

Die Rolle der Ernährung und einzelner Ernährungsfaktoren bei der Parodontitis

Dissertation

zur Erlangung des akademischen Grades
doctor rerum naturalium (Dr. rer. nat.)

vorgelegt dem Rat der Biologisch-Pharmazeutischen Fakultät
der Friedrich-Schiller-Universität Jena

von Diplom-Trophologin

Henrike Staudte

geboren am 9. August 1976 in Jena

Gutachter:

1. Prof. Dr. Roland Bitsch, Jena
2. Prof. Dr. Eike Glockmann, Jena
3. Prof. Dr. Dr. Anton Sculean, Nijmegen

Tag der Promotionsprüfung: 24. August 2005

Tag der öffentlichen Verteidigung: 04. Oktober 2005

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis	6
Abbildungsverzeichnis	7
Tabellenverzeichnis	9

1 Thematische Grundlagen

1. 1	Ätiologische Besonderheiten der Parodontitis	10
1. 1. 1	Das parodontale Gewebe	10
1. 1. 2	Die Rolle parodontopathogener Bakterien	12
1. 2	Der Einfluss von Ernährungsfaktoren auf die parodontale Gesundheit	16
1. 2. 1	Hauptnährstoffe	17
1. 2. 2	Fettlösliche Vitamine	18
1. 2. 3	Wasserlösliche Vitamine	20
1. 2. 4	Mengen- und Spurenelemente	21
1. 2. 5	Sekundäre Pflanzenstoffe	23

Teil 1: In-vitro Untersuchung der zytotoxischen Wirkung von *P. gingivalis* auf humane gingivale Fibroblasten und die Effekte von Ascorbinsäure

2	Einleitung und Zielstellung	25
3	Material und Methoden	
3. 1	Kultivierung humaner gingivaler Fibroblasten	26
3. 1. 1	Primärkultur	26
3. 1. 2	Subkultur	26
3. 1. 3	Ascorbinsäurebehandlung	27
3. 2	Kultivierung von <i>Porphyromonas gingivalis</i>	27
3. 3	Infektion mit <i>Porphyromonas gingivalis</i>	28
3. 4	Bestimmung der Vitalitätsrate (MTT)	29
3. 5	Bestimmung der Apoptoserate (Annexin-V-FITC)	30
3. 6	Messung der Superoxidfreisetzung (Cytochrom C)	30
3. 7	Mikroskopische Analyse	31
3. 8	Statistische Prüfverfahren	32

4 Ergebnisse	
4.1 Die Wirkung von Ascorbinsäure auf die Vitalität gingivaler Fibroblasten	33
4.2 Die Wirkung von <i>P. gingivalis</i> auf die Vitalität gingivaler Fibroblasten	34
4.3 Die Wirkung von <i>P. gingivalis</i> auf die Apoptose gingivaler Fibroblasten	38
4.4 Die Wirkung von <i>P. gingivalis</i> auf die Superoxidfreisetzung	39
4.5 Mikroskopische Analyse	40

5 Diskussion	
5.1 Die zytotoxische Wirkung von <i>P. gingivalis</i>	44
5.2 Die protektive Wirkung von Ascorbinsäure	48

Teil 2: Analyse der Nährstoffaufnahme von Patienten mit Parodontitis im Vergleich zu gesunden Probanden

6 Einleitung und Zielstellung	54
--------------------------------------	----

7 Material und Methoden	
7.1 Auswahl der Probandengruppen	55
7.2 Parodontologische Befunderhebung	55
7.3 Fragebogen und Ernährungserhebung (7-Tage-Ernährungsprotokoll)	57
7.4 Bestimmung des Vitamin C – Plasmaspiegels	58
7.5 Statistische Prüfverfahren	59

8 Ergebnisse	
8.1 Klinische Befunderhebung	60
8.2 Body Mass Index (BMI)	60
8.3 Auswertung der 7-Tage-Ernährungsprotokolle	61
8.4 Vitamin C – Plasmaspiegel	70

9 Diskussion	
9.1 Zusammenhänge zwischen Körpergewicht und Parodontitisrisiko	72
9.2 Nährstoffversorgung bei Parodontitispatienten	73
9.3 Obst- und Gemüseverzehr bei Parodontitispatienten	80

10 Zusammenfassung	83
11 Schlussfolgerung und Ausblick	85
Literaturverzeichnis	86

Abkürzungsverzeichnis

AA	Ascorbinsäure
AFR	freies Ascorbatradikal
BMI	Body Mass Index
DGE	Deutsche Gesellschaft für Ernährung
DMEM	Dulbecco´s modifiziertes Eagle Medium
DSMZ	Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkultur
DNP	2,4 - Dinitrophenylhydrazin
FCS	Fetales Kälberserum
FR	Freie Radikale
HGF	Humane gingivale Fibroblasten
IL	Interleukin
KH	Kohlenhydrate
KÜ	Kulturüberstand
LPS	Lipopolysaccharide
OD	optische Dichte
PBS	Phosphat gepufferte Salzlösung
PFA	Paraformaldehyd
PI	Plaqueindex
PJ	Propidium - Jodid
PMNL	Polymorphkernige neutrophile Leukozyten
REM	Rasterelektronenmikroskop
RG	Referenzgruppe
RÄ	Retinoläquivalent
ROS	Reaktive Sauerstoffverbindungen
SBE	sonicated bacterial extract
SBI	Sulkusblutungsindex
SOD	Superoxiddismutase
ST	Sondierungstiefe
TÄ	Tocopheroläquivalent
TG	Testgruppe
THF	Tetrahydrofolsäure
TNF	Tumor Nekrose Faktor

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 3-1: Gingivales Gewebe mit Fibroblastenbildung (Primärkultur).	26
Abbildung 3-2: Humane gingivale Fibroblasten (Subkultur).	27
Abbildung 3-3: <i>P. gingivalis</i> ATCC 33277.	28
Abbildung 4-1: Mittelwerte der Vitalitätsrate humaner gingivaler Fibroblasten im MTT-Test nach der Behandlung mit Ascorbinsäure in Abhängigkeit von der Konzentration.	34
Abbildung 4-2: Mittelwerte der Vitalitätsrate humaner gingivaler Fibroblasten im MTT-Test nach der Behandlung mit dem KÜ einer <i>P. gingivalis</i> Kultur, in Abhängigkeit von der Konzentration und der Inkubationszeit.	35
Abbildung 4-3: Mittelwerte der Vitalitätsrate humaner gingivaler Fibroblasten nach der Behandlung mit aktiven <i>P. gingivalis</i> Bakterien in Abhängigkeit von der Inkubationszeit.	36
Abbildung 4-4: Mittelwerte der Vitalitätsrate humaner gingivaler Fibroblasten nach der Behandlung mit aktiven <i>P. gingivalis</i> Bakterien bzw. mit Ascorbinsäure.	37
Abbildung 4-5: Mittelwerte der prozentualen Anteile vitaler, apoptotischer und nekrotischer Fibroblasten nach der Behandlung mit <i>P. gingivalis</i> bzw. mit <i>P. gingivalis</i> und Ascorbinsäure (AA).	39
Abbildung 4-6: Superoxidkonzentration im Zellmedium humaner gingivaler Fibroblasten während der Behandlung mit aktiven <i>P. gingivalis</i> Bakterien.	40
Abbildung 4-7: Gingivale Fibroblasten ohne bakterielle Infektion (a bis c).	41
Abbildung 4-8: Gingivale Fibroblasten mit <i>P. gingivalis</i> Infektion (a, b)	42
Abbildung 8-1: Vergleich der prozentualen Anteile im jeweiligen BMI-Klassifizierungsbereich zwischen Parodontitispatienten und der Referenzgruppe.	61
Abbildung 8-2: Mittelwerte der Energiezufuhr in kcal/d. Vergleich zwischen Parodontitispatienten und Referenzgruppe, differenziert nach dem Geschlecht.	62
Abbildung 8-3: Mittelwerte der Ballaststoffzufuhr in g/d. Vergleich zwischen Parodontitispatienten und Referenzgruppe.	63

