitäten als a) Species richness, b) Shannon Index und c) Chao1 Index für klinisch gesunde (grüne) und tiefste gemessene parodontale Tasche (orange) aller Probanden jeweils für die erste („U1“) und zweite Untersuchung („U2“). KG: Klinisch gesunder Sulkus, TT: Tiefe Tasche U1: 1. Untersuchung; U2: 2.Untersuchung, 14 Wochen nach Beginn der Anti-Zytokin Therapie

Die Analyse der α -Diversität zeigt eine signifikante Steigerung des Shannon Index der tiefsten gemessenen parodontalen Taschen der Probanden im Vergleich zwischen der ersten und

zweiten Untersuchung, 14 Wochen nach Beginn der Anti-Zytokin Therapie ($p=0,039$). Alle weiteren Analysen blieben hinter dem Signifikanzniveau zurück ($p>0,05$).

Abbildung 8 zeigt, den ermittelten Unterschied des Shannon Index für die klinisch gesunden und die tiefsten gemessenen parodontalen Taschen, aufgeschlüsselt für die einzelnen Probanden anhand eines Spaghetti-Plots. Hier zeigt sich, mit einer Ausnahme, bei allen Probanden eine Zunahme der α -Diversität im Sinne des Shannon Index in den Proben, welche aus den tiefsten parodontalen Taschen der Probanden entnommen wurden, festzustellen ist.

Die einzige Probe, die eine Abnahme der α -Diversität zeigt, ist die einer tiefen Tasche zeigt einer 57-jährige weiblichen Probandin, die eine Therapie mit Adalimumab bei einem Morbus Bechterew erhielt und sich zum zweiten Untersuchungszeitpunkt in Remission befand. Die α -Diversität (Shannon-Index) der klinisch gesunden Tasche zeigt jedoch eine Zunahme von 3,6 bei der ersten Untersuchung und 4,3 bei der zweiten Untersuchung. Zu beachten ist, dass diese Probandin, eine der vier Teilnehmerinnen ist, bei der zur zweiten Untersuchung eine zusätzliche Probe entnommen wurde, da die erste Probe der tiefen Tasche visuell eine Kontamination mit Blut aufwies. Die zweite Probe wurde wie die erste Probe vom Zahn 21 entnommen. Die erste Probe von mesio-palatinal, die zweite Probe von disto-palatinal. Beide Taschen wiesen eine identische Sulkustiefe von 5 mm und einen AV von 1 mm auf. Vergleicht man den Shannon Index der Probe aus der tiefen Tasche bei der ersten Untersuchung (Shannon Index = 3,5) mit dem Wert aus der zusätzlich entnommenen Probe (Shannon Index = 3,11) sowie dem Shannon Index aus der ursprünglichen, aber kontaminierten Probe (Shannon Index = 3,13) zeigt sich ein sehr ähnlicher Shannon Index, welcher sich erst in der zweiten Nachkommastelle unterscheidet.

Die extremste Zunahme des Shannon Index in den tiefsten gemessenen Taschen der Probanden zeigt eine 65-jährige Probandin mit Ustekinumab-Therapie. Die Anti-Zytokin Therapie erfolgte aufgrund einer Psoriasis, die sich zum zweiten Untersuchungszeitpunkt in Remission befand.

Erstgenannte Probandin zeigt vor Beginn der Therapie den niedrigsten Shannon Index für die tiefsten parodontalen Taschen der Kohorte mit einem Shannon Index von 2,19. 14 Wochen nach Beginn der Therapie konnte für die Probe eine α -Diversität im Sinne des Shannon Index von 4,08 bestimmt werden.

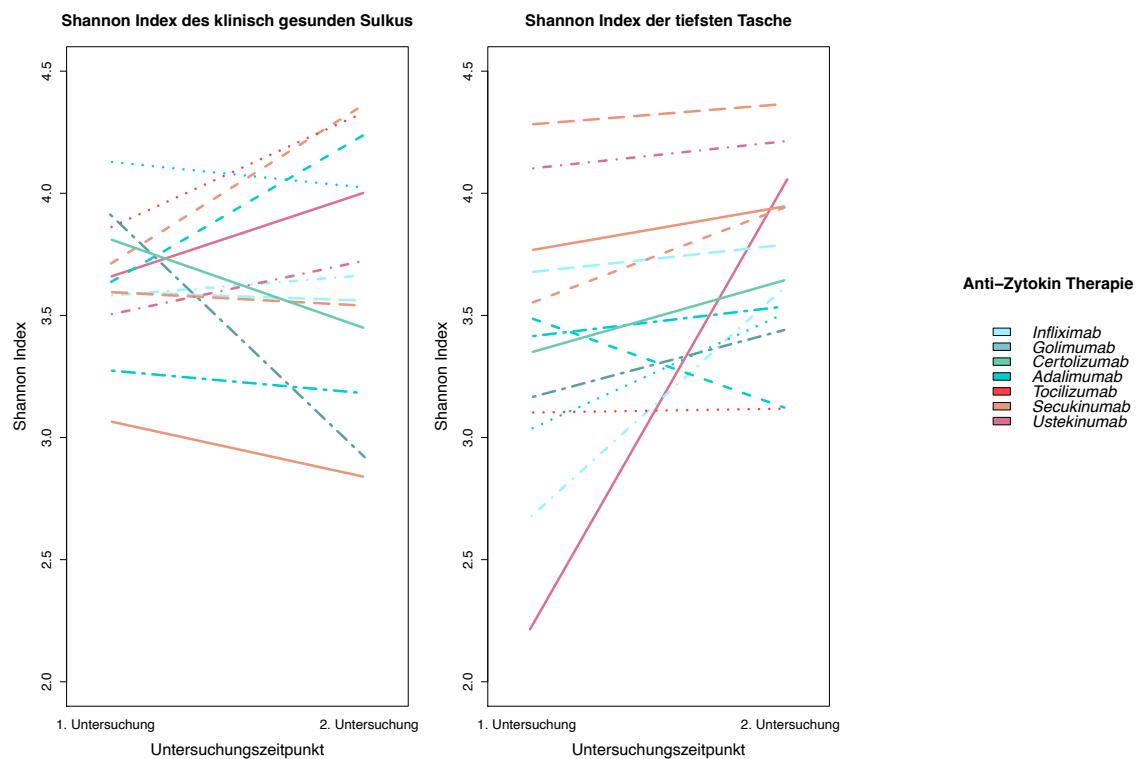


Abbildung 8: Shannon Index (Spaghetti-Plots) der Probanden für die erste und zweite Untersuchung für a) die klinisch gesunden Taschen und b) die tiefsten gemessenen Taschen der Probanden. Aufgeteilt nach eingesetzter Anti-Zytokin Therapie.

Die Analyse der α -Diversitätsindices der Probanden mit Anti-TNF- α Therapie blieb stets hinter dem Signifikanzniveau ($p= 0,05$) zurück (Abbildung 9a-c).

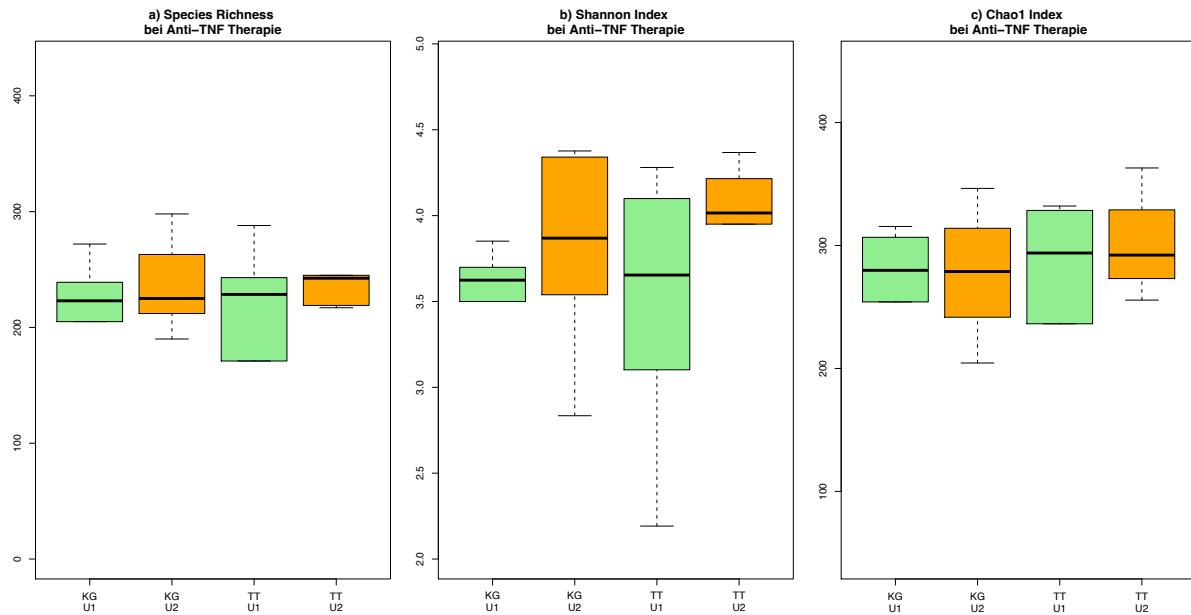


Abbildung 9: a) Species Richness, b) Shannon Index und c) Chao1 Index für klinisch gesunde (grüne) und tiefste gemessene parodontale Tasche (orange) aller Probanden mit Anti-TNF- α Therapie jeweils für die erste („U1“) und zweite Untersuchung („U2“). KG: Klinisch gesunder Sulkus, TT: Tiefe Tasche U1: 1. Untersuchung; U2: 2.Untersuchung 14 Wochen nach Beginn der Anti-Zytokin Therapie

Die Analyse der α -Diversitäten der Probanden mit spezifischer Anti-IL Therapie blieb ebenfalls stets hinter dem Signifikanzniveau ($p=0,05$) zurück (Abbildung 10a-c). Es zeigte auch hier eine Steigerung des Shannon Index der tiefsten parodontalen Taschen im Vergleich der ersten und zweiten Untersuchung, nach Beginn der Therapie.

Auch die Analyse der α -Diversitäten der Probanden mit spezifischer Anti-IL-17 Therapie mit Secukinumab ($n=3$, alle mit einer rheumatoiden Arthritis) blieb hinter dem Signifikanzniveau ($p=0,05$) zurück.

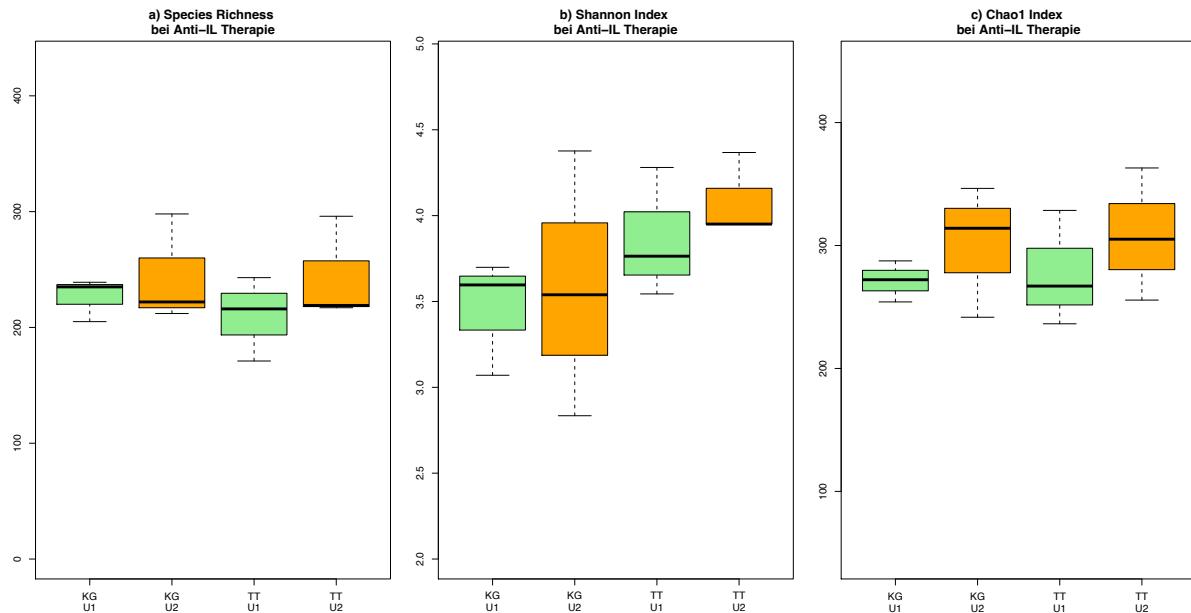


Abbildung 10: a) Species Richness, b) Shannon Index und c) Chao1 Index für klinisch gesunde (grüne) und tiefste gemessene parodontale Tasche (orange) aller Probanden mit verschiedenen IL-Antagonisten jeweils für die erste („U1“) und zweite Untersuchung („U2“). KG: Klinisch gesunder Sulkus, TT: Tiefe Tasche U1: 1. Untersuchung; U2: 2.Untersuchung, 14 Wochen nach Beginn der Anti-Zytokin Therapie

III.3.2 β -Diversitäten

III.3.2.1 Veränderung der β -Diversität der parodontalen Taschen nach Beginn der Anti-Zytokin Therapie

Bei Vergleich der β -Diversitäten vor und nach Beginn der Anti-Zytokin Therapie zeigte sich, dass Änderungen der Varianz der Diversität bei Betrachtung der klinisch gesunden und tiefsten Tasche und der zusätzlich entnommenen Proben als Gesamtmikrobiom (Abbildung 11a und b; Principal Coordinates Analyse der Bray-Curtis Unterschiede: $p=0,5$; $R^2=1,8\%$ und des Jaccard-Index: $p=0,3$; $R^2=2,0$) nicht durch die unterschiedlichen Untersuchungszeitpunkte vor und nach Beginn der Therapie erklärt werden konnten.

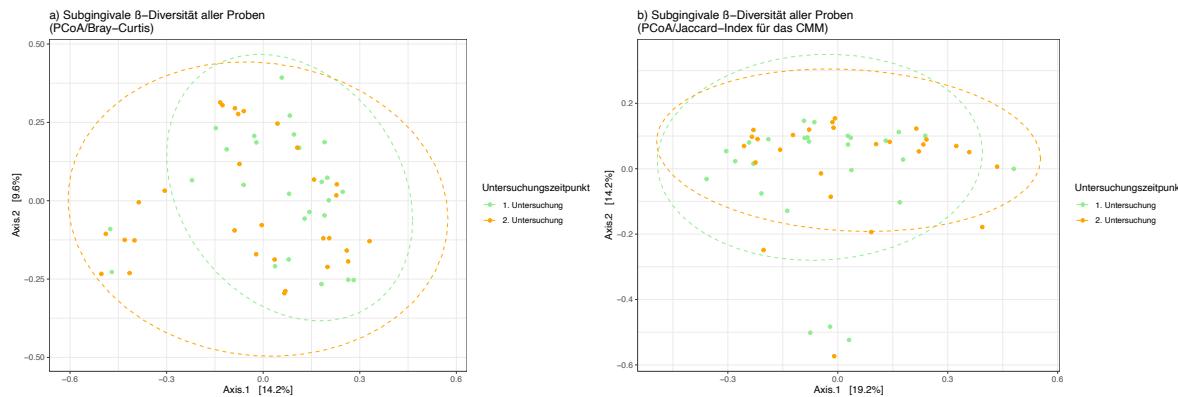


Abbildung 11: Principal Coordinates Analysis a) der Bray-Curtis-Indizes und b) des Jaccard Index für alle Taschen zusammen. Der erste Untersuchungszeitpunkt ist in grün dargestellt, der zweite Zeitpunkt, nach Beginn der Anti-Zytokin Therapie, jeweils in orange.