Abbildung 8-4: Mittelwerte der Vitamin A-Aufnahme in mgRÄ/d. Vergleich zwischen Parodontitispatienten und Referenzgruppe, differenziert nach dem Geschlecht.	64
Abbildung 8-5: Mittelwerte der Vitamin E-Aufnahme in mgTÄ/d. Vergleich zwischen Parodontitispatienten und Referenzgruppe, differenziert nach dem Geschlecht.	64
Abbildung 8-6: Mittelwerte der Vitamin B ₁ - Aufnahme in mg/d. Vergleich zwischen Parodontitispatienten und Referenzgruppe, differenziert nach dem Geschlecht.	65
Abbildung 8-7: Mittelwerte der Vitamin C - Aufnahme in mg/d. Vergleich zwischen Parodontitispatienten und Referenzgruppe, differenziert nach dem Geschlecht.	66
Abbildung 8-8: Mittelwerte der Folsäure - Aufnahme in µg/d. Vergleich zwischen Parodontitispatienten und Referenzgruppe, differenziert nach dem Geschlecht.	67
Abbildung 8-9: Mittelwerte der Magnesium - Aufnahme in mg/d. Vergleich zwischen Parodontitispatienten und Referenzgruppe, differenziert nach dem Geschlecht.	68
Abbildung 8-10: Prozentualer Anteil verschiedener Obstsorten im Frischobstverzehr der Testgruppe und der Referenzgruppe.	70
Abbildung 8-11: Prozentuale Anteile der Parodontitispatienten in den entsprechenden Klassifizierungsbereichen für die Vitamin C-Versorgung.	70
Abbildung 8-12: Mittelwerte der Vitamin C – Plasmaspiegel in mg/dl. Vergleich zwischen Parodontitispatienten und Referenzgruppe.	71

Tabellenverzeichnis

Tabelle 4-1: Mittelwerte der optischen Dichte im MTT-Test nach der Behandlung mit Ascorbinsäure.	33
Tabelle 4-2: Mittelwerte der optischen Dichte im MTT-Test nach der Behandlung mit dem KÜ einer <i>P. gingivalis</i> Kultur.	35
Tabelle 4-3: Mittelwerte der optischen Dichte im MTT-Test nach der Behandlung mit aktiven <i>P. gingivalis</i> Bakterien.	36
Tabelle 4-4: Mittelwerte der optischen Dichte im MTT-Test nach der Behandlung mit aktiven <i>P. gingivalis</i> Bakterien und Ascorbinsäure.	37
Tabelle 4-5: Prozentuale Anteile vitaler, apoptotischer und nekrotischer Fibroblasten nach der Behandlung mit aktiven <i>P. gingivalis</i> Bakterien und Ascorbinsäure.	38
Tabelle 8-1: Daten der parodontologischen Befunderhebung.	60
Tabelle 8-2: Mittelwerte der Kohlenhydrat-, Fett- und Eiweißaufnahme, differenziert nach dem Geschlecht.	62
Tabelle 8-3: Mittelwerte der Vitamin B ₂ -, Vitamin B ₆ - und Vitamin B ₁₂ - Aufnahme, differenziert nach dem Geschlecht.	65
Tabelle 8-4: Mittelwerte der Kalzium- (Ca), Eisen- (Fe) und Zink (Zn) – Aufnahme, differenziert nach dem Geschlecht.	68
Tabelle 8-5: Mittelwerte der Obst- und Gemüse-Aufnahme in g/d, differenziert nach dem Geschlecht.	69

1 Thematische Grundlagen

1. 1 Ätiologische Besonderheiten der Parodontitis

Die Parodontitis ist eine in der Bevölkerung weit verbreitete infektiös-entzündliche Erkrankung des Zahnhalteapparates. Im klinischen Verlauf kommt es zur Destruktion der zahnstützenden Gewebe. Dieser Vorgang kann durch die Lockerung der Zähne bis hin zum Zahnverlust führen.

Der primäre ätiologische Faktor einer Parodontitis ist die Besiedelung des parodontalen Gewebes mit parodontopathogenen Bakterien. Auf diese bakterielle Exposition reagiert der Wirtsorganismus mit einer lokalen Abwehrreaktion, die zusätzlich zu den direkten Schädigungen durch die Bakterien die Zerstörung des parodontalen Gewebes begünstigt. Auf Grund der klinischen Symptomatik werden bei der Parodontitis eine chronische und eine aggressive Verlaufsform unterschieden, die lokal oder generalisiert auftreten können.

1. 1. 1 Das parodontale Gewebe

Das Parodontium umfasst vier Gewebegruppen: die Gingiva, das Wurzelzement, den Alveolarknochen und das Desmodont. Es bildet mit dem von ihm umgebenen Odontium, das aus dem Schmelz, dem Dentin und der Pulpa besteht, eine funktionelle Einheit.

In der vorliegenden Arbeit werden humane gingivale Fibroblasten im Rahmen eines In-vitro-Testsystems verwendet. Im Folgenden wird deshalb besonders auf den Aufbau und die Funktion des gingivalen Gewebes eingegangen.

Die Gingiva bildet als Teil des Parodontiums eine natürliche Barriere und schützt die tieferliegenden Gewebe, wie das Wurzelzement und den Alveolarknochen vor äußeren Einflüssen. Histologisch werden zwei Schichten unterschieden, ein mehrschichtiges teilweise verhornendes Epithel und ein bindegewebiger Anteil.

Das Gingivaepithel besteht aus Keratinozyten und verschiedenen nicht-epithelialen Zellanteilen. Es wird durch das Stratum basale, das dem Epithel mechanischen Halt bietet und aus dem die Regeneration der Epithelzellen erfolgt, gegen die bindegewebige Lamina propria abgegrenzt. Je nach Lokalisation zeigt sich das Gingivaepithel in drei unterschiedlichen Formen.

Das Epithel der *befestigten Gingiva*, die durch Kollagenfasern auf der hartgeweblichen Zahnwurzel und dem Alveolarfortsatzknochen fixiert ist, weist einen dichten Zellbesatz mit engen Interzellularspalten auf und ist daher nur wenig durchlässig. Die *freie Gingiva* liegt kragenartig um die Zahnkrone und setzt sich aus dem nicht am Zahn befestigten Sulkusepithel und dem an der Zahnoberfläche fixierten Saumepithel zusammen. Die Besonderheit des Saumepithels besteht im Ansatz am Zahnhartgewebe über eine hemidesmosomale Adhäsion, die durch eine ständige Zellerneuerung aufrechterhalten wird. Es stellt eine flexible, nicht keratinisierte Abgrenzung gegenüber dem bakteriellen Milieu der Mundhöhle dar. Auf Grund der hohen Zellumsatzrate ist aber die mechanische Verbindung zwischen den Zellen wesentlich lockerer, was eine erhöhte Durchlässigkeit bedingt. Im Bereich des Saumepithels kommt es daher zum ständigen Stoffaustausch. Einerseits können Sulkusflüssigkeit und zelluläre Elemente, wie z. B. neutrophile Granulozyten auf diesem Wege in die Mundhöhle gelangen, andererseits ist dieser Bereich auch für niedermolekulare Stoffe aus der Mundhöhle, wie z. B. bakterielle Stoffwechselprodukte, durchlässig. Diese können im darunterliegenden Bindegewebe eine Abwehr- und Entzündungsreaktion provozieren.

Der bindegewebige Anteil der Gingiva ist für die strukturelle und funktionelle Integrität des Parodontiums verantwortlich [ROMANOS und BERNIMOULIN 1990]. Er dient der Versorgung der Epithelzellen mit essentiellen Nährstoffen und übt eine Steuerungsfunktion bei der Differenzierung aus. Er zeigt sich als zell- und kollagenfaserreiches Gewebe. Den größten Anteil bilden dabei die Faserproteine, die überwiegend aus Kollagen bestehen. Auf der zellulären Ebene überwiegen Fibroblasten, die für den Kollagenstoffwechsel mit Faserbildung und -abbau verantwortlich sind. Sie produzieren neben Kollagen I, III und V auch Proteoglykane, Elastin, Fibronectin und Kollagenase. Die extrazelluläre Matrix des Bindegewebes der Gingiva setzt sich hauptsächlich aus kollagenen und elastischen Fasern zusammen, die u. a. bei der Regulierung der Zelladhäsion, dem Zellwachstum und der Beweglichkeit eine Rolle spielen [MARIOTTI 1993].

Kommt es im Bereich des Gingivasaums zu einer ungehemmten Plaqueablagerung, so zeigen sich bereits nach wenigen Tagen erste Anzeichen einer Entzündungsreaktion [HILLMANN et al. 1990]. Zunächst erhöht sich die Permeabilität der Gefäßwände im bindegewebigen Anteil der Gingiva, wodurch der Austritt von Serum und polymorphkernigen neutrophilen Granulozyten (PMNL) ermöglicht wird. Nachdem die PMNL das Bindegewebe durchwandert haben, treten sie über das Saumepithel in den Sulkus und

die Mundhöhle ein. Die epithelialen Zellverbände des Gingivasaums lockern auf und reißen schließlich ein, was einen verstärkten Einstrom von bakteriellen Produkten zur Folge hat, die die Entzündungsvorgänge weiter vorantreiben. Dieser Zustand und die ödematöse Schwellung der Gingiva führen zur Vertiefung des Sulkus. Wird diesen Vorgängen nicht durch die vollständige Entfernung der Plaque Einhalt geboten, so kann sich aus einer Gingivitis eine Parodontitis entwickeln, die durch den Abbau von parodontalem Hartgewebe gekennzeichnet ist.

1. 1. 2 Die Rolle parodontopathogener Bakterien

Die Mundhöhle bietet ideale Bedingungen für die Besiedelung mit Mikroorganismen. Dabei etabliert sich die orale Bakterienflora als Plaquebiofilm, der u. a. auch parodontopathogene Spezies enthalten kann, am Zahnhals und im Sulcus gingivae.

In den letzten Jahren ist die Identifizierung und Charakterisierung parodontopathogener Bakterien weit vorangeschritten. Zahlreiche Arbeiten beschreiben die pathogenen Mechanismen der Parodontitisschlüsselkeime: *Porphyromonas gingivalis*, *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Tannerella forsythia*, *Fusobacterium nucleatum*, *Eikenella corrodens*, *Prevotella intermedia* und *Treponema denticola* [ELLEN et al. 1993, SREENIVASAN et al. 1993, SANDROS 1994, LAMONT et al. 1995].

Bakterienassoziierte Virulenzfaktoren

Pathogene Bakterienstämme entwickeln Virulenzfaktoren, um in dem umgebenden Milieu optimal überleben zu können und um sich effektiv vor den Abwehrreaktionen des Wirtsorganismus zu schützen. Dabei können diese aktiv gebildet und freigesetzt werden oder sich aus den morphologischen Eigenschaften der Bakterienzelle ergeben. Für parodontopathogene Spezies wurden ein geringes Molekulargewicht, die Ausbildung von Kapseln und Fimbrien und der Gehalt an Lipopolysacchariden (LPS) in der Zellwand beschrieben [FINLAY & FALKOW 1989, YEUNG & CISAR 1990].

Kapseln und Fimbrien vermitteln die Bindung an zelluläre Strukturen und leiten die Invasion in wirtseigene Zellen ein [SOJAR et al. 2002]. Eine besondere Rolle spielen die LPS, die als Strukturkomponenten in der bakteriellen Zellwand enthalten sind. Sie weisen ein großes virulentes Potential auf, da sie auch in isolierter Form schädigende Wirkungen entfalten und durch ihre Hitzebeständigkeit (bis 121 °C) Sterilisationsmaßnahmen widerstehen können. Die biologische Aktivität von LPS umfasst die

Aktivierung von Makrophagen, Monozyten, polymorphkernigen Granulozyten, Fibroblasten und Lymphozyten. Dabei induzieren sie während der immunologischen Abwehrreaktion eine verstärkte Freisetzung von proinflammatorischen Zytokinen, die wiederum zur Destruktion des parodontalen Hart- und Weichgewebes beitragen können. In-vitro-Modelle bestätigen, dass der Kontakt mit LPS parodontopathogener Bakterien Resorptionsvorgänge am Knochengewebe fördert [WILSON 1995].

Apoptoseinduzierende Eigenschaften

Stoffwechselaktive parodontopathogene Bakterien bilden Substanzen, die das Wirtsgewebe schädigen und die immunologische Abwehrreaktion hemmen können. Dazu zählen beispielsweise Proteasen, wie Kollagenasen, Gelatinasen und Aminopeptidasen, die im Rahmen ihrer proteolytischen Eigenschaften zelluläre Strukturen zerstören [MAYRAND & HOLT 1988, SHAH et al. 1992, TRAVIS et al. 1997, KUMAGAI et al. 2000]. *A. actinomycetemcomitans* und *P. gingivalis* bilden darüber hinaus Toxine, die direkt zytotoxisch auf Leukozyten, Epithelzellen und Fibroblasten wirken und apoptotische Vorgänge induzieren [WILTON et al. 1993].

Die Apoptose ist im gesunden Organismus die physiologische Form des Zelltodes und u. a. für die Aufrechterhaltung der zellulären Homöostase verantwortlich. Sie ist durch morphologische und biochemische Veränderungen in der Zelle gekennzeichnet, die letztlich Zelltod führen. Charakteristische Phasen sind: 1.) die Kondensation des Chromatins, 2.) die Fragmentation des Zellkerns und 3.) der Verlust der Membranintegrität. Ein wichtiges biochemisches Charakteristikum der Apoptose ist die Fragmentierung der genomischen DNA bzw. das sogenannte „DNA-Laddering“, das sich aus der Aktivität endogener Endonukleasen ergibt. Über die molekularen Mechanismen, die zu diesen Veränderungen führen, bestehen teilweise noch Unklarheiten. Es wird jedoch davon ausgegangen, dass die Induktion der Apoptose in rezeptor- und ligandenvermittelter Weise erfolgt, wobei die weitere Modulierung dieses Prozesses über intrazelluläre Proteine und Enzyme gesteuert wird. Die Apoptose ist kein irreversibler Vorgang, sondern beruht eher auf einer Verschiebung von Gleichgewichten. Sie ist daher auf verschiedenen Ebenen beeinflussbar. Das wichtigste apoptoseinduzierende Molekül ist der membranständige Fas-Rezeptor, der auch CD95- oder APO-1-Rezeptor genannt wird. Er ist auf allen Zellen in unterschiedlichem Ausmaß exprimiert. Der entsprechende Ligand ist der CD95 oder Fas-Ligand, der vor allem auf natürlichen Killerzellen und aktivierten T-Lymphozyten vorhanden ist. Durch

die Bindung des CD95 Liganden an den Rezeptor wird das apoptotische Signal über verschiedene Transduktionswege (bisher sind drei bekannt) in das Zellinnere geleitet. Diese Signaltransduktion kann im Rahmen der genetischen Kontrolle auf unterschiedliche Weise beeinflusst werden. Eine besondere Rolle spielen dabei die Gene der Bcl-2 Familie [DIBBERT & SIMON 1997]. Gemeinsamer Endpunkt aller apoptoseinduzierenden Mechanismen ist die Aktivierung von Caspasen, welche die Zerstörung elementarer zellulärer Strukturen herbeiführen.

In verschiedenen Studien konnten für parodontopathogene Bakterien und deren Zellbestandteile Einflüsse auf das Apoptoseverhalten von Immunzellen (neutrophile Leukozyten, Makrophagen) und Gewebszellen (Fibroblasten, Epithelzellen) nachgewiesen werden [OHGUCHI et al. 1998, CHEN et al. 2001, OZAKI & HANAZAWA 2001]. ARAKAWA et al. (2000) beobachteten nach der Behandlung von HL-60 Zellen mit einem Extrakt aus *T. forsythia* und *A. actinomycetemcomitans* typische Anzeichen der Apoptose, wie die Aktivierung der Caspase-3, die DNA-Fragmentation und den Verlust der Membranintegrität.

Die genauen Mechanismen der Apoptoseregulation durch parodontopathogene Bakterien sind bisher noch unklar und scheinen bakterien- und zellspezifische Unterschiede aufzuweisen, denn es konnten bisher sowohl apoptoseinhibierende, als auch apoptosefördernde Eigenschaften beobachtet werden [CHEN et al. 2001, OZAKI & HANAZAWA 2001]. Grundsätzlich wird eine Beteiligung von oxidativ wirksamen Verbindungen vermutet [VALENTE et al. 2000].