Bei Unterscheidung zwischen den klinisch gesunden Taschen zeigte sich, dass die Principal Coordinates Analyse des Jaccard-Index die Varianz der β -Diversitäten erklären konnte (Abbildung 12b; $p<0,001$; $R^2=11,7$), die Analyse mit der Principal Coordinates Analyse der Bray-Curtis Unterschiede aber nicht (Abbildung 12; $p=1$; $R^2=2,9\%$).

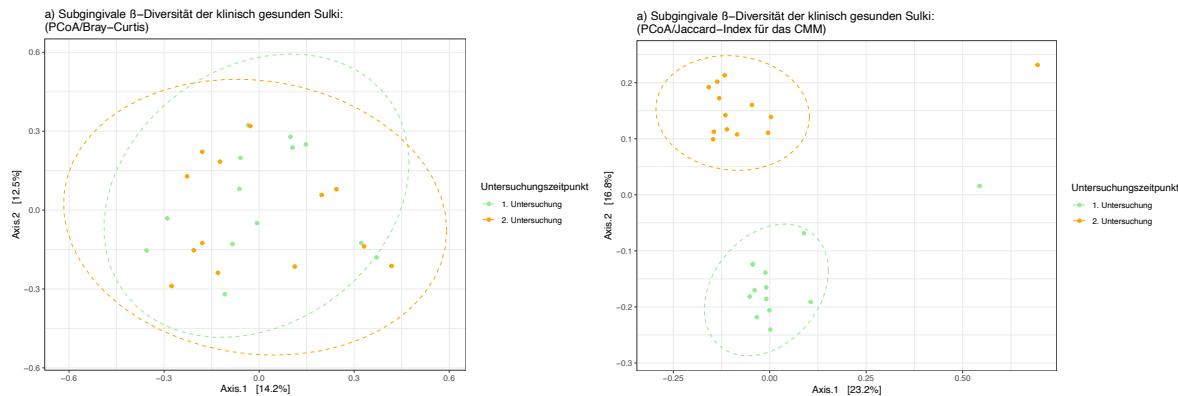


Abbildung 12: Principal Coordinates Analysis a) der Bray-Curtis-Indizes und b) des Jaccard Index für die Proben aus den klinisch gesunden Taschen. Der erste Untersuchungszeitpunkt ist in grün dargestellt, der zweite Zeitpunkt, nach Beginn der Anti-Zytokin Therapie in orange.

Ähnliches zeigte sich auch für die Analyse der tiefsten Taschen der Probanden. Auch hier zeigte sich, dass die Principal Coordinates Analyse des Jaccard Index die Varianz der β -Diversitäten erklären konnte (Abbildung 13b; $p<0,001$; $R^2=12,7$), die Analyse mit der Principal Coordinates Analyse der Bray-Curtis Unterschiede aber nicht (Abbildung 13a; $p=0,8$; $R^2=3,5\%$).

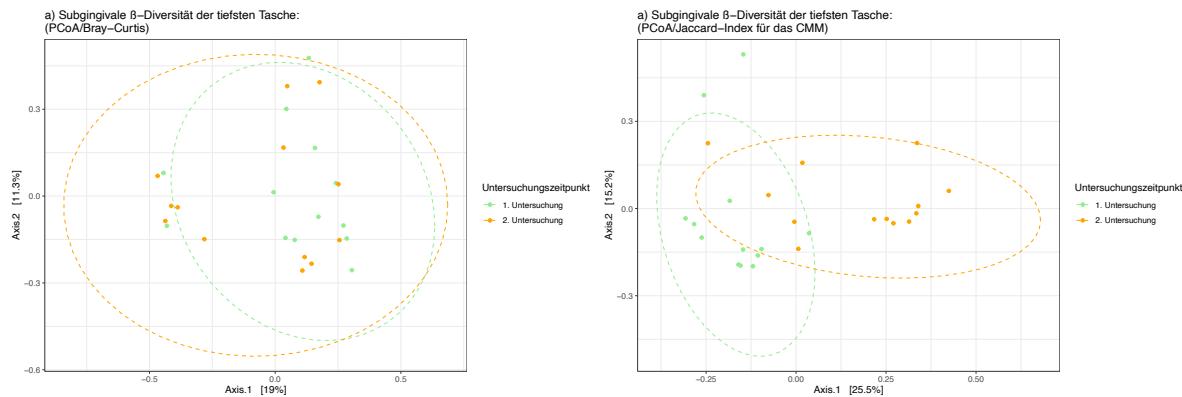


Abbildung 13: Principal Coordinates Analysis a) der Bray-Curtis-Indizes und b) des Jaccard Index für die Proben aus den klinisch tiefsten, gemessenen Taschen der Probanden. Der erste Untersuchungszeitpunkt ist in grün dargestellt, der zweite Untersuchungszeitpunkt in orange.

III.3.2.2 Unterschiedliche β -Diversität der klinisch gesunden und tiefsten parodontalen Taschen

Die Analyse der subgingivalen β -Diversität mit Hilfe einer Principal Coordinates Analysis des Bray-Curtis Dissimilaritätsindex zeigte, dass die Varianz der Beta-Diversitäten der klinisch gesunden und der tiefsten Tasche, sowie der zusätzlich entnommenen Proben, mit Hilfe des Modells gut erklärt werden können (kumulative Varianz der ersten beiden Achsen: $14,2\%+9,6\%=23,8\%$; $p=0,003$; Bestimmtheitsmaß $R^2=5,1\%$; Abbildung 14).

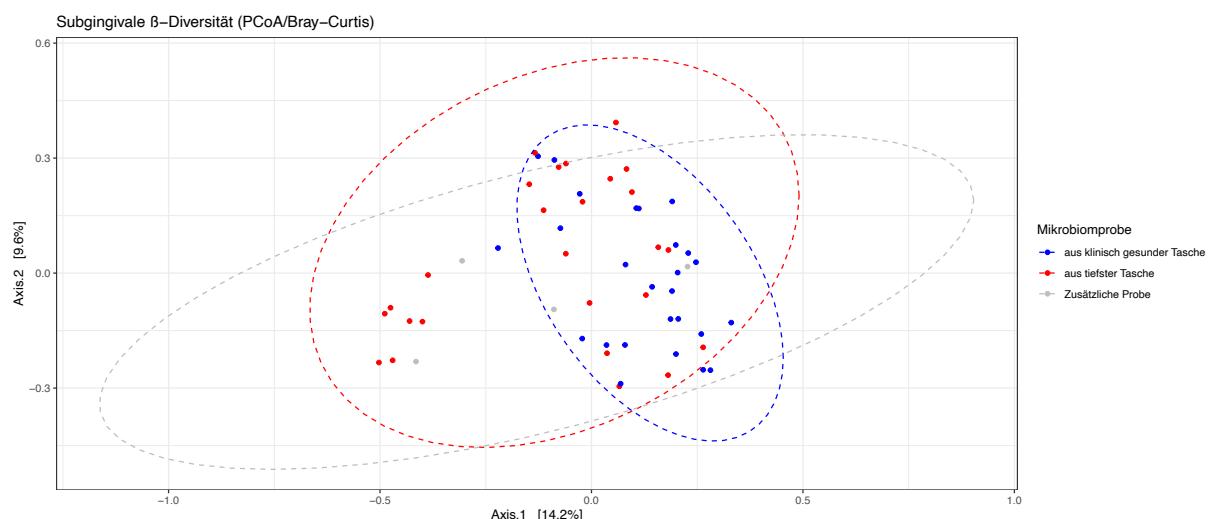


Abbildung 14: Principal Coordinates Analysis der Bray-Curtis Indizes für die klinisch gesunden parodontalen Taschen (blau), die tiefsten gemessenen Taschen (rot) der Probanden, sowie die zusätzlich entnommenen Proben (grau).

Bei der Analyse der β -Diversitäten der Sulkusflüssigkeiten der Probanden zu dem Zeitpunkt vor Beginn der Anti-Zytokin Therapie ($p=0,2$ und $R^2=4,7\%$; Abbildung 15a) und nach Beginn der spezifischen Therapie ($p=0,03$ und $R^2=5,4\%$; Abbildung 15b) zeigten sich für beide Zeitpunkte unterschiedliche β -Diversitäten der parodontalen Taschen. Diese erreichte nach Beginn der Anti-Zytokin Therapie das Signifikanzniveau. Abbildung 16a und b sowie 17a und b zeigen die Phyla der entsprechenden β -Diversitäten.

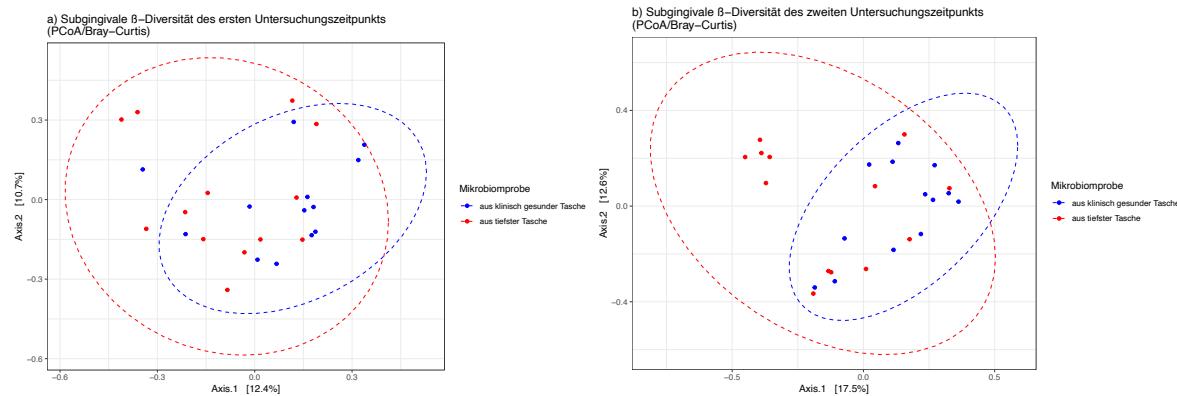
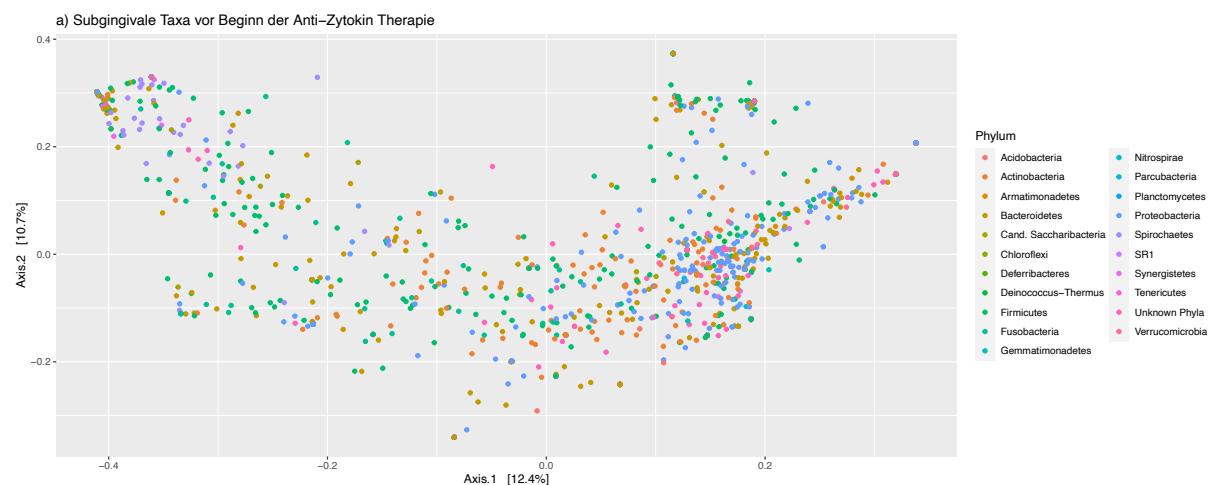


Abbildung 15: Principal Coordinates Analysis der Bray-Curtis-Indizes für die klinisch gesunden parodontalen Taschen (blau), die tiefsten gemessenen Taschen (rot) der Probanden zum Zeitpunkt a) vor Beginn der Anti-Zytokin Therapie und b) 14 Wochen nach Beginn der Anti-Zytokin-Therapie.



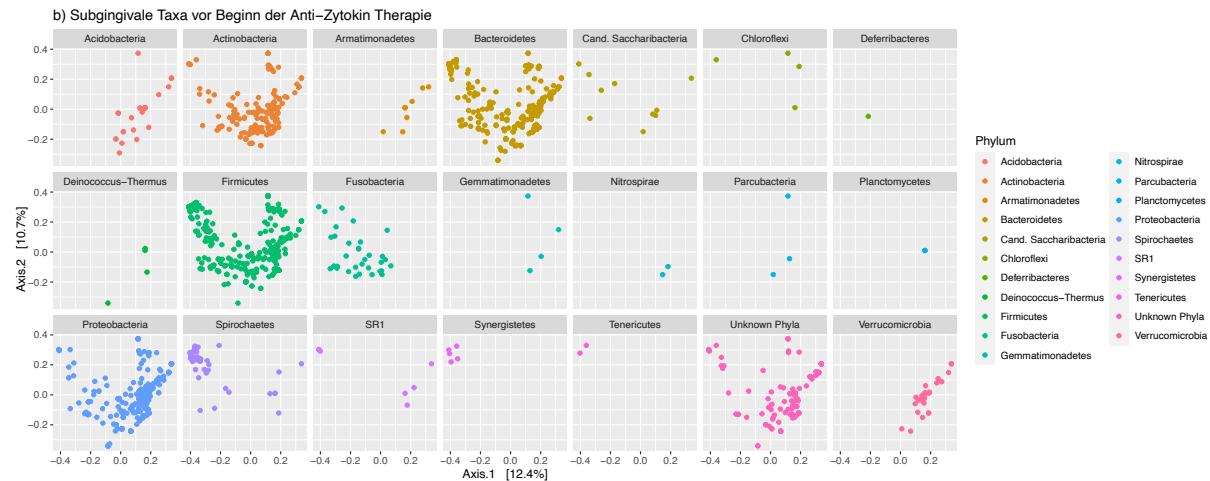


Abbildung 16: Darstellung der β -Diversität (Bray-Curtis) auf Phylumbene vor Beginn der Anti-Zytokin Therapie a) in einer Grafik b) aufgeteilt.

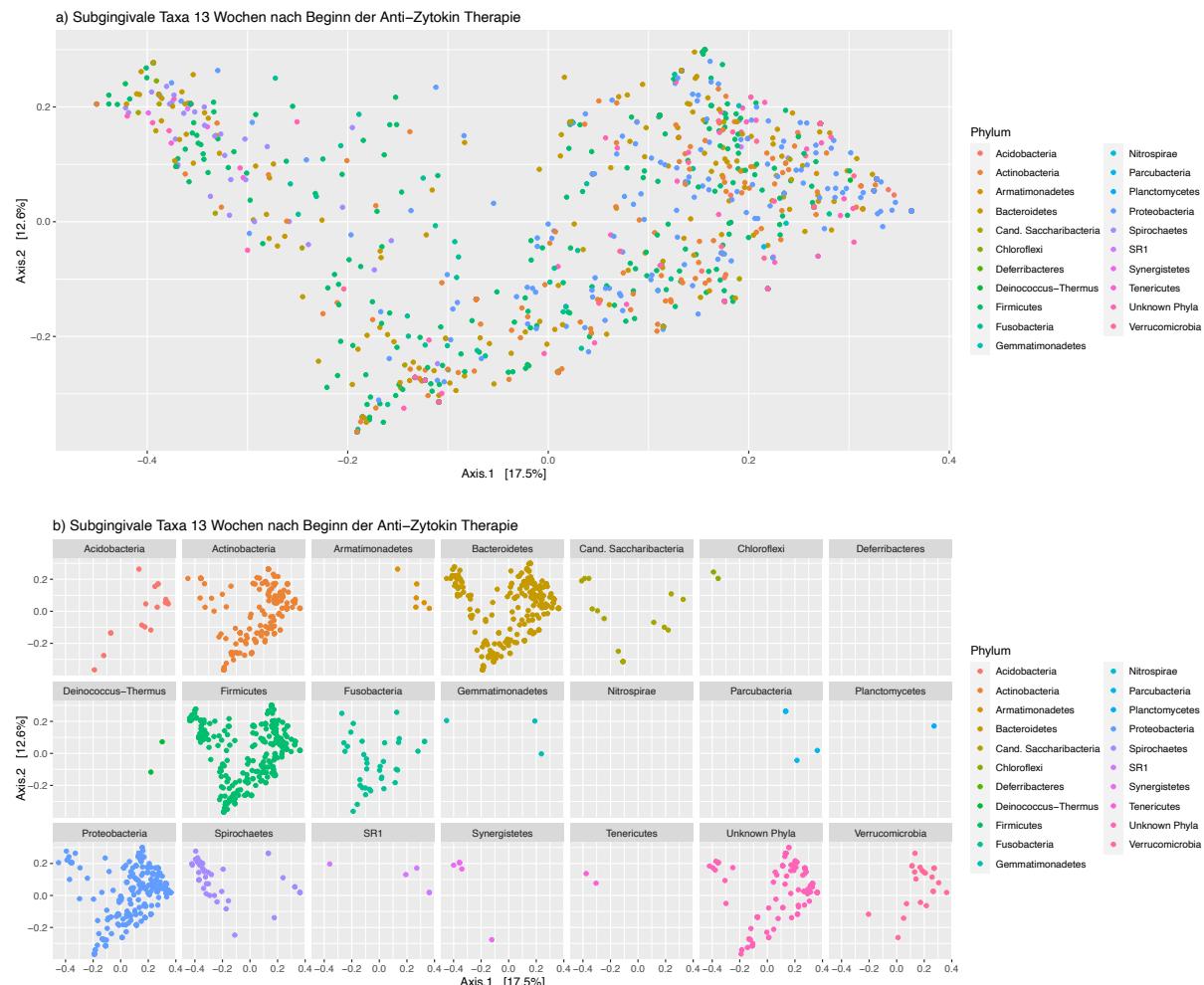


Abbildung 17: Darstellung der β -Diversität (Bray-Curtis) auf Phylumbene nach Beginn der Anti-Zytokin Therapie a) in einer Grafik und b) aufgeteilt in die auftretenden Phyla.

Neben der Principal Coordinates Analysis der Bray-Curtis-Indizes wurde entsprechend eine Principal Coordinates Analysis des Jaccard-Index für das CMM durchgeführt. Bei Analyse der parodontalen Taschen an beiden Zeitpunkten zusammengenommen, zeigte sich eine signifikante Erklärung der Varianz von $p<0,001$ ($R^2=6,0\%$; Abbildung 18).

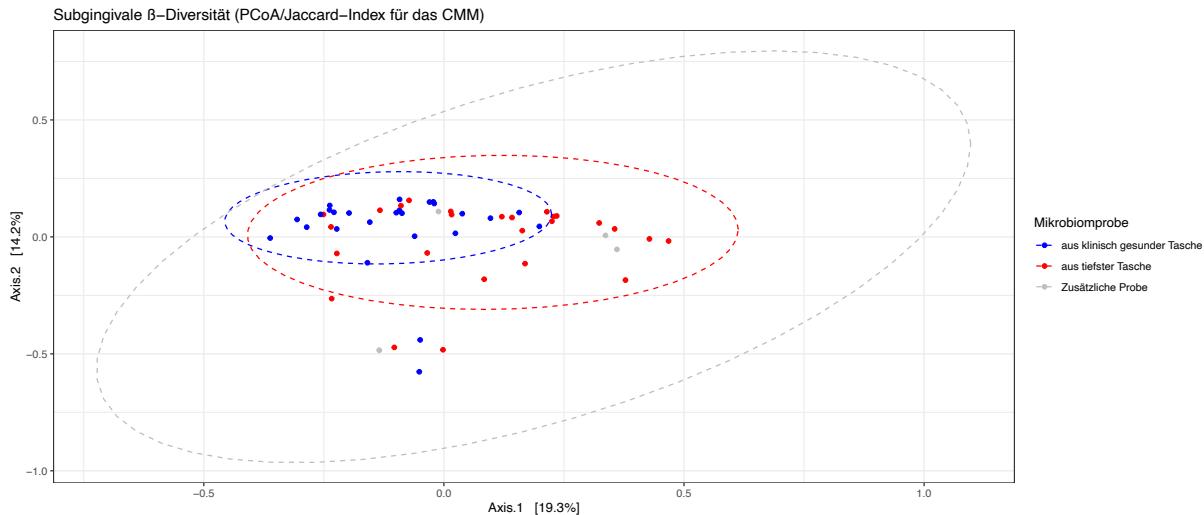


Abbildung 18: Principal Coordinates Analysis des Jaccard-Index für die klinisch gesunden parodontalen Taschen (blau), die tiefsten gemessenen Taschen (rot), die zusätzlich entnommen Proben (grau) zusammengenommen an beiden Untersuchungszeitpunkten.

Dies zeigte sich ebenfalls in der nach Untersuchungszeitpunkt getrennten Analyse der subgingivalen Taschen. Vor Beginn der Anti-Zytokin Therapie ($p<0,001$; $R^2=13,6\%$; Abbildung 19a) und nach Beginn der spezifischen Therapie wurde das Signifikanzniveau erreicht ($p<0,001$; $R^2=19,0\%$; Abbildung 19b).

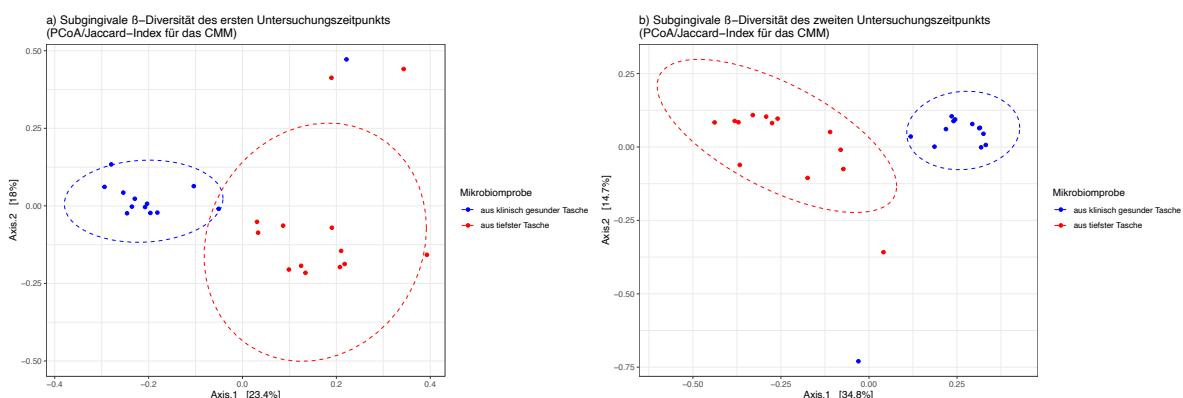


Abbildung 19: Principal Coordinates Analysis des Jaccard-Index für die klinisch gesunden parodontalen Taschen (blau) und die tiefsten gemessenen Taschen (rot) der Probanden a) zum Zeitpunkt vor b) nach Beginn der Anti-Zytokin Therapie.

IV Diskussion

In der hier vorliegenden Arbeit wurde die Diversität und Zusammensetzung des subgingivalen Mikrobioms jeweils in einer klinisch gesunden und der tiefsten parodontalen Taschen von Probanden mit verschiedenen chronisch entzündlichen Erkrankungen untersucht. Die Untersuchung erfolgte zu einem Zeitpunkt vor und 14 Wochen nach Beginn einer spezifischen Anti-Zytokin Therapie.

IV.1 Veränderungen der mikrobiellen Zusammensetzung und der Diversitäten unter einer spezifischen Anti-Zytokin Therapie

In der vorliegenden Arbeit konnten Veränderungen der relativen Abundanzen des subgingivalen Mikrobioms auf Phylumbene im Verlauf einer spezifischen Anti-Zytokin-Therapie festgestellt werden. Bei der Analyse der β -Diversitäten der Sulkusflüssigkeiten der Probanden zu dem Zeitpunkt vor Beginn der Anti-Zytokin Therapie und nach Beginn der spezifischen Therapie zeigten sich für beide Zeitpunkte unterschiedliche β -Diversitäten der parodontalen Taschen, was zu erwarten war. Diese erreichte nach Beginn der Anti-Zytokin Therapie erreichte diese sogar das Signifikanzniveau. Dies kann man als bakterielle Shift nach Beginn der Anti-Zytokin Therapie werten. Jedoch ist anhand der Analyse der β -Diversität nicht voraussagbar welche Art von Shift vorliegt. Hier müssen die ergänzenden Analysen bei der Interpretation helfen. So erfolgte die Analyse der α -Diversitäten für die OTUs und auf Genus-Ebene. Beides sind gängige Analyse-Methoden. Genauer erscheint jedoch die Analyse der OTUs, da es sich hier Bakterien mit einer definierten Ähnlichkeit des 16s rRNA-Gens von mindestens 97% handelt, weshalb diese hier angewandt wurde. So zeigte sich nach Beginn der Anti-Zytokin Therapie eine signifikante Verbesserung der α -Diversität der tieferen Sulkustaschen. Hier ist jedoch kritisch anzumerken, dass es Untersuchungen gibt, die von einer stärkeren parodontalen Zerstörung, wenn auch nicht Entzündung, bei höherer subgingivaler α -Diversität ausgehen (Abusleme et al. 2013). Jedoch ist die Interpretation anspruchsvoll. In einer tierexperimentellen Studie konnte 2022 gezeigt werden, dass eine verringerte Diversität mit einer Gingivitis einhergeht, eine Erhöhung dann mit einer Parodontitis. Jedoch ist auch bei gesunden parodontalen Verhältnissen eine hohe Diversität zu erwarten (Ribeiro et al. 2022).

Es ist bekannt, dass sich nicht nur das Mikrobiom von Patienten mit einer Parodontitis vom parodontal gesunden Mikrobiom unterscheidet (LaMonte et al. 2018), sondern dass sich auch im intraindividuellen Vergleich Unterschiede der mikrobiellen Zusammensetzung zwischen gesunden und erkrankten Sulci feststellen lassen (Roberts und Darveau 2015).

In den Proben der gesunden als auch der tiefsten parodontalen Taschen der hier vorliegenden Arbeit zeigte sich, dass Actinobakterien die häufigsten Phyla sind, dicht gefolgt von den Firmicutes. Sie machen jeweils etwa 1/3 -1/4 der Phyla der Proben aus, wobei in den klinisch gesunden Sulci verhältnismäßig mehr Actinobakterien zu finden sind (Abbildung 6a und b). Ähnliche Beobachtungen beschreiben auch Shi et al. 2018 bei Untersuchung von Proben bei gesunden Probanden, Probanden mit einer chronischen und einer aggressiven Parodontitis (nach der Klassifikation von 1999). Sie beschreiben eine Dominanz von Firmicutes, Actinobacteria und Proteobakterien in den Proben der parodontal gesunden Probanden. Bei den Parodontitiden zeigen sich weniger Actinobacteria und dafür eine relative Zunahme von Fusobakterien, Spirochäten und Saccharibacteria (Shi et al. 2018). Interessant ist in diesem Zusammenhang zu erwähnen, dass es sich bei den von uns untersuchten Proben jedoch um Proben von Probanden ohne Parodontitis, jedoch mit teilweise erhöhten Taschentiefen und CIDs handelt. Dies legt nahe, dass es bei diesen Patienten schon frühzeitig zu Veränderungen des subgingivalen Mikrobioms kommt, die die Entstehung einer parodontalen Entzündung begünstigt. Dies würde einen Erklärungsansatz für die häufig beschriebenen Assoziationen zwischen Parodontitis und chronisch inflammatorischen Erkrankungen, wie der rheumatoiden Arthritis (Araújo et al. 2015; Potempa et al. 2017), Spondylitis ankylosans (Ratz et al. 2015), Psoriasis (Woeste et al. 2019) und CEDs (Papageorgiou et al. 2017) liefern. Für letztgenannte CEDs sind positive Korrelationen zwischen der parodontalen und intestinalen Inflammation beschrieben (Lira-Junior und Figueredo 2016; Figueredo et al. 2017). Atarashi et al. entnahmen in einer Studie orale Mikrobiomproben aus dem Speichel von Patienten mit CEDs und transferierten sie in Keimfreie Mäuse. Es zeigte sich eine Proliferation von T_H1-Zellen mit der Abundanz von oralen Klebsiellen im Kolon assoziiert war (Atarashi et al. 2017), was eine direkte Beteiligung der oralen Flora an der intestinalen Entzündung nahelegt. Es wurden in der jüngeren Vergangenheit auch andere Erklärungen für Assoziationen von chronisch-entzündlichen Erkrankungen mit Parodontitis beschrieben, wie das Vorliegen gemeinsamer genetische Risikofaktoren für rheumatoide Arthritis und Parodontitis (Schulz S et al. 2019) oder

veränderte parainflammatorische Bedingungen (Schulz J et al. 2019; Schulz 2020)(J. Schulz et al., 2019).

Es wurde außerdem die Firmicutes/Bacteroidetes-Ratio bestimmt. Veränderungen dieser Ratio spielen eine Rolle bei Untersuchungen der Darmmikrobiota und Alterationen sind insbesondere bei Übergewicht beschrieben (Magne et al. 2020) und werden bereits als Therapieansatz für Übergewicht ausgenutzt (Fangmann et al. 2018). In den vorliegenden subgingivalen Proben zeigten sich Veränderungen, auch im Therapieverlauf und Unterschiede bei Übergewicht, die jedoch sämtlich hinter dem Signifikanzniveau zurückblieben.