ROS- und FR - Freisetzung

In der aktuellen Literatur wird verstärkt die Rolle reaktiver Sauerstoffverbindungen (ROS) bzw. freier Radikale (FR) während der parodontalen Entzündungsreaktion diskutiert [KIMURA et al. 1993, CHAPPLE 1997, BALTINO et al. 1999]. Dabei lassen sich zwei biologische Ebenen unterscheiden, die an der Generierung von ROS beteiligt sind. Einerseits bilden phagozytierende Zellen im Rahmen ihrer immunologischen Abwehrreaktion oxidative Verbindungen und andererseits induzieren invasive parodontopathogene Bakterien in der Wirtszelle eine verstärkte Freisetzung von ROS [HALLIWELL 1991, KIMURA et al. 1993, VALENTE et al. 2000].

Das Eindringen von Bakterien in tieferliegende parodontale Gewebeschichten aktiviert zunächst die angeborene unspezifische Immunabwehr. Polymorphkernige neutrophile Leukozyten wandern in das Infektionsgebiet ein und phagozytieren die Bakterien. Dabei

bilden sie reaktive Sauerstoffspezies, wie Superoxid und Hydrogenperoxid zur Abtötung der Bakterien [KIMURA et al. 1993]. Aus Hydrogenperoxid kann intrazellulär außerdem Hypochlorit (HOCL) gebildet werden, das durch seine starke oxidative Wirkung extrazelluläre Bakterien abtötet. Dabei können jedoch auch körpereigene Strukturen, wie Proteinfractionen und Zellen, geschädigt werden [WEISS 1989, SCHRAUFSTATTER et al. 1990].

Gingivale Epithelzellen reagieren empfindlich auf oxidativ wirksame Verbindungen. In vitro führte der Kontakt mit aktivierten PMNL zur Desquamation und Lyse von gingivalen Epithelzellen und Fibroblasten des parodontalen Ligaments [ALTMAN et al. 1992].

Die Bildung reaktiver Sauerstoffverbindungen spielt außerdem eine Rolle bei der Freisetzung von Zytokinen, die innerhalb der Entzündungsreaktion wichtige Funktionen ausüben. Oxidierte Moleküle können über die Aktivierung von Transkriptionsfaktoren (z. B. NF- κ B) die Freisetzung von pro-inflammatorischen Interleukinen (IL), wie IL-1, IL-2, IL-6, IL-8 und TNF- α , induzieren [LIBERMAN & BALTIMORE 1990].

Zytoinvasive Eigenschaften

In verschiedenen Studien konnten parodontopathogene Bakterien auch in Gewebszellen, wie Fibroblasten und Endothelzellen, nachgewiesen werden [DUNCAN et al. 1993, SANDROS 1994, LAMONT et al. 1995]. Bisher ist jedoch noch nicht eindeutig geklärt, ob die Bakterien aktiv in die Zellen eindringen oder zellvermittelt über einen phagozytotischen Vorgang aufgenommen werden. Es werden je nach Zellart verschiedene Mechanismen (Endozytose oder Phagozytose) vermutet [ELLEN et al. 1993, ELLEN 1999].

In der Zelle führt die bakterielle Infektion zur Veränderung des zelleigenen Stoffwechsels, die mit einer verstärkten Bildung von ROS und FR einhergeht. SANTUCCI et al. (1992) beobachteten, dass Endothelzellen, die mit *Rickettsia rickettsii* infiziert sind, verstärkt Superoxid bilden. Auch VALENTE et al. (2000) konnten an Endothelzellen nachweisen, dass diese auf eine Infektion mit *Pseudomonas aeruginosa* mit einer erhöhten Bildung von ROS reagieren. Die intrazelluläre Freisetzung von Stickstoffoxid (NO) wurde bei pulmonalen Endothelzellen, die mit *Cowdria ruminantium* infiziert waren, beobachtet [MUTUNGA et al. 1998].

Diese Vorgänge dienen vorrangig der Abwehr, können aber auch zum Absterben der befallenen Zelle führen, da ROS an der Steuerung apoptotischer Vorgänge beteiligt

sind. Infizierte Zellen zeigen um ein Vielfaches höhere Apoptoseraten, als nicht infizierte Zellen [SANTUCCI et al. 1992, VALENTE et al. 2000].

Ein aktiver, bakteriell vermittelter Invasionsvorgang wäre als Überlebenstrategie denkbar, da sich das Bakterium dadurch der immunologischen Abwehrreaktion und der Wirkung von antibiotischen Substanzen entziehen kann. In hypothetischen Überlegungen wird dabei davon ausgegangen, dass sich das Bakterium zunächst über so genannte Adhäsine an Rezeptoren der Zellmembran anheftet und im Folgenden biochemische Veränderungen in der Zelle induziert, die wiederum zu einer Strukturveränderung im zellulären Zytoskelett führen, wodurch die bakterielle Penetration ermöglicht wird [FALKOW 1991, ROSENSHINE & FINLEY 1993]. Es wird vermutet, dass Bakterien beim Eindringen in die Zelle artspezifischen Vorgehensweisen folgen [ELLEN 1999].

1. 2 Der Einfluss von Ernährungsfaktoren auf die parodontale Gesundheit

Das Weichgewebe der Mundhöhle ist ein empfindlicher Indikator für die Nährstoffversorgung des gesamten Organismus. Die Zellen des oralen Gewebes unterliegen einer ständigen physiologischen Erneuerung, die eine stetige Versorgung mit essentiellen Nährstoffen für Wachstums- und Differenzierungsvorgänge voraussetzt. Im Rahmen von Nährstoff- bzw. Vitaminmangelerscheinungen konnten daher im Tiermodell und am Menschen häufig Symptome im oralen Bereich beobachtet werden [PANIZZON 1995, TOUYZ 1997].

Wie lokale Gewebszellen sind auch die Zellen des Immunsystems für eine optimale Funktionsfähigkeit und die Bildung immunrelevanter Proteine, wie z. B. Immunglobuline, Enzyme und Lymphokine, von einem ausgewogenen Angebot an Aminosäuren, Energieträgern, Vitaminen und Mineralstoffen abhängig. Als Folge einer Mangelernährung treten daher auch eine verstärkte Entzündungsneigung und eine ausgeprägte Immunschwäche auf [GRIMBLE 1992].

Sowohl die lokale Widerstandsfähigkeit der Gewebszellen, als auch die Funktionalität des Immunsystems sind für die Abwehr bakterieller Noxen von entscheidender Bedeutung, so dass der Ernährungszustand bei der Aufrechterhaltung der parodontalen Gesundheit eine wichtige Rolle spielt. Im Folgenden werden Ernährungsfaktoren beschrieben, die auf Grund ihrer physiologischen Funktionen in Vorgänge eingreifen, die auch für das parodontale System von Bedeutung sind.

1. 2. 1 Hauptnährstoffe

Die Energie, die für die Erhaltung und Regeneration von Körpergewebe notwendig ist, wird aus Kohlenhydraten, Proteinen und Fetten, die über die Ernährung aufgenommen werden, gewonnen.

Kohlenhydrate, insbesondere Glucose, sind Hauptenergielieferanten für Zellen und Gewebe. Glucose ist außerdem an der Bildung von Glykoproteinen, Glykolipiden, Nukleotiden, nicht essentiellen Aminosäuren und spezifischen Fettsäuren beteiligt. Besondere Bedeutung kommt den Polysacchariden zu, die in Form der Glucosaminoglycane gebildet werden, wie Chondroitinsulfat, Hyaluronsäure oder Dermatansulfat. Sie sind Bestandteile der Glykoproteinmatrix und des Bindegewebes.

Kohlenhydrate müssen täglich in adäquaten Mengen aufgenommen werden, um den Abbau körpereigener Proteine und die Mobilisierung von Fettsäuren zu vermeiden. Die Aufrechterhaltung normaler Blutglucosewerte ist wichtig für die Biosynthese und optimale Funktionalität aller Gewebe. Störungen im Glucosestoffwechsel resultieren in einer schlechten Wundheilung und einer erhöhten Anfälligkeit gegenüber Infektionen [THORSTENSSON & HUGOSON 1993, PAPAPANOU 1996, SAITO et al. 1998].