Insgesamt ist zu diskutieren, ob die klinischen und mikrobiellen Verbesserungen direkt auf die verabreichte Medikation zurückzuführen sind, möglicherweise auch durch eine Veränderung des subgingivalen Mikrofilms, oder auf die Verbesserung der zugrunde liegenden chronisch-entzündlichen Erkrankung. Bislang hat die Behandlung klassischer Entzündungsziele, einschließlich IL-1 und TNF- α , die Erwartungen in der Parodontaltherapie nicht erfüllt (Cotti, Schirru, Acquas, & Usai, 2014).

Schließlich ist in Bezug auf die hier vorliegende Arbeit kritisch anzumerken, dass diese Studie nicht als Fall-Kontroll-Studie angelegt war, sondern eine reine Beobachtung darstellt und somit unklar ist, inwiefern ähnliche Beobachtungen auch bei gesunden Probanden hätten gemacht werden können.

Die vorliegenden Daten deuten jedoch darauf hin, dass sich die subgingivale Mikrobiota unter einer gezielten Anti-Zytokin-Therapie grundlegend verändert, was zu einer Verbesserung des parodontalen Status führt.

IV.2 Kritik an der Methodik

Bei kritischer Betrachtung der Arbeit ergeben sich vereinzelte Limitationen zur Aussagekraft der Studie.

Die Studie ist als longitudinale Beobachtungsstudie angelegt gewesen. Weder die Probanden noch die Durchführenden waren verblindet. Aus einer Vielzahl anderer Studien ist bekannt, dass Probanden, die wissen, dass eine zweite, in diesem Fall zahnärztliche Untersuchung, nach einem gewissen Zeitraum ansteht, sich - bewusst oder dessen unbewusst - anders verhalten, als wären sie zuvor nicht in die Studie eingeschlossen worden. Das beinhaltet die orale Hygiene, zahnärztliche Besuche, Ernährung und andere Einflussfaktoren. Ein Hawthorne-Effekt ist

demnach in dieser Studie denkbar (Kompier 2006; Nguyen et al. 2018). Auch die Erwartungshaltung der Untersuchenden kann das Ergebnis grundsätzlich beeinflussen. Eine doppelte Verblindung versucht diesem Effekt in Studien vorzubeugen, wurde in dieser Beobachtungsstudie jedoch nicht gewählt. Ein Rosenthal-Effekt ist somit ebenfalls denkbar (Gardner et al. 2011).

Es erfolgte außerdem keine Randomisierung der Probanden, sondern sie erhielten die individuell beste therapeutische Option. Bei Einschluss in die BFU-Studie wurden Sie, bei entsprechender Bereitschaft an der Studie teilzunehmen und möglichem Einschluss in die BFU-ParoSubkohorte auch untersucht. Durch dieses Vorgehen ist grundsätzlich eine Selektionsbias sowie ein Confounding, also eine Verzerrung durch Störgrößen, möglich. Denkbar ist das entsprechend besonders beeinträchtige Personen nicht an der Studie teilgenommen haben, oder die zweite Untersuchung bei genau den Probanden, bei denen die Therapie nicht anschlug, nicht erfolgte. Auf der anderen Seite ist auch denkbar, dass genau die Probanden, bei denen ein hoher therapeutischer Erfolg festzustellen war, nicht weiter an der Studie teilnehmen wollten, da sie sich wieder gesund gefühlt haben.

Ein weiterer zu diskutierender Punkt ist die eher kleine und heterogene untersuchte Gruppe. Die Aussagekraft für einzelne, spezifische Anti-Zytokin Therapien bei den verschiedenen chronisch inflammatorischen Erkrankungen ist limitiert und die beschriebene Studie somit als Pilotstudie zu werten.

Es ist zudem zu diskutieren, ob durch das Sondieren, welches in der Studie stets vor der Entnahme der Sulkusproben erfolgte, Bakterien in einem relevanten Maß übertragen worden sein könnten. Studien konnten zeigen, dass eine Übertragung grundsätzlich möglich, eine Organisierung und Vermehrung jedoch nicht obligat ist (Christersson et al. 1985; Papaioannou et al. 1996; Holt et al. 2004). Nichtsdestotrotz kann eine unmittelbare Kontamination der Sulci somit nicht ausgeschlossen werden. Jedoch wurde bei der Auswertung der Studie darauf geachtet, dass, sofern möglich und inhaltlich sinnvoll, mit dem Core Measurable Microbiome, also dem Kernmikrobiom, gerechnet wurde. Hier wurden Bakterien mit einer Abundanz von mindestens 0,5% und einem Vorkommen in mindestens 40% aller Proben berücksichtigt.

Zudem mussten vier Probenentnahmen erneut durchgeführt werden, da eine Kontamination mit Blut wahrscheinlich war. Alle vier Proben stammten aus den tiefsten gemessenen Taschen

und wurden beim zweiten Untersuchungszeitpunkt entnommen. Entsprechend erfolgte die zusätzliche Probenentnahme jeweils aus der oder einer der nächsttieferen Taschen. Bei der Entnahme der Proben wurde zudem darauf geachtet, dass keine Kontamination der Papierspitze außerhalb des Sulkus erfolgte. Da in der Folge mit diesen Proben die Berechnungen erfolgt sind, ist eine verfälschtes Ergebnis durch die Kontamination mit Blut nicht auszuschließen.

Zudem können verschiedene Faktoren einen Einfluss auf das orale, bzw. subgingivale Mikrobiom haben. Auch die Ernährung könnte eine wichtige Rolle spielen. Für das Darmmikrobiom ist eine direkte Interaktion mit Mikrobiom sowie der Wirtsabwehr vorbeschrieben (Thaiss et al. 2016). Inwiefern die direkte, lokale Anwesenheit von Nährstoffen eine Rolle bei der Wirtsabwehr sowie für das parodontale Mikrobiom spielt, ist nicht abschließend geklärt.

Die gegenseitige Beeinflussung von Wirt und Mikrobiom für andere inflammatorische Erkrankungen, wie die rheumatoide Arthritis ist vielfach vorbeschrieben (Honda und Littman 2016; Scher et al. 2016). Wichtig ist hier zu berücksichtigen, dass es sich um eine bidirektionale Beeinflussung von Mikrobiom und Wirtsabwehr zu handeln scheint (Zhou J et al. 2017; Lundmark et al. 2019).

Insbesondere der parodontalpathogene Keim *Porphyromonas gingivalis* ist dabei in den letzten Jahren ins Zentrum aktueller Forschung gerückt (Hajishengallis und Lamont 2014), wobei auch klar scheint, dass er nicht alleine für die Parodontitis und seine Folgen verantwortlich ist (He et al. 2015). Jedoch konnte gezeigt werden, dass er die Polarisierung zu T_H17 induziert und damit den Knochenabbau fördert (Gaffen und Hajishengallis 2008; Miossec und Kolls 2012; Jiao et al. 2013; Zhou J et al. 2017). Zudem fördert er die Ausschüttung verschiedener proinflammatorischer Zytokine wie IL-1 β , IL-6 und IL-23 und interagiert somit direkt mit der Wirtsabwehr (Moutsopoulos et al. 2012; Maekawa et al. 2014). Zudem ist bekannt, dass chronisch inflammatorische Erkrankungen wie die rheumatoide Arthritis mit einem erhöhten Risiko für Parodontitiden einhergehen und sich dies auch an einer veränderten Zusammensetzung des oralen Mikrobioms zeigt. So treten *Prevotella* und *Seletonas* bei einer rheumatoiden Arthritis vermehrt auf (Graves et al. 2019): Auch hier wird ein enger Zusammenhang zu IL-17 hergestellt (Graves et al. 2019): Bei der Psoriasis ist ähnliches bekannt. Hier scheinen *Leptotrichia* species vermehrt aufzutreten (Langfeldt et al. 2014) und die Produktion von Zytokinen wie IL-6 und IL-8 zu induzieren (Richter et al. 2018).

IV.3 Fazit

Bisher bestehen vorwiegend symptomatische Ansätze zur Begrenzung der parodontalen Entzündung. Zur Evaluation neuer Therapieoptionen sollten sowohl entzündliche Begleiterkrankungen sowie die Therapie derselben berücksichtigt werden.

Insbesondere neue, zielgerichtete Therapien geraten dabei zunehmend in den Fokus.

In dieser Arbeit konnte ein Zusammenhang zwischen der zielgerichteten Anti-Zytokin-Behandlung von chronisch inflammatorischen Erkrankungen und dem oralen Status bei Patienten mit chronischen Entzündungskrankheiten gezeigt werden. Darüber hinaus könnten Anti-Zytokin-Therapien die Mikrobiom-Diversität in der Zahntasche verbessern. Dies könnte vor allem bei Patienten und chronisch inflammatorischen Erkrankungen sowie mit einer erhöhten Neigung zur Entwicklung einer Parodontitis von Interesse sein. Die Frage, ob Parodontitis eine systemische Entzündung auslöst oder umgekehrt, oder ob es sich eher um eine gegenseitige Beeinflussung handelt, ist jedoch noch nicht abschließend geklärt. Weitere Untersuchungen sind unumgänglich, um die Zusammensetzung und den Stoffwechsel des Mikrobioms direkt in der Zahntasche zu analysieren und um festzustellen, ob die systemische oder lokale Verabreichung spezifischer Biologika den parodontalen Zustand bei Patienten mit und ohne chronisch inflammatorische Erkrankungen verbessern kann.

V Zusammenfassung

Chronisch inflammatorische Erkrankungen sind mit dem Auftreten von parodontalen Erkrankungen assoziiert. Jedoch gibt es bisher lediglich wenige Untersuchungen des Einflusses einer zielgerichteten Anti-Zytokin Therapie auf parodontale Parameter und das parodontale Mikrobiom, weshalb wir diese näher untersuchen wollten.

In dieser longitudinalen Beobachtungsstudie wurde der parodontale Status von insgesamt 21 Patienten mit verschiedenen chronisch inflammatorischen Erkrankungen erhoben. Außerdem erfolgte die Entnahme von Sulkusflüssigkeit zur 16S rRNA Gen Sequenzierung bei diesen Probanden, vor und 14 Wochen nach Beginn der zielgerichteten Anti-Zytokin Therapie (n=13).

Die Alpha-Diversität (Shannon) nahm nach 14 Wochen einer zielgerichteten Anti-Zytokin Therapie in den tiefsten parodontalen Taschen der Probanden signifikant zu ($p=0.039$). Eine Verbesserung der klinischen parodontalen Parameter zeigte sich insbesondere bei Probanden, die zu Beginn der Studie die höhere Anzahl an parodontal vorgeschädigten Zähnen aufwies. So sank der Bleeding on Probing Index bei diesen Probanden signifikant ($p=0.02$) von 19.4 (10.0-21.0) auf 7.3 (6.9-9.9).

Die vorliegenden Daten zeigen Veränderungen der Diversität des subgingivalen Mikrobioms sowie eine Verbesserung der parodontalen Parameter im Verlauf der Studie. Weitere Studien sind notwendig, um herauszufinden, ob die Gabe bestimmter Biologika den parodontalen Status bei Patienten mit und ohne chronisch inflammatorische Erkrankungen nachhaltig verändern kann.

VI Anhang

BFU_PA_2016	Probanden-Nr.: _____	Datum: <u> </u> / <u> </u> / <u> </u>																							
<table border="1"> <tr> <td>PSI</td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> </table>			PSI																						
PSI																									
DMFT																									
ST																									
AV																									
BOP																									
LOCK- GRAD.	18	17	16	15	14	13	12	11	21	22	23	24	25	26	27	28									
ST																									
AV																									
BOP																									
DMFT																									
ST																									
AV																									
BOP																									
LOCK- GRAD.	48	47	46	45	44	43	42	41	31	32	33	34	35	36	37	38									
ST																									
AV																									
BOP																									
Plaque:	<input type="checkbox"/> auffällig		<input type="checkbox"/> unauffällig																						
Anmerkungen:																									

DMFT	Karies	c	tief zerstört	z
	Krone	k	missing	m
	Füllung	f	Furkation	fur
	Krone + Karies	ck		

Abbildung 20: Befundbogen und Legende

BFU_PA_2016 | Probanden-Nr.: _____ | Datum: / /

Fragebogen

1	Alter: _____
2	Geschlecht: <input type="checkbox"/> m <input type="checkbox"/> w
3	Haben Sie Vorerkrankungen? Nein <input type="checkbox"/> Ja <input type="checkbox"/> <i>Wenn ja, welche?:</i> _____ _____
4	Nehmen Sie regelmäßig Medikamente ein? Nein <input type="checkbox"/> Ja <input type="checkbox"/> <i>Wenn ja, welche?:</i> _____ _____
5	Wie viele Zähne haben Sie? (bitte Zahlenangabe, z.B. 28) _____
6	Haben Sie momentan Beschwerden an Ihren Zähnen? Nein <input type="checkbox"/> Ja <input type="checkbox"/> <i>Wenn ja, welche?:</i> _____ _____
7	Ist Ihnen von Ihrem Zahnarzt jemals gesagt worden, dass Sie an einer Parodontitis (Erkrankung des Zahnfleisches/Zahnhalteapparates) leiden? Nein <input type="checkbox"/> Ja <input type="checkbox"/> <i>Wenn ja, wie alt waren Sie?:</i> _____ _____
8	Sind in Ihrer Familie Parodontitis-Erkrankungen (Erkrankungen des Zahnfleisches/Zahnhalteapparates) bekannt? Nein <input type="checkbox"/> Ja <input type="checkbox"/> <i>Wenn ja, bei wem?:</i> _____ _____

BFU_PA_2016	Probanden-Nr.: _____	Datum: <u> </u> / <u> </u> / <u> </u> <u>TT</u> / <u>MM</u> / <u>JJ</u>
9	Wurde bei Ihnen bereits eine Zahnfleisch-Behandlung durchgeführt?	
	Nein <input type="checkbox"/> Ja <input type="checkbox"/> <i>Wenn ja, wie oft und wann zuletzt?: (z.B. 2 Mal, letzte Mal vor 3 Jahren)</i>	
10	Haben Sie bereits Zähne dadurch verloren, dass sie wackelig geworden sind?	
	Nein <input type="checkbox"/> Ja <input type="checkbox"/>	
11	Tragen Sie einen Zahnersatz?	
	Nein <input type="checkbox"/> Ja <input type="checkbox"/> <i>Wenn ja, welchen?</i> Festsitzend <input type="checkbox"/> (z.B. Kronen, Brücken) Herausnehmbar <input type="checkbox"/> (z.B. Prothesen)	
12	Rauchen Sie?	
	Nein <input type="checkbox"/> Ja <input type="checkbox"/> <i>Wenn ja, seit wann?: (z.B. seit 6 Jahren) _____</i> <i>Wie viele Zigaretten rauchen Sie? (z.B. 9 Zigaretten am Tag) _____</i>	
13	Haben Sie in Ihrem Leben für eine bestimmte Zeit geraucht?	
	Nein <input type="checkbox"/> Ja <input type="checkbox"/> <i>Wenn ja, wie lange?: (z.B. für insgesamt 3 Jahre) _____</i> <i>im Alter von _____ bis _____, das letzte Mal vor _____ (z.B. vor 3 Monaten)</i>	
14	Wie oft putzen Sie sich die Zähne? (bitte nur eine zutreffende Antwort ankreuzen)	
	Mehr als 4x täglich <input type="checkbox"/> 4x täglich <input type="checkbox"/> 3x täglich <input type="checkbox"/> 2x täglich <input type="checkbox"/> 1x täglich <input type="checkbox"/> weniger, als einmal am Tag <input type="checkbox"/>	