Proteine bzw. Aminosäuren spielen eine wichtige Rolle beim Aufbau zahlreicher Körpersubstanzen, Enzymen und zellulärer Strukturen. Für die Bildung von Kollagen, das ein Bestandteil des Dentins, des Alveolarknochens und des parodontalen Ligaments ist, wird z. B. die Aminosäure Hydroxyprolin für die Stabilisierung der Kollagenhelix benötigt. Im Tierversuch führte eine verminderte Aufnahme von Proteinen zu einer Reduktion der Kollagensynthese [SPANHEIMER et al. 1991].

Auf zellulärer Ebene sind Proteine wichtig für die DNA- und RNA-Synthese und damit unentbehrlich für das Zellwachstum und die Geweberegeneration. Weiterhin erfüllen essentielle Aminosäuren, wie Arginin, Glutamin, Glycin und Glutathion auch Funktionen im Immunsystem. So konnte beispielsweise im Tierversuch durch die Supplementierung von Arginin eine verbesserte Immunantwort erzielt werden [LEWIS & LANGKAMP-HENKEN 2000].

Verschiedene Studien haben gezeigt, dass bakterielle und virale Infektionen über die Aktivierung immunologischer Abwehrreaktionen Einfluss auf den Proteinstoffwechsel nehmen und zu einer negativen Stickstoffbilanz führen können [POWANDA & BEISEL 2003]. Vorwiegend waren dabei akute Infektionen, z. B. mit Thyphusbakterien Gegenstand der Untersuchungen. Inwieweit die parodontale Infektion den Protein-

metabolismus beeinflusst, ist bisher noch nicht geklärt. Es ist jedoch davon auszugehen, dass die parodontale Infektion ebenfalls Reaktionen des Immunsystems auslöst, die im Falle einer chronischen bzw. aggressiven Parodontitis über einen längeren Zeitraum andauern und somit möglicherweise einen erhöhten Proteinumsatz bedingen. Darüber hinaus findet durch die Schädigung des parodontalen Gewebes eine systemische Ausbreitung bakterieller Noxen statt, was auch in anderen Organsystemen Entzündungsreaktionen induzieren kann. Beispielsweise konnten in atherosklerotischen Plaques parodontopathogene Bakterien nachgewiesen werden [HAYNES & STANFORD 2003]. Außerdem zeigten Parodontitispatienten eine höhere Inzidenz für entzündliche Herzerkrankungen (Myokarditits) und Rheuma [BECK & OFFENBACHER 2001, MERCADO et al. 2003].

Lipide bzw. Fette dienen dem Körper nicht nur der Energiegewinnung, sondern fungieren auch als Transportmedium für die fettlöslichen Vitamine A, D, E und K. Bestandteil von pflanzlichen Fetten sind u. a. die ungesättigten Fettsäuren, von denen die Linolsäure und die α -Linolensäure, als mehrfach ungesättigte Fettsäuren, essentiell sind. Diese Fettsäuren sind über verschiedene Zwischenstufen an der Bildung von Eicosanoiden beteiligt, die als lokale Mediatoren bei allergischen und immunologischen Reaktionen eine Rolle spielen. Im Rahmen von entzündlichen Erkrankungen, wie der rheumatischen Arthritis und auch der Parodontitis konnten positive Wirkungen von ungesättigten Fettsäuren nachgewiesen werden [BLECH & MUIR 1998, ROSENSTEIN et al. 2003]. In einer klinischen Studie von ROSENSTEIN et al. (2003) zeigte sich die entzündungshemmende Wirkung von Borretschöl, das mit 1500 bzw. 3000 mg pro Tag in die Ernährung von Parodontitispatienten integriert wurde. Nach 12 Wochen konnte eine signifikante Verbesserung des Entzündungszustandes und eine Reduktion der Sondierungstiefen im Vergleich zu einer Placebogruppe beobachtet werden.

1. 2. 2 Fettlösliche Vitamine

Von den fettlöslichen Vitaminen sollen an dieser Stelle besonders die Vitamine A und E intensiver betrachtet werden, da diese Substanzen auch in der vorliegenden Ernährungsanalyse erfasst werden.

Vitamin A erfüllt neben wichtigen Aufgaben bei der Spermatogenese und im Sehzyklus Funktionen, die dem Wachstum und der Differenzierung von Zellen und Geweben dienen. Der Einfluss von Vitamin A auf das Immunsystem ergibt sich indirekt aus der

Funktion bei der Glykoproteinsynthese (z. B. Integrine, Fibronectin, Immunglobuline) und direkt aus der Regulation der Interferon- γ (INF- γ) Sekretion [KIRVEN & WOLF 1991]. Dabei zeigt sich eine dosisabhängige Wirksamkeit, d. h. dass sowohl ein Mangel, als auch eine Überdosierung immunsuppressive Effekte haben kann. Im Tierversuch führt ein Vitamin A Mangel zu einer erhöhten Bildung von INF- γ und damit zu einer verstärkten Th-1-Antwort, die mit der Bildung von proinflammatorischen Zytokinen verbunden ist [CANTORNA et al. 1995].

Die klinische Symptomatik eines Vitamin A Mangels etabliert sich außerdem im Bereich der Mundhöhle. Dabei kommt es zur Austrocknung der oralen Schleimhäute, die bis hin zur Atrophie der Speicheldrüsen führen kann. Dieser Zustand könnte möglicherweise auf Grund der eingeschränkten Speichelfunktion die Entwicklung einer entzündlichen Parodontalerkrankung begünstigen.

Vitamin E fungiert in den fetthaltigen Kompartimenten der Zellmembranen als Antioxidans und ist in der Lage, unter Bildung eines relativ reaktionsträgen Tocopheroxyradikals die Lipidperoxidation zu verhindern. Alpha-Tocopherol erfüllt außerdem Funktionen im Immunsystem. So vermindert sich bei einem Vitamin E Mangel die humorale Immunantwort, die Proliferation aktivierter T-Lymphozyten, die IL-2-Produktion, die Phagozytosefunktion und somit auch die Resistenz gegenüber Infektionen [MORIGUCHI & MURAGA 2000]. ROCHA (1989) konnte im Tierversuch durch die orale Gabe von Vitamin E eine verminderte Phagozytoseaktivität, welche durch die Gabe von E. coli-Endotoxin induziert wurde, rückgängig machen.

Derzeit gibt es nur wenige aktuellen Studien, die die Wirksamkeit von Vitamin E auf den klinischen Verlauf der Parodontitis untersuchen. Es sind lediglich zwei ältere Tierstudien und eine Humanstudie verfügbar. PARRISH et al. (1977) konnten im Rattenmodell weder negative Auswirkungen eines Vitamin E Defizits auf den Krankheitsverlauf der Parodontitis feststellen, noch positive Effekte einer Vitamin E Supplementation nachweisen. KIM & SHKLAR (1983) beobachteten dagegen eine beschleunigte Wundheilung am geschädigten gingivalen Gewebe von Ratten nach der oralen Gabe von Tocopherolacetat (60 I.U.). Die lokale Applikation eines Vitamin E haltigen Gels führte in einer Studie von COHEN et al. (1991) zu keiner signifikanten Besserung der Entzündungssituation an der Gingiva.

1. 2. 3 Wasserlösliche Vitamine

Zu den wasserlöslichen Vitaminen gehören neben den Vitaminen des B-Komplexes (Thiamin B₁, Riboflavin B₂, Pyridoxin B₆, Cobalamin B₁₂) auch Folsäure, Niacin und Vitamin C.

Die B-Vitamine sind Co-Faktoren des Energiemetabolismus und werden für die DNA- und RNA-Synthese benötigt. Sie sind daher für die Aufrechterhaltung und die Neubildung von Zellen von großer Bedeutung. In der Folge eines Mangels an Vitamin B₆, Vitamin B₁₂ oder Folsäure tritt eine verminderte Immunkompetenz auf [BIESALSKI 1999]. Im Zusammenhang mit der parodontalen bzw. gingivalen Entzündung wurden besonders Vitamin C und Folsäure eingehender untersucht. Im Folgenden werden daher diese beiden Vitamine in Bezug auf ihre funktionellen Eigenschaften genauer charakterisiert.

Die biologisch aktive Form der Folsäure ist die Tetrahydrofolsäure (THF), die als Coenzym für die Übertragung von Hydroxymethyl- und Formylgruppen verantwortlich ist und dadurch in zahlreiche Stoffwechselwege eingreift. Die auf THF übertragenen C1-Reste werden für die Purin- und DNA-Synthese benötigt. In besonders intensiven Wachstumsphasen, die mit einer hohen Zellteilungsrate verbunden sind, erhöht sich daher der Bedarf an Folsäure [HESEKER 1996].

Die Folsäure wurde in der Vergangenheit häufig mit der Entstehung der Gingivitis, speziell während der Schwangerschaft, in Verbindung gebracht. Durch die lokale Anwendung eines folathaltigen Mundwasser und die orale Gabe von 2 mg Folsäure pro Tag konnte eine Verbesserung der gingivalen Entzündungssituation erreicht werden [PACK 1984, THOMSON & PACK 1982, PACK & THOMSON 1980, VOGEL et al. 1976]. Hypothetisch wurde angenommen, dass die Folsäure die Widerstandsfähigkeit des gingivalen Gewebes gegenüber lokalen Schädigungen erhöht und somit zu einem Rückgang der Entzündung führt.

Außerdem konnte die Anwendung eines Folsäuremundwassers die gingivale Hyperplasie, welche als Nebenwirkungen bei der Einnahme des Antikonvulsiva Phenytoin auftritt, reduzieren [DREW et al. 1987].

Unter allen Ernährungsfaktoren wurde die Rolle von Vitamin C im Zusammenhang mit der parodontalen bzw. gingivalen Entzündung am häufigsten diskutiert. Während eines Vitamin C Mangels wird die Bedeutung dieses Vitamins besonders deutlich, denn es treten Symptome auf, die denen der Parodontitis sehr ähnlich sind. Durch Störungen in

der Kollagensynthese, bei der Vitamin C eine Schlüsselrolle spielt, kommt es zum Rückgang des zahnstützenden Bindegewebes und zu einer verstärkten gingivalen Blutungsneigung [TOUYZ 1997].

Ein nicht geringer Teil der biologischen Wirksamkeit von Vitamin C lässt sich durch die Eigenschaften von L-Ascorbinsäure als starkes Reduktionsmittel erklären. Die Oxidation von L-Ascorbinsäure über die reaktionsfähige Semidehydroascorbinsäure zur Dehydroascorbinsäure ist als reversible Redoxreaktion die Grundlage für die antioxidativen Eigenschaften. Außerdem ist L-Ascorbinsäure an der Regeneration des Tocopheroxylradikals beteiligt und unterstützt somit auch die antioxidative Funktion von Vitamin E.

Für immunologische Abläufe spielt die antioxidative Kapazität ebenfalls eine entscheidende Rolle. In neutrophilen Granulozyten ist die Vitamin C Konzentration um ein vielfaches höher als im Plasma [WANG et al. 1997]. Als endogener Schutzfaktor neutralisiert es die oxidativen Verbindungen, die zur Abtötung phagozytierter und extrazellulärer Bakterien und Viren gebildet werden. Im Falle einer Infektion kommt es daher zu einem drastischen Absinken der Vitamin C Konzentration sowohl in den Granulozyten, als auch im Plasma, was in der Folge zu einer Beeinträchtigung der Phagozytosefunktion führen kann [LEVY et al. 1996]. In-vitro-Studien konnten zeigen, dass eine hochdosierte Vitamin C Applikation die Aktivität neutrophiler Granulozyten signifikant steigert [KHANSARI 1986, PATRONE et al. 1982]. Dieser Effekt wurde auch bei gesunden Probanden beobachtet, die 2-3g Vitamin C pro Tag einnahmen [ANDERSON et al. 1980].

1. 2. 4 Mengen- und Spurenelemente

In diesem Abschnitt werden besonders Kalzium, Eisen und Zink ausführlicher dargestellt, weil sie auf Grund ihrer Funktionen im Immunsystem auch für die immunologische Abwehr von parodontopathogenen Bakterien von Bedeutung sein könnten.

Während Kalzium hauptsächlich im Hydroxylapatit der Knochen und Zähne gespeichert ist, befindet sich auch ein geringer Anteil in den Körperflüssigkeiten und -geweben. Dort ist es essentiell für zelluläre Stoffwechselfvorgänge, die Muskelkontraktion und die Übertragung von Nervenimpulsen. Während eines Kalziummangels kommt es über die Wirkung des Parathormons zu einer verstärkten Osteoklastenaktivität, die eine erhöhte

Kalziumfreisetzung aus dem Skelettsystem bedingt. In der Folge werden die Knochen brüchiger und es kann sich eine Osteoporose entwickeln.

Im fortgeschrittenen Stadium der Parodontitis können Abbauvorgänge am Alveolar-knochen beobachtet werden. Einige Autoren vermuteten als Ursache einen Kalzium-mangel. Beispielsweise beobachteten ROMANUS & HENRIKSSON (1971), dass bei Beagle-Hunden mit induziertem sekundärem Hyperparathyroidismus (erzeugt durch eine kalziumarme und phosphatreiche Diät) bevorzugt am Alveolarknochen eine osteolytische Demineralisation auftritt. Eine Humanstudie von KROOK et al. (1972) konnte einen Rückgang der klinischen Symptomatik bei Patienten mit Parodontitis durch die Gabe von 1g Ca/d innerhalb von 180 Tagen nachweisen. UHRBOM & JACOBSON (1984) ermittelten allerdings keinen Einfluss einer Kalzium-supplementierung (1g Ca/d) auf den parodontalen Status von Patienten mit moderater bis schwerer Parodontitis.

Eisen (Fe) ist ein Spurenelement, das neben seiner Sauerstofftransportfunktion in den roten Blutkörperchen essentiell für die Zellproliferation und den oxidativen Stoffwechsel verschiedener Gewebe ist. Außerdem fungiert es als Regulator der Immunfunktion. Dies wird während eines Eisenmangels besonders deutlich, wobei In-vitro und In-vivo eine verminderte zellvermittelte Immunabwehr beobachtet werden kann [BEARD 2001, OPPENHEIMER 2001]. Die biologischen Mechanismen der Eisenfunktion im Immunsystem sind jedoch noch weitestgehend unklar.

Während die Aktivität neutrophiler Granulozyten und natürlicher Killerzellen beim Eisenmangel herabgesetzt ist, scheinen Makrophagen davon nicht betroffen zu sein [HALLQUIST et al. 1992, OPPENHEIMER 2001]. Sie erwerben benötigtes Eisen über die Phagozytose verbrauchter Erythrozyten. Im Falle einer Aktivierung, z. B. während Infektionen oder Entzündungen, können Makrophagen daher ihre Eisenaufnahme unabhängig vom Eisenstatus decken [BROCK & MULERO 2000, BEARD 2001]. Bei der Phagozytose spielt Eisen als Coenzym für die Myeloperoxidase eine wichtige Rolle. Ein weiteres Spurenelement mit Funktionen im Immunsystem und bei der Wundheilung ist Zink. Es fungiert als Coenzym für zahlreiche Enzyme und ist dadurch an der Nucleinsäuresynthese, dem Protein-, Lipid- und Kohlenhydratstoffwechsel, dem Knochenstoffwechsel, dem Sauerstofftransport, der Dunkeladaptation und dem antioxidativen Schutzsystem beteiligt.

Im Rahmen entzündlicher Prozesse scheint Zink ebenfalls eine wichtige Rolle zu spielen. Es ist beispielsweise an der Freisetzung von Histamin und der Aktivierung der

Phospholipase A2 beteiligt. Außerdem erfüllt es Funktionen im Bindegewebsstoffwechsel. Im Tiermodell wurde unter Zn-Mangel eine erhöhte Entzündungsneigung beobachtet, die jedoch durch die orale Gabe von Zink rückgängig gemacht werden konnte [ABOU-MOHAMED et al. 1995, BENONI et al. 1998].