BFU_PA_2016	Probanden-Nr.: _____	Datum: <u> </u> / <u> </u> / <u> </u> <u>TT</u> / <u>MM</u> / <u>JJ</u>
<p>15 Benutzen Sie etwas Spezielles zur Reinigung der Zahzwischenräume? (z.B. siehe Auflistung)</p> <p>Nein <input type="checkbox"/> (weiter ab Frage 17)</p> <p>Ja <input type="checkbox"/></p> <p><i>Wenn ja, bitte kreuzen Sie an, welches Sie benutzen (Mehrfachnennungen möglich):</i></p> <p>Zahnseide <input type="checkbox"/></p> <p>Zahnholzchen <input type="checkbox"/></p> <p>Zahzwischenraumbürstchen <input type="checkbox"/></p> <p>Munddusche ohne Mundwasser <input type="checkbox"/></p> <p>Munddusche mit Mundwasser <input type="checkbox"/></p>		
<p>16 Wie oft benutzen Sie eines der oben genannten Hilfsmittel?</p> <p>Mehr als 4x täglich <input type="checkbox"/></p> <p>4x täglich <input type="checkbox"/></p> <p>3x täglich <input type="checkbox"/></p> <p>2x täglich <input type="checkbox"/></p> <p>1x täglich <input type="checkbox"/></p> <p>weniger, als einmal am Tag <input type="checkbox"/></p>		
<p>17 Führen Sie sich mit der Nahrung Probiotica zu?</p> <p>Nein <input type="checkbox"/></p> <p>Ja <input type="checkbox"/></p>		
<p>18 Haben Sie das Gefühl, dass einer Ihrer Zähne (oder mehrere), nicht mehr an der gleichen Stelle stehen, an der sie früher einmal waren?</p> <p>Nein <input type="checkbox"/></p> <p>Ja <input type="checkbox"/></p>		
<p>19 Leiden Sie unter Parodontitis?</p> <p>Nein <input type="checkbox"/></p> <p>Ja <input type="checkbox"/></p>		

Vielen Dank, dass Sie sich die Zeit genommen haben, diesen Fragebogen auszufüllen!

Abbildung 21: Fragebogen der BFU-ParoSubkohorte

VII Literaturverzeichnis

- Abusleme L, Dupuy AK, Dutzan N, Silva N, Burleson JA, Strausbaugh LD, Gamonal J, Diaz PI (2013): The subgingival microbiome in health and periodontitis and its relationship with community biomass and inflammation. *ISME J* 7, 1016–1025
- Amatya N, Garg AV, Gaffen SL (2017): IL-17 Signaling: The Yin and the Yang. *Trends Immunol* 38, 310–322
- Anderson MJ (2001): A new method for non-parametric multivariate analysis of variance. *Austral Ecol* 26, 32–46
- Araújo VMA, Melo IM, Lima V (2015): Relationship between Periodontitis and Rheumatoid Arthritis: Review of the Literature. *Mediators Inflamm* 2015
- Atarashi K, Suda W, Luo C, Kawaguchi T, Motoo I, Narushima S, Kiguchi Y, Yasuma K, Watanabe E, Tanoue T, et al. (2017): Ectopic colonization of oral bacteria in the intestine drives TH1 cell induction and inflammation. *Science* 358, 359
- Baker GC, Smith JJ, Cowan DA (2003): Review and re-analysis of domain-specific 16S primers. *J Microbiol Methods* 55, 541–555
- Baurecht H, Rühlemann MC, Rodríguez E, Thielking F, Harder I, Erkens A-S, Stölzl D, Ellinghaus E, Hotze M, Lieb W, et al. (2018): Epidermal lipid composition, barrier integrity, and eczematous inflammation are associated with skin microbiome configuration. *J Allergy Clin Immunol* 141, 1668–1676.e16
- Benepali® 25 mg Injektionslösung in einer Fertigspritze (2019) 15
- Benzaquen M, Yawalkar N, Feldmeyer L, Borradori L, Schlapbach C (2020): Herpetiform aphthous ulcerations induced by secukinumab: Report of 2 cases. *JAAD Case Rep* 6, 1107–1109
- Biesen R, Burmester G, Hiepe F (2014): Positiver Rheumafaktor oder positive ANA als Zufallsbefund | SpringerLink. *Internist* 55, 1157–1164
- Blair HA (2019): Secukinumab: A Review in Ankylosing Spondylitis. *Drugs* 79, 433–443
- Blanco FJ, Möricke R, Dokoupilova E, Codding C, Neal J, Andersson M, Rohrer S, Richards H (2017): Secukinumab in Active Rheumatoid Arthritis: A Phase III Randomized, Double-Blind, Active Comparator– and Placebo-Controlled Study. *Arthritis Rheumatol* 69, 1144–1153
- Borst SE (2004): The role of TNF- α in insulin resistance. *Endocrine* 23, 177–182
- Boutet M-A, Nerviani A, Gallo Afflitto G, Pitzalis C (2018): Role of the IL-23/IL-17 Axis in Psoriasis and Psoriatic Arthritis: The Clinical Importance of Its Divergence in Skin and Joints.

Int J Mol Sci 19, 530

Brasier AR (2010): The nuclear factor- κ B–interleukin-6 signalling pathway mediating vascular inflammation. Cardiovasc Res 86, 211–218

Braun J, Sieper J (2007): Ankylosing spondylitis. The Lancet 369, 1379–1390

Braun J, Bollow M, Remlinger G, Eggens U, Rudwaleit M, Distler A, Sieper J (1998): Prevalence of spondylarthropathies in HLA-B27 positive and negative blood donors. Arthritis Rheum 41, 58–67

Bray JR, Curtis JT (1957): An Ordination of the Upland Forest Communities of Southern Wisconsin. Ecol Monogr 27, 325–349

Breedveld F (2000): Therapeutic monoclonal antibodies. The Lancet 355, 735–740

Brosius J, Palmer ML, Kennedy PJ, Noller HF (1978): Complete nucleotide sequence of a 16S ribosomal RNA gene from Escherichia coli. Proc Natl Acad Sci U S A 75, 4801–4805

Buchon N, Silverman N, Cherry S (2014): Immunity in Drosophila melanogaster — from microbial recognition to whole-organism physiology. Nat Rev Immunol 14, 796–810

Bunte K, Beikler T (2019): Th17 Cells and the IL-23/IL-17 Axis in the Pathogenesis of Periodontitis and Immune-Mediated Inflammatory Diseases. Int J Mol Sci 20, 3394

Burmester GR, Pope JE (2017): Novel treatment strategies in rheumatoid arthritis. The Lancet 389, 2338–2348

Camilo V, Sugiyama T, Touati E (2017): Pathogenesis of Helicobacter pylori infection. Helicobacter 22, e12405

Cardoso CR, Garlet GP, Moreira AP, Júnior WM, Rossi MA, Silva JS (2008): Characterization of CD4+CD25+ natural regulatory T cells in the inflammatory infiltrate of human chronic periodontitis. J Leukoc Biol 84, 311–318

Ceccarelli F, Saccucci M, Di Carlo G, Lucchetti R, Pilloni A, Pranno N, Luzzi V, Valesini G, Polimeni A (2019): Periodontitis and Rheumatoid Arthritis: The Same Inflammatory Mediators? Mediators Inflamm 2019

Cekici A, Kantarci A, Hasturk H, Dyke TEV (2014): Inflammatory and immune pathways in the pathogenesis of periodontal disease. Periodontol 2000 64, 57–80

Chabaud M, Fossiez F, Taupin J-L, Miossec P (1998): Enhancing Effect of IL-17 on IL-1-Induced IL-6 and Leukemia Inhibitory Factor Production by Rheumatoid Arthritis Synoviocytes and Its Regulation by Th2 Cytokines. J Immunol 161, 409

Chakravorty S, Helb D, Burday M, Connell N, Alland D (2007): A detailed analysis of 16S ribosomal RNA gene segments for the diagnosis of pathogenic bacteria. J Microbiol Methods 69, 330–339

Chao A (1984): Nonparametric Estimation of the Number of Classes in a Population. *Scand J Stat* 11, 265–270

Cheung AT, Ree D, Kolls JK, Fuselier J, Coy DH, Bryer-Ash M (1998): An in Vivo Model for Elucidation of the Mechanism of Tumor Necrosis Factor- α (TNF- α)-Induced Insulin Resistance: Evidence for Differential Regulation of Insulin Signaling by TNF- α . *Endocrinology* 139, 4928–4935

Cho I, Blaser MJ (2012): The human microbiome: at the interface of health and disease. *Nat Rev Genet* 13, 260–270

Choi C-HR, Bakir IA, Hart AL, Graham TA (2017): Clonal evolution of colorectal cancer in IBD. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 14, 218–229

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

Christersson LA, Slots J, Zambon JJ, Genco RJ (1985): Transmission and Colonization of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in Localized Juvenile Periodontitis Patients. *J Periodontol* 56, 127–131

Christophers E (2017): Periodontitis and risk of psoriasis: another comorbidity. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 31, 757–758

Cirelli JA, Park CH, MacKool K, Taba M, Lustig KH, Burstein H, Giannobile WV (2009): AAV2/1-TNFR:Fc gene delivery prevents periodontal disease progression. *Gene Ther* 16, 426–436

Clemente JC, Manasson J, Scher JU (2018): The role of the gut microbiome in systemic inflammatory disease. *BMJ* 360

Click B, Regueiro M (2019): Managing Risks with Biologics. *Curr Gastroenterol Rep* 21, 1

Coates LC, FitzGerald O, Helliwell PS, Paul C (2016): Psoriasis, psoriatic arthritis, and rheumatoid arthritis: Is all inflammation the same? *Semin Arthritis Rheum* 46, 291–304

Cole JR, Wang Q, Fish JA, Chai B, McGarrell DM, Sun Y, Brown CT, Porras-Alfaro A, Kuske CR, Tiedje JM (2014): Ribosomal Database Project: data and tools for high throughput rRNA analysis. *Nucleic Acids Res* 42, D633–D642

Cong J, Zhang X (2018): How human microbiome talks to health and disease. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 37, 1595–1601

Cotillard A, Kennedy SP, Kong LC, Prifti E, Pons N, Le Chatelier E, Almeida M, Quinquis B, Levenez F, Galleron N, et al. (2013): Dietary intervention impact on gut microbial gene richness. *Nature* 500, 585–588

- Danese S, Vuitton L, Peyrin-Biroulet L (2015): Biologic agents for IBD: practical insights. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 12, 537–545
- de Kruif MD, van Gorp ECM, Bel EH, Gerlag DM, Kunst PW (2012): Streptococcal lung abscesses from a dental focus following tocilizumab: a case report. *Clin Exp Rheumatol* 30, 951–953
- Detzen L, Cheng B, Chen C-Y, Papapanou PN, Lalla E (2019): Soluble Forms of the Receptor for Advanced Glycation Endproducts (RAGE) in Periodontitis. *Sci Rep* 9, 1–8
- Di Paola R, Mazzon E, Muià C, Crisafulli C, Terrana D, Greco S, Britti D, Santori D, Oteri G, Cordasco G, Cuzzocrea S (2007): Effects of etanercept, a tumour necrosis factor-alpha antagonist, in an experimental model of periodontitis in rats. *Br J Pharmacol* 150, 286–297
- Dick AD, Tugal-Tutkun I, Foster S, Zierhut M, Melissa Liew SH, Bezlyak V, Androudi S (2013): Secukinumab in the Treatment of Noninfectious Uveitis: Results of Three Randomized, Controlled Clinical Trials. *Ophthalmology* 120, 777–787
- Dokoupilová E, Aelion J, Takeuchi T, Malavolta N, Sfikakis PP, Wang Y, Rohrer S, Richards HB (2018): Secukinumab after anti-tumour necrosis factor- α therapy: a phase III study in active rheumatoid arthritis. *Scand J Rheumatol* 47, 276–281
- Edgar RC (2010): Search and clustering orders of magnitude faster than BLAST. *Bioinformatics* 26, 2460–2461
- Edgar RC, Haas BJ, Clemente JC, Quince C, Knight R (2011): UCHIME improves sensitivity and speed of chimera detection. *Bioinformatics* 27, 2194–2200
- Eger M, Hiram-Bab S, Liron T, Sterer N, Carmi Y, Kohavi D, Gabet Y (2018): Mechanism and Prevention of Titanium Particle-Induced Inflammation and Osteolysis. *Front Immunol* 9
- Elliott MJ, Maini RN, Feldmann M, Kalden JR, Antoni C, Smolen JS, Leeb B, Breedveld FC, Macfarlane JD, Bijl JA, Woody JN (1994): Randomised double-blind comparison of chimeric monoclonal antibody to tumour necrosis factor α (cA2) versus placebo in rheumatoid arthritis. *The Lancet* 344, 1105–1110
- Engebretson S, Chertog R, Nichols A, Hey-Hadavi J, Celenti R, Grbic J (2007): Plasma levels of tumour necrosis factor- α in patients with chronic periodontitis and type 2 diabetes. *J Clin Periodontol* 34, 18–24
- Ewing B, Hillier L, Wendl MC, Green P (1998): Base-Calling of Automated Sequencer Traces Using Phred. I. Accuracy Assessment. *Genome Res* 8, 175–185
- Fabri GMC, Pereira RMR, Savioli C, Saad CGS, de Moraes JCB, Siqueira JTT, Bonfa E (2015): Periodontitis Response to Anti-TNF Therapy in Ankylosing Spondylitis: JCR J Clin Rheumatol 21, 341–345

Fachinformation Cimzia® 200 mg Injektionslösung in einem Fertigpen<https://www.fachinfo.de/suche/fi/021314>

Fachinformation Cosentyx® 150 mg Injektionslösung in einem Fertigpen<https://www.fachinfo.de/suche/fi/020597>

Fachinformation Enbrel® 25 mg<https://www.fachinfo.de/suche/fi/002423>

Fachinformation Humira® 20 mg Injektionslösung<https://www.fachinfo.de/suche/fi/021936>

Fachinformation REMICADE® 100 mg<https://www.fachinfo.de/suche/fi/007371>

Fachinformation RoActemra® Fertigpen<https://www.fachinfo.de/suche/fi/021999>

Fachinformation RoActemra® i.v.<https://www.fachinfo.de/suche/fi/011650>

Fachinformation Simponi® 100 mg Injektionslösung<https://www.fachinfo.de/suche/fi/021428>

Fachinformation STELARA® 130 mg Konzentrat zur Herstellung einer Infusionslösung<https://www.fachinfo.de/suche/fi/021296>

Fangmann D, Theismann E-M, Türk K, Schulte DM, Relling I, Hartmann K, Keppler JK, Knipp J-R, Rehman A, Heinsen F-A, et al. (2018): Targeted Microbiome Intervention by Microencapsulated Delayed-Release Niacin Beneficially Affects Insulin Sensitivity in Humans. *Diabetes Care* 41, 398–405

Feagan BG, Sandborn WJ, Gasink C, Jacobstein D, Lang Y, Friedman JR, Blank MA, Johanns J, Gao L-L, Miao Y, et al. (2016): Ustekinumab as Induction and Maintenance Therapy for Crohn's Disease. *N Engl J Med* 375, 1946–1960

Feldtkeller E, Khan M, van der Heijde D, van der Linden S, Braun J (2003): Age at disease onset and diagnosis delay in HLA-B27 negative vs. positive patients with ankylosing spondylitis. *Rheumatol Int* 23, 61–66

Fiehn C, Holle J, Iking-Konert C, Leipe J, Weseloh C, Frerix M, Alten R, Behrens F, Baerwald C, Braun J, et al. (2018): S2e-Leitline: Therapie der rheumatoiden Arthritis mit krankheitsmodifizierenden Medikamenten. *AWMF* 060–004, 7

Figueredo CM, Martins AP, Lira-Junior R, Menegat JB, Carvalho AT, Fischer RG, Gustafsson A (2017): Activity of inflammatory bowel disease influences the expression of cytokines in gingival tissue. *Cytokine* 95, 1–6

Firestein GS (2003): Evolving concepts of rheumatoid arthritis. *Nature* 423, 356–361

Forlow SB, Schurr JR, Kolls JK, Bagby GJ, Schwarzenberger PO, Ley K (2001): Increased granulopoiesis through interleukin-17 and granulocyte colony-stimulating factor in leukocyte adhesion molecule-deficient mice. *Blood* 98, 3309–3314

Francescone R, Hou V, Grivennikov SI (2014): Microbiome, Inflammation, and Cancer:

Cancer J 20, 181–189

Frolkis A, Dieleman LA, Barkema HW, Panaccione R, Ghosh S, Fedorak RN, Madsen K, Kaplan GG (2013): Environment and the inflammatory bowel diseases. Can J Gastroenterol 27, e18–e24

Fujihara R, Usui M, Yamamoto G, Nishii K, Tsukamoto Y, Okamatsu Y, Sato T, Asou Y, Nakashima K, Yamamoto M (2014): Tumor necrosis factor- α enhances RANKL expression in gingival epithelial cells via protein kinase A signaling. J Periodontal Res 49, 508–517

Gaffen SL (2009): Structure and signalling in the IL-17 receptor family. Nat Rev Immunol 9, 556–567

Gaffen SL, Hajishengallis G (2008): A New Inflammatory Cytokine on the Block: Re-thinking Periodontal Disease and the Th1/Th2 Paradigm in the Context of Th17 Cells and IL-17. J Dent Res 87, 817–828

Gao Xue, Belmadani Souad, Picchi Andrea, Xu Xiangbin, Potter Barry J., Tewari-Singh Neera, Capobianco Stefano, Chilian William M., Zhang Cuihua (2007): Tumor Necrosis Factor- α Induces Endothelial Dysfunction in Leprdb Mice. Circulation 115, 245–254

Gardner RA, Scheel MH, shaw HL (2011): Pygmalion in the Laboratory. Am J Psychol 124, 455–461

Gearry RB (2016): IBD and Environment: Are There Differences between East and West. Dig Dis 34, 84–89

Gilbert JA, Blaser MJ, Caporaso JG, Jansson JK, Lynch SV, Knight R (2018): Current understanding of the human microbiome. Nat Med 24, 392–400

Glotz C, Brimacombe R (1980): An experimentally-derived model for the secondary structure of the 16S ribosomal RNA from Escherichia coli. Nucleic Acids Res 8, 2377–2396

Gokhale SR, Padhye AM (2013): Future prospects of systemic host modulatory agents in periodontal therapy. Br Dent J 214, 467–471

Gonçalves DC, Evangelista RC, da Silva RR, Santos MJ, Silva FS, Aragão KS, Brito GA, Lucena HB, Leitão RC, Oriá RB (2014): Infliximab attenuates inflammatory osteolysis in a model of periodontitis in Wistar rats. Exp Biol Med 239, 442–453

Gratz S, Göbel D, Behr TM, Herrmann A, Becker W (1999): Correlation between radiation dose, synovial thickness, and efficacy of radiosynoviorthesis. J Rheumatol 26, 1242–1249

Grauballe MB, Østergaard JA, Schou S, Flyvbjerg A, Holmstrup P (2015): Effects of TNF- α blocking on experimental periodontitis and type 2 diabetes in obese diabetic Zucker rats. J Clin Periodontol 42, 807–816

Grauballe MB, Østergaard JA, Schou S, Flyvbjerg A, Holmstrup P (2017a): Blockade of RAGE

- in Zucker obese rats with experimental periodontitis. *J Periodontal Res* 52, 97–106
- Grauballe MB, Belstrøm D, Østergaard JA, Paster BJ, Schou S, Flyvbjerg A, Holmstrup P (2017b): Ligature-associated bacterial profiles are linked to type 2 diabetes mellitus in a rat model and influenced by antibody treatment against TNF- α or RAGE. *Clin Exp Dent Res* 3, 25–31
- Graves DT, Corrêa JD, Silva TA (2019): The Oral Microbiota Is Modified by Systemic Diseases. *J Dent Res* 98, 148–156
- Graziani F, Gennai S, Solini A, Petrini M (2018): A systematic review and meta-analysis of epidemiologic observational evidence on the effect of periodontitis on diabetes An update of the EFP-AAP review. *J Clin Periodontol* 45, 167–187
- Gregor MF, Hotamisligil GS (2011): Inflammatory Mechanisms in Obesity. *Annu Rev Immunol* 29, 415–445
- Gümüş P, Buduneli E, Büyükoğlu B, Aksu K, Saraç F, Nile C, Lappin D, Buduneli N (2013): Gingival Crevicular Fluid, Serum Levels of Receptor Activator of Nuclear Factor- κ B Ligand, Osteoprotegerin, and Interleukin-17 in Patients With Rheumatoid Arthritis and Osteoporosis and With Periodontal Disease. *J Periodontol* 84, 1627–1637
- Hajishengallis G (2014): Immunomicrobial pathogenesis of periodontitis: keystones, pathobionts, and host response. *Trends Immunol* 35, 3–11
- Hajishengallis G, Lamont RJ (2014): Breaking bad: Manipulation of the host response by *Porphyromonas gingivalis*. *Eur J Immunol* 44, 328–338
- Han JY, Reynolds MA (2012): Effect of anti-rheumatic agents on periodontal parameters and biomarkers of inflammation: a systematic review and meta-analysis. *J Periodontal Implant Sci* 42, 3–12
- Han Youqi, Runge Marschall S., Brasier Allan R. (1999): Angiotensin II Induces Interleukin-6 Transcription in Vascular Smooth Muscle Cells Through Pleiotropic Activation of Nuclear Factor- κ B Transcription Factors. *Circ Res* 84, 695–703
- He J, Li Y, Cao Y, Xue J, Zhou X (2015): The oral microbiome diversity and its relation to human diseases. *Folia Microbiol (Praha)* 60, 69–80
- Heinsen F-A, Fangmann D, Müller N, Schulte DM, Rühlemann MC, Türk K, Settgast U, Lieb W, Baines JF, Schreiber S, et al. (2016): Beneficial Effects of a Dietary Weight Loss Intervention on Human Gut Microbiome Diversity and Metabolism Are Not Sustained during Weight Maintenance. *Obes Facts* 9, 379–391
- Hense S, Luque Ramos A, Callhoff J, Albrecht K, Zink A, Hoffmann F (2016): Prävalenz der rheumatoiden Arthritis in Deutschland auf Basis von Kassendaten. *Z Für Rheumatol* 75, 819–827

- 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
- Holt LA, Williams KB, Cobb CM, Keselyak NT, Jamison CL, Brand VS (2004): Comparison of Probes for Microbial Contamination Following Use in Periodontal Pockets of Various Depths. *J Periodontol* 75, 353–359
- Honda K, Littman DR (2016): The microbiota in adaptive immune homeostasis and disease. *Nature* 535, 75–84
- Hotamisligil GS (2006): Inflammation and metabolic disorders. *Nature* 444, 860–867
- Hotamisligil GS (2017): Inflammation, metaflammation and immunometabolic disorders. *Nature* 542, 177–185
- Hu H, Jiang H, Ren H, Hu X, Wang X, Han C (2015): AGEs and chronic subclinical inflammation in diabetes: disorders of immune system. *Diabetes Metab Res Rev* 31, 127–137
- Hueber W, Sands BE, Lewitzky S, Vandemeulebroecke M, Reinisch W, Higgins PDR, Wehkamp J, Feagan BG, Yao MD, Karczewski M, et al. (2012): Secukinumab, a human anti-IL-17A monoclonal antibody, for moderate to severe Crohn's disease: unexpected results of a randomised, double-blind placebo-controlled trial. *Gut* 61, 1693–1700
- Hugot J-P, Chamaillard M, Zouali H, Lesage S, Cézard J-P, Belaiche J, Almer S, Tysk C, O'Morain CA, Gassull M, et al. (2001): Association of NOD2 leucine-rich repeat variants with susceptibility to Crohn's disease. *Nature* 411, 599–603
- Ikezawa I, Tai H, Shimada Y, Komatsu Y, Galicia JC, Yoshie H (2005): Imbalance between soluble tumour necrosis factor receptors type 1 and 2 in chronic periodontitis. *J Clin Periodontol* 32, 1047–1054
- Jaccard P (1902): Lois de distribution florale dans la zone alpine. *Bull Société Vaudoise Sci Nat* 38, 72
- Jiao Y, Darzi Y, Tawaratumida K, Marchesan JT, Hasegawa M, Moon H, Chen GY, Núñez G, Giannobile WV, Raes J, Inohara N (2013): Induction of Bone Loss by Pathobiont-Mediated Nod1 Signaling in the Oral Cavity. *Cell Host Microbe* 13, 595–601
- Johnson T, Gómez B, McIntyre M, Dubick M, Christy R, Nicholson S, Burmeister D (2018): The Cutaneous Microbiome and Wounds: New Molecular Targets to Promote Wound Healing. *Int J Mol Sci* 19, 2699
- Johnston DS, Nüsslein-Volhard C (1992): The origin of pattern and polarity in the *Drosophila* embryo. *Cell* 68, 201–219
- Jones-Hall YL, Nakatsu CH (2016): The Intersection of TNF, IBD and the Microbiome. *Gut*

Microbes 7, 58–62

Jostins L, Ripke S, Weersma RK, Duerr RH, McGovern DP, Hui KY, Lee JC, Schumm LP, Sharma Y, Anderson CA, et al. (2012): Host–microbe interactions have shaped the genetic architecture of inflammatory bowel disease. *Nature* 491, 119–124

Karst SM, Dueholm MS, McIlroy SJ, Kirkegaard RH, Nielsen PH, Albertsen M (2018): Retrieval of a million high-quality, full-length microbial 16S and 18S rRNA gene sequences without primer bias. *Nat Biotechnol* 36, 190–195

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

Kay J, Upchurch KS (2012): ACR/EULAR 2010 rheumatoid arthritis classification criteria. *Rheumatology* 51, vi5–vi9

Kim DH, Cheon JH (2017): Pathogenesis of Inflammatory Bowel Disease and Recent Advances in Biologic Therapies. *Immune Netw* 17, 25–40

Kim J-H, Kim AR, Choi YH, Jang S, Woo G-H, Cha J-H, Bak E-J, Yoo Y-J (2017): Tumor necrosis factor- α antagonist diminishes osteocytic RANKL and sclerostin expression in diabetes rats with periodontitis. *PloS One* 12, e0189702

Klitz U, Braun J, Becker A, Chenot J-F, Dreimann M, Hammel L, Heiligenhaus A, Hermann K-G, Klett R, Krause D, et al. (2019): S3-Leitlinie „Axiale Spondyloarthritis inklusive Morbus Bechterew und Frühformen“. *AWMF* 060/003, 251

Kobayashi T, Yokoyama T, Ito S, Kobayashi D, Yamagata A, Okada M, Oofusa K, Narita I, Murasawa A, Nakazono K, Yoshie H (2014): Periodontal and Serum Protein Profiles in Patients With Rheumatoid Arthritis Treated With Tumor Necrosis Factor Inhibitor Adalimumab. *J Periodontol* 85, 1480–1488

Kobayashi T, Ito S, Kobayashi D, Kojima A, Shimada A, Narita I, Murasawa A, Nakazono K, Yoshie H (2015): Interleukin-6 receptor inhibitor tocilizumab ameliorates periodontal inflammation in patients with rheumatoid arthritis and periodontitis as well as tumor necrosis factor inhibitors. *Clin Exp Dent Res* 1, 63–73

Kompier MA (2006): The “Hawthorne effect” is a myth, but what keeps the story going? *Scand J Work Environ Health* 32, 402–412

Kostic AD, Gevers D, Siljander H, Vatanen T, Hyötyläinen T, Hämäläinen A-M, Peet A, Tillmann V, Pöhö P, Mattila I, et al. (2015): The Dynamics of the Human Infant Gut Microbiome in Development and in Progression toward Type 1 Diabetes. *Cell Host Microbe* 17, 260–273

Kriegler M, Perez C, DeFay K, Albert I, Lu SD (1988): A novel form of TNF/cachectin is a

cell surface cytotoxic transmembrane protein: Ramifications for the complex physiology of TNF. *Cell* 53, 45–53

Kucharzik T, Dignass AU, Atreya R, Bokemeyer B, Esters P, Herrlinger K, Kannengießer K, Kienle P, Langhorst J, Lügering A, et al. (2019): Aktualisierte S3-Leitlinie Colitis ulcerosa. *Z Für Gastroenterol* 57, 1321–1405

Lamont RJ, Hajishengallis G (2015): Polymicrobial synergy and dysbiosis in inflammatory disease. *Trends Mol Med* 21, 172–183

Lamont RJ, Koo H, Hajishengallis G (2018): The oral microbiota: dynamic communities and host interactions. *Nat Rev Microbiol* 16, 745–759

LaMonte MJ, Genco RJ, Zheng W, McSkimming DI, Andrews CA, Hovey KM, Li L, Sun Y, Buck MJ, Millen AE, et al. (2018): Substantial Differences in the Subgingival Microbiome Measured by 16S Metagenomics According to Periodontitis Status in Older Women. *Dent J* 6

Langfeldt D, Neulinger SC, Stiesch M, Stumpp N, Bang C, Schmitz RA, Eberhard J (2014): Health- and disease-associated species clusters in complex natural biofilms determine the innate immune response in oral epithelial cells during biofilm maturation. *FEMS Microbiol Lett* 360, 137–143

Langley RG, Elewski BE, Lebwohl M, Reich K, Griffiths CEM, Papp K, Puig L, Nakagawa H, Spelman L, Sigurgeirsson B, et al. (2014): Secukinumab in Plaque Psoriasis — Results of Two Phase 3 Trials. *N Engl J Med* 371, 326–338

Larsen GL, Henson PM (1983): Mediators of Inflammation. *Annu Rev Immunol* 1, 335–359

Lees CW, Barrett JC, Parkes M, Satsangi J (2011): New IBD genetics: common pathways with other diseases. *Gut* 60, 1739–1753

Lemaitre B, Hoffmann J (2007): The Host Defense of *Drosophila melanogaster*. *Annu Rev Immunol* 25, 697–743