Die antioxidative Wirksamkeit von Zink wurde In-vitro an dermalen Fibroblasten, die UV-A und UV-B Strahlung ausgesetzt waren, beobachtet. Dabei wirkte die Behandlung mit Zink zytoprotektiv, was sich in einer verminderten Lipidperoxidation zeigte [RICHARD et al. 1993, LECCIA et al. 1999]. Die Mechanismen der antioxidativen Wirkung sind noch nicht eindeutig geklärt, jedoch werden zwei verschiedene Abläufe vermutet. Zum einen könnte das reduktionsstabile 2-wertige Zink in zellulären und extrazellulären Strukturen reaktionsfähigere Metalle, wie Eisen und Kupfer ersetzen und/oder die Bildung von Zn-Metallothionein fördern [KUMARI et al. 1998]. Zink ist außerdem Cofaktor für die Superoxiddismutase (SOD), welche ein wichtiges antioxidativ wirksames Enzym ist.

Die Bedeutung von Zink für das Immunsystem zeigt sich besonders beim Zinkmangel, der neben anderen Symptomen auch durch eine erhöhte Anfälligkeit gegenüber Infektionen gekennzeichnet ist. Zink beeinflusst u. a. die Neutrophilenfunktion [COOK-MILLS et al. 1990, HASEGAWA et al. 2000], die Lymphozytenreifung [FRAKER et al. 2000] und die T-Zell-Funktion [BECK et al. 1997].

1. 2. 5 Sekundäre Pflanzenstoffe

In Nahrungsmitteln pflanzlichen Ursprungs befinden sich neben den Haupt- und Mikronährstoffen zahlreiche andere Verbindungen, welche die Farbe, das Aroma und den Geschmack bestimmen. Diese Substanzen werden unter dem Begriff „sekundäre Pflanzenstoffe“ zusammengefasst. Sie sind für den menschlichen Organismus nicht essentiell, entfalten jedoch vielfältige Wirkungen, die nachweislich einen positiven Einfluss auf die Gesundheit haben. Jüngste Studien zeigen, dass besonders phenolische Verbindungen, wie sie reichlich in Obst und Gemüse vorkommen, präventive Wirkungen gegenüber Herz-Kreislauf-Erkrankungen, Krebs, Diabetes und chronisch degenerativen Erkrankungen entwickeln [VINSON et al. 2002].

Zu den polyphenolischen Substanzen in Obst und Gemüse gehört die große Gruppe der Flavonoide mit ungefähr 5000 verschiedenen Verbindungen. Flavonoide bestehen aus zwei aromatischen Ringen und einem O-Heterozyklus und können durch die

strukturellen Unterschiede in ihrem C-Ring in sechs Untergruppen eingeteilt werden: Flavanone, Flavone, Flavonole, Katechine, Anthozyanidine und Isoflavonoide. Die biologische Wirksamkeit ist strukturabhängig und meist an die phenolische Hydroxylgruppe gekoppelt [RICE-EVANS et al. 1996]. Mögliche Wirkmechanismen beruhen auf antioxidativen und entzündungshemmenden Eigenschaften [WANG et al. 1999]. Durch die Hemmung der Enzyme der Arachidonsäurekaskade (Zyklooxygenasen 1 und 2, Phospholipasen und Lipoxygenasen) verringern Flavonoide die Bildung von endogenen Entzündungsmediatoren. In-vitro konnten positive Einflüsse auf die Signaltransduktion, die Expression von TNF- α und die Entstehung von DNA-Schäden nachgewiesen werden [DUTHIE et al. 1997, MUSCONDA & CHIPMAN 1998, MANTHEY et al. 1999].

Für das Krankheitsbild der Parodontitis scheinen gerade in den letzten Jahren alternative Behandlungsmethoden an Bedeutung zu gewinnen. Das zeigen aktuelle Studien, die die Wirkung natürlicher pflanzlicher Substanzen auf das Wachstum oral pathogener Bakterien untersuchen [KIM 1997, GAULTIER et al. 2003, SONG et al. 2003, SASTRAVAHA et al. 2003]. Dabei konnte beispielsweise In-vitro eine Hemmung der proteolytischen Aktivität von verschiedenen parodontopathogenen Spezies durch die Behandlung mit dem Extrakt aus Ulmenrinde und Lupine nachgewiesen werden [GAULTIER et al. 2003, SONG et al. 2003].

Teil 1

In-vitro Untersuchung der zytotoxischen Wirkung von *P. gingivalis* auf gingivale Fibroblasten und die Effekte von Ascorbinsäure

2 Einleitung und Zielstellung

Die Ätiopathogenese der Parodontitis basiert auf einer Wechselwirkung zwischen pathogenen Bakterien bzw. deren Virulenzfaktoren und dem Wirtsorganismus. Zur Entwicklung effektiver Therapiekonzepte müssen daher zunächst das virulente Potenzial der Erreger charakterisiert und die Mechanismen der Bakterium-Wirts-Interaktion aufgeklärt werden. *Porphyromonas gingivalis* ist einer der Schlüsselkeime bei der Entstehung bzw. dem Fortschreiten der Parodontitis. Einige Stämme dieser Spezies verfügen nachweislich über ein hohes pathogenes Potential.

Im ersten Teil der vorliegenden Arbeit wird die zytotoxische Wirkung von *P. gingivalis* (ATCC 33277) auf humane gingivale Fibroblasten untersucht. Dabei soll die Messung der Superoxidfreisetzung und die Bestimmung der Vitalitäts- und Apoptoserate Aufschluss über die Auswirkung der bakteriellen Infektion auf die zelluläre Funktionsfähigkeit geben. In Bezugnahme auf eine aktuelle Studie von VALENTE et al. (2000), in der die Überlebensrate von bakteriell infizierten Endothelzellen durch die Zugabe von Antioxidantien verbessert werden konnte, wird außerdem In-vitro die Wirkung von Ascorbinsäure untersucht.

3 Material und Methoden

3. 1 Kultivierung humaner gingivaler Fibroblasten

3. 1. 1 Primärkultur

Zur Gewinnung einer Primärkultur von humanen gingivalen Fibroblasten (HGF) wurde im Rahmen eines chirurgischen Eingriffes eine gingivale Gewebeprobe entnommen. Direkt im Anschluss erfolgte die Einbettung der Probe in Dulbecco's modifiziertem Eagle Medium (DMEM, Fa. Gibco) unter der Zugabe von 10% fetalem Kälberserum (FCS, Fa. PAA Laboratories). Nach einer Methode von OLSON et al. (1985) wurde die Probe mit einem sterilen Skalpell in kleinere Gewebestücke zerteilt, die anschließend in sterilen Petrischalen (\varnothing 6 cm) platziert und mit DMEM (+10% FCS) erneut vorsichtig bedeckt wurden. Danach erfolgte die Inkubation der Primärkultur im Brutschrank (5% CO₂- Atmosphäre) bei 37°C. Sobald sich um die Gewebestückchen ein Zellhof von ca. 2 cm gebildet hatte, wurden die Zellen subkultiviert (Abb. 3-1).

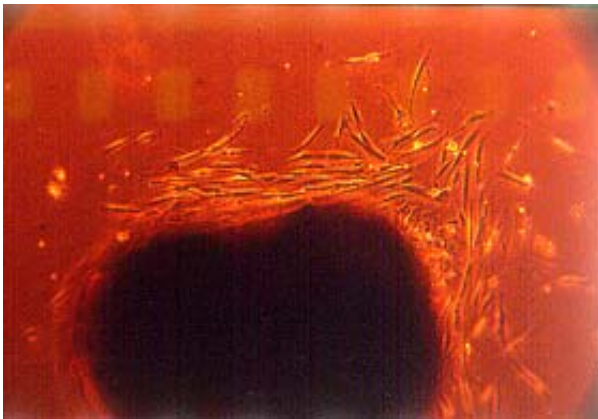


Abb. 3-1: *Gingivales Gewebe mit Fibroblastenbildung (Primärkultur). Nikon TMS-F, 10-fache Vergrößerung*

3. 1. 2 Subkultur

Die aus der Primärkultur gewonnenen HGF wurden in 75 cm³ Kulturflaschen (Fa. Greiner Bio-one) subkultiviert. Wenn der Boden der Kulturflasche vollständig mit den Fibroblasten bedeckt war, wurden die Zellen durch Trypsinierung geerntet und in neue Kulturflaschen passagiert (Abb. 3-2). Dazu erfolgte zunächst eine vorsichtige Waschung der Zellen mit 5 ml PBS und im Anschluss die Inkubation mit 5 ml vorgewärmter (37°C) Trypsin/EDTA-Lösung (0,25% Trypsin/0,02% EDTA, Fa.