Levin AD, Wildenberg ME, van den Brink GR (2016): Mechanism of Action of Anti-TNF Therapy in Inflammatory Bowel Disease. *J Crohns Colitis* 10, 989–997

Ley RE, Bäckhed F, Turnbaugh P, Lozupone CA, Knight RD, Gordon JI (2005): Obesity alters gut microbial ecology. *Proc Natl Acad Sci U S A* 102, 11070

Ley RE, Turnbaugh PJ, Klein S, Gordon JI (2006): Human gut microbes associated with obesity. *Nature* 444, 1022–1023

Li H, Zuo J, Tang W (2018): Phosphodiesterase-4 Inhibitors for the Treatment of Inflammatory Diseases. *Front Pharmacol* 9, 1048–1048

Lira-Junior R, Figueredo CM (2016): Periodontal and inflammatory bowel diseases: Is there evidence of complex pathogenic interactions? *World J Gastroenterol* 22, 7963–7972

- Lloyd-Price J, Arze C, Ananthakrishnan AN, Schirmer M, Avila-Pacheco J, Poon TW, Andrews E, Ajami NJ, Bonham KS, Brislawn CJ, et al. (2019): Multi-omics of the gut microbial ecosystem in inflammatory bowel diseases. *Nature* 569, 655–662
- Loe H, Theilade E, Jensen SB (1965): EXPERIMENTAL GINGIVITIS IN MAN. *J Periodontol* 36, 177–187
- López-Ferrer A, Laiz A, Puig L (2017): The safety of ustekinumab for the treatment of psoriatic arthritis. *Expert Opin Drug Saf* 16, 733–742
- Lu TX, Cohen RD (2019): Maneuvering Clinical Pathways for Crohn's Disease. *Curr Gastroenterol Rep* 21, 20
- Lundmark A, Hu YOO, Huss M, Johannsen G, Andersson AF, Yucel-Lindberg T (2019): Identification of Salivary Microbiota and Its Association With Host Inflammatory Mediators in Periodontitis. *Front Cell Infect Microbiol* 9
- Ma X, Xu S (2013): TNF inhibitor therapy for rheumatoid arthritis. *Biomed Rep* 1, 177–184
- Madianos PN, Papapanou PN, Sandros J (1997): Porphyromonas gingivalis infection of oral epithelium inhibits neutrophil transepithelial migration. *Infect Immun* 65, 3983
- Maekawa T, Krauss JL, Abe T, Jotwani R, Triantafilou M, Triantafilou K, Hashim A, Hoch S, Curtis MA, Nussbaum G, et al. (2014): Porphyromonas gingivalis Manipulates Complement and TLR Signaling to Uncouple Bacterial Clearance from Inflammation and Promote Dysbiosis. *Cell Host Microbe* 15, 768–778
- 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
- Magne F, Gotteland M, Gauthier L, Zazueta A, Pesoa S, Navarrete P, Balamurugan R (2020): The Firmicutes/Bacteroidetes Ratio: A Relevant Marker of Gut Dysbiosis in Obese Patients? *Nutrients* 12, 1474
- Magoč T, Salzberg SL (2011): FLASH: fast length adjustment of short reads to improve genome assemblies. *Bioinforma Oxf Engl* 27, 2957–2963
- Marsh PD, Bradshaw DJ (1997): Physiological approaches to the control of oral biofilms. *Adv Dent Res* 11, 176–185
- Maspero C, Giannini L, Galbiati G, Prevedello C, Farronato G (2017): Periodontal conditions in juvenile idiopathic arthritis. *Minerva Stomatol* 66, 43–50
- Matsuzaki G, Umemura M (2018): Interleukin-17 family cytokines in protective immunity against infections: role of hematopoietic cell-derived and non-hematopoietic cell-derived interleukin-17s. *Microbiol Immunol* 62, 1–13

- Maxwell JR, Zhang Y, Brown WA, Smith CL, Byrne FR, Fiorino M, Stevens E, Bigler J, Davis JA, Rottman JB, et al. (2015): Differential Roles for Interleukin-23 and Interleukin-17 in Intestinal Immunoregulation. *Immunity* 43, 739–750
- Mayer Y, Balbir-Gurman A, Machtei EE (2009): Anti-Tumor Necrosis Factor-Alpha Therapy and Periodontal Parameters in Patients With Rheumatoid Arthritis. *J Periodontol* 80, 1414–1420
- McCauley LK, Nohutcu RM (2002): Mediators of Periodontal Osseous Destruction and Remodeling: Principles and Implications for Diagnosis and Therapy. *J Periodontol* 73, 1377–1391
- McInnes IB, Schett G (2011): The Pathogenesis of Rheumatoid Arthritis. *N Engl J Med* 365, 2205–2219
- McMurdie PJ, Holmes S (2013): phyloseq: An R Package for Reproducible Interactive Analysis and Graphics of Microbiome Census Data. *PLoS ONE* 8
- Mease PJ, Genovese MC, Greenwald MW, Ritchlin CT, Beaulieu AD, Deodhar A, Newmark R, Feng J, Erondu N, Nirula A (2014): Brodalumab, an Anti-IL17RA Monoclonal Antibody, in Psoriatic Arthritis. *N Engl J Med* 370, 2295–2306
- Medzhitov R (2008): Origin and physiological roles of inflammation. *Nature* 454, 428–435
- Meyle J, Chapple I (2015): Molecular aspects of the pathogenesis of periodontitis. *Periodontol 2000* 69, 7–17
- Miossec P, Kolls JK (2012): Targeting IL-17 and TH17 cells in chronic inflammation. *Nat Rev Drug Discov* 11, 763–776
- Miossec P, Korn T, Kuchroo VK (2009): Interleukin-17 and Type 17 Helper T Cells. *N Engl J Med* 361, 888–898
- Moffatt MF, Cookson WO (2017): The lung microbiome in health and disease. *Clin Med* 17, 525–529
- Molodecky NA, Soon IS, Rabi DM, Ghali WA, Ferris M, Chernoff G, Benchimol EI, Panaccione R, Ghosh S, Barkema HW, Kaplan GG (2012): Increasing Incidence and Prevalence of the Inflammatory Bowel Diseases With Time, Based on Systematic Review. *Gastroenterology* 142, 46-54.e42
- Moltó A, Etcheto A, van der Heijde D, Landewé R, van den Bosch F, Bautista Molano W, Burgos-Vargas R, Cheung PP, Collantes-Estevez E, Deodhar A, et al. (2016): Prevalence of comorbidities and evaluation of their screening in spondyloarthritis: results of the international cross-sectional ASAS-COMOSPA study. *Ann Rheum Dis* 75, 1016–1023
- Mombelli A (2018): Microbial colonization of the periodontal pocket and its significance for

- periodontal therapy. *Periodontol 2000* 76, 85–96
- 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
- Moseley TA, Haudenschild DR, Rose L, Reddi AH (2003): Interleukin-17 family and IL-17 receptors. *Cytokine Growth Factor Rev* 14, 155–174
- Moss ML, Jin S-LC, Milla ME, Burkhardt W, Carter HL, Chen W-J, Clay WC, Didsbury JR, Hassler D, Hoffman CR, et al. (1997): Cloning of a disintegrin metalloproteinase that processes precursor tumour-necrosis factor- α . *Nature* 385, 733–736
- Moutsopoulos NM, Kling HM, Angelov N, Jin W, Palmer RJ, Nares S, Osorio M, Wahl SM (2012): Porphyromonas gingivalis promotes Th17 inducing pathways in chronic periodontitis. *J Autoimmun* 39, 294–303
- Moutsopoulos NM, Konkel J, Sarmadi M, Eskan MA, Wild T, Dutzan N, Abusleme L, Zenobia C, Hosur KB, Abe T, et al. (2014): Defective Neutrophil Recruitment in Leukocyte Adhesion Deficiency Type I Disease Causes Local IL-17–Driven Inflammatory Bone Loss. *Sci Transl Med* 6, 229ra40
- Moutsopoulos NM, Zerbe CS, Wild T, Dutzan N, Brenchley L, DiPasquale G, Uzel G, Axelrod KC, Lisco A, Notarangelo Lucia D., et al. (2017): Interleukin-12 and Interleukin-23 Blockade in Leukocyte Adhesion Deficiency Type 1. *N Engl J Med* 376, 1141–1146
- Mukaida N, Okamoto S, Ishikawa Y, Matsushima K (1994): Molecular mechanism of interleukin-8 gene expression. *J Leukoc Biol* 56, 554–558
- Murphy KP, Janeway C, Travers P, Walport M, Mowat A, Weaver CT: Janeway's immunobiology. 8. Auflage; Garland Science, London [u.a.] 2012
- Nakajima T, Ueki-Maruyama K, Oda T, Ohsawa Y, Ito H, Seymour GJ, Yamazaki K (2005): Regulatory T-cells Infiltrate Periodontal Disease Tissues. *J Dent Res* 84, 639–643
- Nam JL, Winthrop KL, van Vollenhoven RF, Pavelka K, Valesini G, Hensor EMA, Worthy G, Landewé R, Smolen JS, Emery P, Buch MH (2010): Current evidence for the management of rheumatoid arthritis with biological disease-modifying antirheumatic drugs: a systematic literature review informing the EULAR recommendations for the management of RA. *Ann Rheum Dis* 69, 976
- Nast A, Boehncke W-H, Mrowietz U, Ockenfels H-M, Philipp S, Reich K, Rosenbach T, Sammain A, Schlaeger M, Sebastian M, et al. (2011): S3-Leitlinie zur Therapie der Psoriasis vulgaris Update 2011. *JDDG J Dtsch Dermatol Ges* 9, S1–S104
- Nestle FO, Kaplan DH, Barker J (2009): Psoriasis. *N Engl J Med* 361, 496–509

- Nguyen VN, Miller C, Sunderland J, McGuiness W (2018): Understanding the Hawthorne effect in wound research-A scoping review. *Int Wound J* 15, 1010–1024
- Nishita M, Itsukushima S, Nomachi A, Endo M, Wang Z, Inaba D, Qiao S, Takada S, Kikuchi A, Minami Y (2010): Ror2/Frizzled Complex Mediates Wnt5a-Induced AP-1 Activation by Regulating Dishevelled Polymerization. *Mol Cell Biol* 30, 3610–3619
- Nonaka K, Kajiura Y, Bando M, Sakamoto E, Inagaki Y, Lew JH, Naruishi K, Ikuta T, Yoshida K, Kobayashi T, et al. (2018): Advanced glycation end-products increase IL-6 and ICAM-1 expression via RAGE, MAPK and NF-κB pathways in human gingival fibroblasts. *J Periodontal Res* 53, 334–344
- Öğrendik M (2017): Oral Anaerobic Bacteria in the Etiology of Ankylosing Spondylitis. *Clin Med Insights Arthritis Musculoskelet Disord* 10, 117954411771299
- Ogura Y, Bonen DK, Inohara N, Nicolae DL, Chen FF, Ramos R, Britton H, Moran T, Karaliuskas R, Duerr RH, et al. (2001): A frameshift mutation in NOD2 associated with susceptibility to Crohn's disease. *Nature* 411, 603–606
- O'Hara AM, Shanahan F (2006): The gut flora as a forgotten organ. *EMBO Rep* 7, 688–693
- Ohyama H, Kato-Kogoe N, Kuhara A, Nishimura F, Nakasho K, Yamanegi K, Yamada N, Hata M, Yamane J, Terada N (2009): The Involvement of IL-23 and the Th17 Pathway in Periodontitis. *J Dent Res* 88, 633–638
- O'Rielly DD, Rahman P (2018): A review of ixekizumab in the treatment of psoriatic arthritis. *Expert Rev Clin Immunol* 14, 993–1002
- Pablo P de, Dietrich T, McAlindon TE (2008): Association of periodontal disease and tooth loss with rheumatoid arthritis in the US population. *J Rheumatol* 35, 70–76
- Padmanabha D, Baker KD (2014): Drosophila gains traction as a repurposed tool to investigate metabolism. *Trends Endocrinol Metab* 25, 518–527
- Page RC (1991): The role of inflammatory mediators in the pathogenesis of periodontal disease. *J Periodontal Res* 26, 230–242
- Palladino MA, Bahjat FR, Theodorakis EA, Moldawer LL (2003): Anti-TNF-α therapies: the next generation. *Nat Rev Drug Discov* 2, 736–746
- Papageorgiou SN, Hagner M, Nogueira AVB, Franke A, Jäger A, Deschner J (2017): Inflammatory bowel disease and oral health: systematic review and a meta-analysis. *J Clin Periodontol* 44, 382–393
- Papaioannou W, Bollen CML, Van Eldere J, Quirynen M (1996): The Adherence of Periodontopathogens to Periodontal Probes. A Possible Factor in Intra-Oral Transmission? *J Periodontol* 67, 1164–1169

- 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
- Parkin J, Cohen B (2001): An overview of the immune system. *The Lancet* **357**, 1777–1789
- Pers J-O, Saraux A, Pierre R, Youinou P (2008): Anti-TNF- α Immunotherapy Is Associated With Increased Gingival Inflammation Without Clinical Attachment Loss in Subjects With Rheumatoid Arthritis. *J Periodontol* **79**, 1645–1651
- Potempa J, Mydel P, Koziel J (2017): The case for periodontitis in the pathogenesis of rheumatoid arthritis. *Nat Rev Rheumatol* **13**, 606–620
- Preshaw PM, Alba AL, Herrera D, Jepsen S, Konstantinidis A, Makrilia K, Taylor R (2012): Periodontitis and diabetes: a two-way relationship. *Diabetologia* **55**, 21–31
- R Core Team (2019): R: A language and environment for statistical computing.
- Ramonda R, Lorenzin M, Carriero A, Chimenti MS, Scarpa R, Marchesoni A, Lubrano E, Salvarani C, Cauli A, Semeraro A, et al. (2021): Effectiveness and safety of secukinumab in 608 patients with psoriatic arthritis in real life: a 24-month prospective, multicentre study. *RMD Open* **7**, e001519
- Ratz T, Dean LE, Atzeni F, Reeks C, Macfarlane GJ, Macfarlane TV (2015): A possible link between ankylosing spondylitis and periodontitis: a systematic review and meta-analysis. *Rheumatology* **54**, 500–510
- Rehart S, Braune C, Hilker A, Effenberger H (2005): Die Schwanenhals- und die Knopflochdeformität an den rheumatischen Langfingern. *Orthop* **34**, 39–46
- Rendon A, Schäkel K (2019): Psoriasis Pathogenesis and Treatment. *Int J Mol Sci* **20**
- Ribeiro AA, Jiao Y, Girnary M, Alves T, Chen L, Farrell A, Wu D, Teles F, Inohara N, Swanson KV, Marchesan JT (2022): Oral biofilm dysbiosis during experimental periodontitis. *Mol Oral Microbiol* **37**, 256–265
- Ricciuto A, Kamath BM, Griffiths AM (2018): The IBD and PSC Phenotypes of PSC-IBD. *Curr Gastroenterol Rep* **20**, 16
- Richter A, Birkenfeld F, Bang C, Graetz C, Morrison PJ, Mrowietz U: Induktion proentzündlicher Zytokine in humanen Gingiva- und Hautfibroblasten durch Bakterien des dysbiotischen Biofilms bei Parodontitis. In: 68. Jahrestagung der Arbeitsgemeinschaft für Kieferchirurgie39. Jahrestagung des Arbeitskreises für Oralpathologie und Oralmedizin (DZZ – Deutsche Zahnärztliche Zeitschrift / German Dental Journal). Deutsche Gesellschaft für Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde e.V. 2018

- Roberts FA, Darveau RP (2015): Microbial protection and virulence in periodontal tissue as a function of polymicrobial communities: symbiosis and dysbiosis. *Periodontol 2000* 69, 18–27
- Romero-Sanchez C, Rodríguez C, Santos-Moreno P, Mesa AM, Lafaurie GI, Giraldo-Q S, De-Avila J, Castillo DM, Duran M, Chalem PC, et al. (2017): Is the Treatment with Biological or Non-biological DMARDs a Modifier of Periodontal Condition in Patients with Rheumatoid Arthritis? *Curr Rheumatol Rev* 13, 139–151
- Rose-John S (2012): IL-6 Trans-Signaling via the Soluble IL-6 Receptor: Importance for the Pro-Inflammatory Activities of IL-6. *Int J Biol Sci* 8, 1237–1247
- Rose-John S (2017): The Soluble Interleukin 6 Receptor: Advanced Therapeutic Options in Inflammation. *Clin Pharmacol Ther* 102, 591–598
- Rose-John S, Winthrop K, Calabrese L (2017): The role of IL-6 in host defence against infections: immunobiology and clinical implications. *Nat Rev Rheumatol* 13, 399–409
- Ross R (1999): Atherosclerosis — An Inflammatory Disease. *N Engl J Med* 340, 115–126
- Rudwaleit M, Landewe R, van der Heijde D, Listing J, Brandt J, Braun J, Burgos-Vargas R, Collantes-Estevez E, Davis J, Dijkmans B, et al. (2009a): The development of Assessment of SpondyloArthritis international Society classification criteria for axial spondyloarthritis (part I): classification of paper patients by expert opinion including uncertainty appraisal. *Ann Rheum Dis* 68, 770–776
- Rudwaleit M, van der Heijde D, Landewe R, Listing J, Akkoc N, Brandt J, Braun J, Chou CT, Collantes-Estevez E, Dougados M, et al. (2009b): The development of Assessment of SpondyloArthritis international Society classification criteria for axial spondyloarthritis (part II): validation and final selection. *Ann Rheum Dis* 68, 777–783
- Rycke LD, Peene I, Hoffman IEA, Kruithof E, Union A, Meheus L, Lebeer K, Wyns B, Vincent C, Mielants H, et al. (2004): Rheumatoid factor and anticitrullinated protein antibodies in rheumatoid arthritis: diagnostic value, associations with radiological progression rate, and extra-articular manifestations. *Ann Rheum Dis* 63, 1587–1593
- S3-Leitlinie Diagnostik und Therapie des Morbus Crohn (2021)
- Sakkas LI, Bogdanos DP (2017): Are psoriasis and psoriatic arthritis the same disease? The IL-23/IL-17 axis data. *Autoimmun Rev* 16, 10–15
- Savage DC (1977): Microbial ecology of the gastrointestinal tract. *Annu Rev Microbiol* 31, 107–133
- Scher JU, Sczesnak A, Longman RS, Segata N, Ubeda C, Bielski C, Rostron T, Cerundolo V, Pamer EG, Abramson SB, et al. (2013): Expansion of intestinal Prevotella copri correlates with enhanced susceptibility to arthritis. *eLife* 2

- Scher JU, Littman DR, Abramson SB (2016): Review: Microbiome in Inflammatory Arthritis and Human Rheumatic Diseases. *Arthritis Rheumatol* 68, 35–45
- Schreiber S (2015): An update on biosimilar drugs for inflammatory bowel disease. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol* 9, 1–3
- Schreiber S, Colombel J-F, Feagan BG, Reich K, Deodhar AA, McInnes IB, Porter B, Das Gupta A, Pricop L, Fox T (2019): Incidence rates of inflammatory bowel disease in patients with psoriasis, psoriatic arthritis and ankylosing spondylitis treated with secukinumab: a retrospective analysis of pooled data from 21 clinical trials. *Ann Rheum Dis* 78, 473–479
- Schulz J: Untersuchung der Serumkonzentrationen von secreted frizzled-related protein 5 bei Probanden mit Parodontitis in der Kieler FoCUS-Kohorte. Kiel 2020
- Schulz J, Knappe C, Graetz C, Mewes L, Türk K, Black AK, Lieb W, Schäfer AS, El-Sayed KMF, Dörfer CE, et al. (2019): Secreted frizzled-related protein 5 serum levels in human periodontitis—A nested case-control study. *J Clin Periodontol* 46, 522–528
- Schulz S, Pütz N, Jurianz E, Schaller H-G, Reichert S (2019): Are There Any Common Genetic Risk Markers for Rheumatoid Arthritis and Periodontal Diseases? A Case-Control Study. *Mediators Inflamm* 2019, 1–11
- Scott DL, Wolfe F, Huizinga TW (2010): Rheumatoid arthritis. *The Lancet* 376, 1094–1108
- Shannon CE (1948): A Mathematical Theory of Communication. *Bell Syst Tech J* 27, 379–423
- Shi M, Wei Y, Hu W, Nie Y, Wu X, Lu R (2018): The Subgingival Microbiome of Periodontal Pockets With Different Probing Depths in Chronic and Aggressive Periodontitis: A Pilot Study. *Front Cell Infect Microbiol* 8, 124
- Simpson EH (1949): Measurement of Diversity. *Nature* 163, 688–688
- Singer AJ, Clark RAF (1999): Cutaneous Wound Healing. *N Engl J Med* 341, 738–746
- 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
- Smit S, Widmann J, Knight R (2007): Evolutionary rates vary among rRNA structural elements. *Nucleic Acids Res* 35, 3339–3354
- Socransky SS, Haffajee AD, Cugini MA, Smith C, Kent RL (1998): Microbial complexes in subgingival plaque. *J Clin Periodontol* 25, 134–144
- Stark MA, Huo Y, Burcin TL, Morris MA, Olson TS, Ley K (2005): Phagocytosis of Apoptotic Neutrophils Regulates Granulopoiesis via IL-23 and IL-17. *Immunity* 22, 285–294
- Stern S, Powers T, Changchien L, Noller H (1989): RNA-protein interactions in 30S ribosomal

- subunits: folding and function of 16S rRNA. *Science* 244, 783
- Strober W, Fuss IJ, Blumberg RS (2002): The Immunology of Mucosal Models of Inflammation. *Annu Rev Immunol* 20, 495–549
- Tahir H, Deodhar A, Genovese M, Takeuchi T, Aelion J, Van den Bosch F, Haemmerle S, Richards HB (2017): Secukinumab in Active Rheumatoid Arthritis after Anti-TNF α Therapy: A Randomized, Double-Blind Placebo-Controlled Phase 3 Study. *Rheumatol Ther* 4, 475–488
- Takahashi N, Okui T, Tabeta K, Yamazaki K (2011): Effect of interleukin-17 on the expression of chemokines in gingival epithelial cells. *Eur J Oral Sci* 119, 339–344
- Targan S, Feagan B, Vermeire S, Panaccione R, Melmed G, Landers C, Li D, Russell C, Newmark R, Zhang N, et al. (2016): A Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Phase 2 Study of Brodalumab in Patients With Moderate-to-Severe Crohn's Disease. *Am J Gastroenterol* 111, 1599–1607
- Teles R, Teles F, Frias-Lopez J, Paster B, Haffajee A (2013): Lessons learned and unlearned in periodontal microbiology. *Periodontol 2000* 62, 95–162
- Thaiss CA, Zmora N, Levy M, Elinav E (2016): The microbiome and innate immunity. *Nature* 535, 65–74
- Thilagar S, Theyagarajan R, Sudhakar U, Suresh S, Saketharaman P, Ahamed N (2018): Comparison of serum tumor necrosis factor- α levels in rheumatoid arthritis individuals with and without chronic periodontitis: A biochemical study. *J Indian Soc Periodontol* 22, 116
- Tonetti MS, Van Dyke TE (2013): Periodontitis and atherosclerotic cardiovascular disease: consensus report of the Joint EFP/AAP Workshop on Periodontitis and Systemic Diseases. *J Periodontol* 84, S24–S29
- Trinchieri G (2003): Interleukin-12 and the regulation of innate resistance and adaptive immunity. *Nat Rev Immunol* 3, 133–146
- Turnbaugh PJ, Hamady M, Yatsunenko T, Cantarel BL, Duncan A, Ley RE, Sogin ML, Jones WJ, Roe BA, Affourtit JP, et al. (2009): A core gut microbiome in obese and lean twins. *Nature* 457, 480–484
- Ungprasert P, Wijarnpreecha K, Wetter DA (2017): Periodontitis and Risk of Psoriasis: A Systematic Review and Meta-analysis. *J Eur Acad Dermatol Venereol JEADV* 31, 857–862
- van der Heijde DMFM (1995): Joint Erosions and Patients with Early Rheumatoid Arthritis. *Rheumatology* XXXIV, 74–78
- Van Linden SMD, Valkenburg HA, Jongh BMD, Cats A (1984): The risk of developing ankylosing spondylitis in HLA-B27 positive individuals. *Arthritis Rheum* 27, 241–249
- Vernal R, Dutzan N, Chaparro A, Puente J, Valenzuela MA, Gamonal J (2005): Levels of

interleukin-17 in gingival crevicular fluid and in supernatants of cellular cultures of gingival tissue from patients with chronic periodontitis. *J Clin Periodontol* 32, 383–389

Vincent C, Keyser F de, Masson-Bessière C, Sebag M, Veys EM, Serre G (1999): Anti-perinuclear factor compared with the so called “antikeratin” antibodies and antibodies to human epidermis filaggrin, in the diagnosis of arthritides. *Ann Rheum Dis* 58, 42–48

Vries TJ de, Yousovich J, Schoenmaker T, Scheres N, Everts V (2016): Tumor necrosis factor- α antagonist infliximab inhibits osteoclast formation of peripheral blood mononuclear cells but does not affect periodontal ligament fibroblast-mediated osteoclast formation. *J Periodontal Res* 51, 186–195

Waaler E (1939): On The Occurrence Of A Factor In Human Serum Activating The Specific Agglutintion of Sheep Blood Corpuscles. *APMIS* 115, 422–438

Wegner N, Wait R, Sroka A, Eick S, Nguyen K-A, Lundberg K, Kinloch A, Culshaw S, Potempa J, Venables PJ (2010): Peptidylarginine deiminase from *Porphyromonas gingivalis* citrullinates human fibrinogen and α -enolase: Implications for autoimmunity in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 62, 2662–2672

Wehkamp J, Götz M, Herrlinger K, Steurer W, Stange EF (2016): Chronisch entzündliche Darmerkrankungen. *Dtsch Ärztebl* 72–82

Wen L, Ley RE, Volchkov PYu, Stranges PB, Avanesyan L, Stonebraker AC, Hu C, Wong FS, Szot GL, Bluestone JA, et al. (2008): Innate immunity and intestinal microbiota in the development of Type 1 diabetes. *Nature* 455, 1109–1113

Whitman WB, Coleman DC, Wiebe WJ (1998): Prokaryotes: The unseen majority. *Proc Natl Acad Sci* 95, 6578

Woeste S, Graetz C, Gerdes S, Mrowietz U (2019): Oral Health in Patients with Psoriasis-A Prospective Study. *J Invest Dermatol*

Wolf HF, Rateitschak-Plüss EM, Rateitschak K-H, Schroeder HE: Parodontologie. 3. Auflage; Thieme, Stuttgart [u.a.] 2012

Wolf N, Quaranta M, Prescott NJ, Allen M, Smith R, Burden AD, Worthington J, Griffiths CEM, Mathew CG, Barker JN, et al. (2008): Psoriasis is associated with pleiotropic susceptibility loci identified in type II diabetes and Crohn disease. *J Med Genet* 45, 114

Yan SF, Ramasamy R, Schmidt AM (2009): Receptor for AGE (RAGE) and its ligands-cast into leading roles in diabetes and the inflammatory response. *J Mol Med Berl Ger* 87, 235–247

Yost J, Gudjonsson JE (2009): The role of TNF inhibitors in psoriasis therapy: new implications for associated comorbidities. *F1000Prime Rep* 1

Zhang Y-Z, Li Y-Y (2014): Inflammatory bowel disease: pathogenesis. *World J Gastroenterol*

20, 91–99

Zhou J, Yao Y, Jiao K, Zhang J, Zheng X, Wu F, Hu X, Li J, Yu Z, Zhang G, et al. (2017): Relationship between Gingival Crevicular Fluid Microbiota and Cytokine Profile in Periodontal Host Homeostasis. *Front Microbiol* 8, 2144

Zhou L, Dörfer CE, Chen L, Fawzy El-Sayed KM (2017): Porphyromonas gingivalis lipopolysaccharides affect gingival stem/progenitor cells attributes through NF-κB, but not Wnt/β-catenin, pathway. *J Clin Periodontol* 44, 1112–1122

Zhou R, Shen L, Yang C, Wang L, Guo H, Yang P, Song A (2018): Periodontitis May Restrain the Mandibular Bone Healing via Disturbing Osteogenic and Osteoclastic Balance. *Inflammation* 41, 972–983

Danksagung

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

Zuerst gilt mein Dank meinem Doktorvater und Mentor Professor Dr. med. Dominik M. Schulte. Ich danke sehr, für das mir entgegengebrachte Vertrauen bei der Überlassung dieses Themas sowie für die fortwährende großartige Unterstützung, Anleitung und Förderung in den letzten Jahren bei der Entstehung meiner zahnmedizinischen und humanmedizinischen Dissertation und darüber hinaus.

Zudem danke ich Herrn Prof. Dr. Dr. Wiltfang für das mir entgegengebrachte Vertrauen und die Unterstützung bei der Entstehung dieser und anderer Arbeiten. Zudem danke ich Herrn Professor Dr. med. Matthias Laudes für seine fortwährende Unterstützung und Förderung. Ein herzliches Dankeschön gilt auch Herrn Professor Dr. med. dent. Christian Graetz für die bisherige großartige Zusammenarbeit. Dr. Carina Knappe gilt ein besonderer Dank für den stets gewinnbringenden Austausch und die Zusammenarbeit bei allen Computerfragen. Louisa Mewes danke ich ebenfalls für die Zusammenarbeit bei der Entstehung der untersuchten Kohorte. Zudem danke ich Frau Zahnen ausdrücklich für die hilfreiche Unterstützung bei der Rekrutierung der Kohorte.

Vielen Dank auch Katharina Hartmann und Kathrin Türk für die immer freundliche Unterstützung in allen Belangen. Ich möchte mich darüber hinaus bei der gesamten AG Laudes für den regen wissenschaftlichen Austausch bedanken.

Der herzlichste Dank gilt außerdem meinen Eltern, Marion und Dr. med. dent. Christian Schulz für ihre Unterstützung, insbesondere während der langen Studienjahre.

Last but not least möchte ich meinem Ehemann Malte Wagner für seine fortwährende Unterstützung, sei es mental oder grammatisch und sprachlich, bei der Entstehung dieser und damit meiner letzten Doktorarbeit, ausdrücklich auch auf diesem Wege danken.

Vielen Dank!