Biochrom KG) für ca. 2-3 min. Zum Abstoppen des Trypsinierungsvorgangs wurden 5 ml Zellmedium (DMEM+10% FCS) dazu gegeben. Die Überführung der Zellsuspension in ein Zentrifugenröhrchen, das im Anschluss bei 1200 Rpm/min für 5 min. zentrifugiert wurde, erfolgte mit einer sterilen Pipette. Danach wurden die Zellen im Zellmedium resuspendiert und auf neue Kulturflaschen aufgeteilt. Zur Vorbeugung von Bakterien- und Pilzinfektionen erfolgte die Zugabe einer Antibiotikalösung (10. 000 units/ml Penicillin, 10 mg/ml Streptomycin, 25 µg/ml Amphotericin; Fa. Sigma) zum Zellmedium.

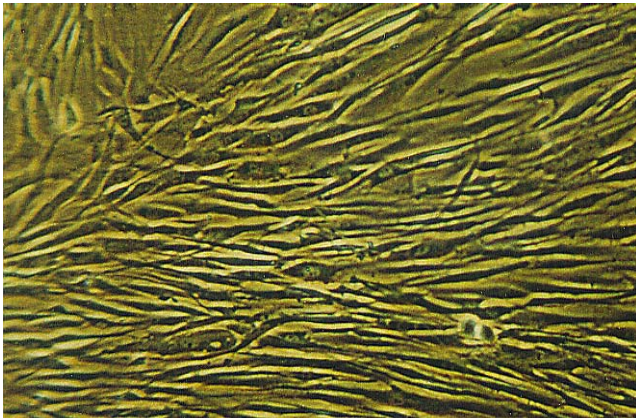


Abb. 3-2: *Humane gingivale Fibroblasten (Subkultur).*

Nikon TMS-F, 10-fache Vergrößerung

3. 1. 3 Ascorbinsäurebehandlung

Zur Untersuchung des Einflusses von Ascorbinsäure (Fa. Sigma) auf die Zellvitalität erfolgte die Herstellung von Lösungen mit unterschiedlichen Konzentrationen. Dazu wurde die Ascorbinsäure direkt vor dem Gebrauch im Zellmedium gelöst und gleich im Anschluss auf die Fibroblasten gegeben. Folgende Konzentrationen kamen zur Anwendung: 6, 12, 18, 24 und 30 µg/ml. Die Fibroblasten wurden für 48 h bei 37°C mit dem supplementierten Zellmedium inkubiert. Danach erfolgten die Infektion mit *P. gingivalis* und die Bestimmung der Vitalitäts- und Apoptoserate.

3. 2 Kultivierung von *Porphyromonas gingivalis*

Porphyromonas gingivalis ATCC 33277 wurde aus einer Stammkultur der *Deutschen Sammlung von Mikroorganismen und Zellkultur* (DSMZ) subkultiviert. Die Stammhaltung erfolgte durch regelmäßiges Überimpfen von Blut-Agar-Platten (Fa. Oxoid)

unter anaeroben Bedingungen bei 37°C. Der Blut-Agar war folgendermaßen zusammengesetzt: Herz-Hirn-Agar, Hefe-Extrakt, Cysteinhydrochlorid, 5% Schafblut, Hemin und Menadion. Zur Herstellung einer Flüssigkultur wurde mit einer sterilen Impfföse Bakterienmaterial von der Agarplatte entnommen und in Hirn-Herz-Boullion gegeben. Zusammensetzung der Hirn-Herz-Boullion (pro Liter):

- 37 g Hirn-Herz-Boullion
- 7 g Hefe-Extrakt
- 0,5 g Cysteinhydrochlorid
- 250 µl Hemin-Lösung
- 25 µl Menadion-Lösung

Es folgte eine 4-tägige Kultivierung unter anaeroben Bedingungen bei 37°C. Die Bakterienkulturen wurden regelmäßig mikroskopisch untersucht, um die Reinheit der Kulturen zu überprüfen (Abb. 3-3).

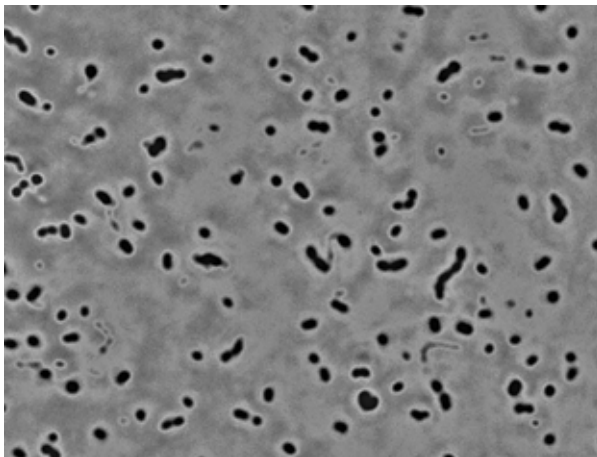


Abb. 3-3: *P. gingivalis* (ATCC 33277).
Nikon TMS-F, 100-fache Vergrößerung

3. 3 Infektion mit *Porphyromonas gingivalis*

Zur Infektion humaner gingivaler Fibroblasten mit *P. gingivalis* wurden 4 Tage alte Bakterienkulturen verwendet. Das Kulturmedium wurde abzentrifugiert (5000 Rpm/min) und es erfolgte die Resuspendierung der Bakterien im Fibroblastenmedium in einer Konzentration von 10^6 Bakterienzellen pro ml. Die Bakteriensuspension wurde für 60, 120 bzw. 180 min. auf die Fibroblasten gegeben, die vorher mit oder ohne Supplement (Ascorbinsäure) für 48 h auf Mikrotiterplatten (96 well) kultiviert wurden. Im Anschluss an die bakterielle Infektion erfolgte eine dreimalige Waschung der Fibroblasten mit vorgewärmten PBS (37°C) um extrazelluläre Bakterien zu entfernen.

Zum Abtöten verbliebener extrazellulärer Bakterien wurden die Fibroblasten für 1 h mit Zellmedium inkubiert, das Antibiotika (200 µg/ml Metronidazol, 300 µg/ml Gentamycin) enthielt. Danach erfolgte nochmals eine dreimalige Waschung der Fibroblasten mit PBS, die im Anschluss mit frischem Zellmedium bedeckt wurden. Die Bestimmung der Vitalitätsrate nach der Infektion mit *P. gingivalis* erfolgte mit dem MTT-Test.

3. 4 Bestimmung der Vitalitätsrate (MTT)

Zur Untersuchung der Vitalität wurden Zellen aus Monolayerkulturen der 7. - 12. Passage durch Trypsinierung (siehe oben) geerntet. Die Bestimmung der Lebend-Zellzahl erfolgte mikroskopisch mit dem Trypanblau-Exklusionstest. Für den Vitalitätstest wurden die gewonnenen Zellen auf 96-well Mikrotiterplatten in einer Zelldichte von 30.000 Zellen pro well ausgesät und für 24 h im Brutschrank kultiviert. Danach erfolgte je nach Ansatz die Behandlung mit Ascorbinsäure bzw. die Infektion mit *P. gingivalis* (siehe oben).

Die Vitalität der Fibroblasten wurde mit Hilfe eines Vitalitäts-/Toxizitätstests der Firma Biochrom („Alpha-Kit“) bestimmt. Dabei nehmen ausschließlich lebende Zellen das Tetrazolium-Salz 3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl-Tetrazoliumbromid/MTT auf und setzen es mit Hilfe mitochondrialer Dehydrogenasen in den blauen Farbstoff Formazan um [MOSMANN 1983]. Die Farbintensität ist dabei ein Indikator für die Vitalität bzw. die proliferative Aktivität der Zellen. Sie wurde photometrisch gemessen. Zur Durchführung des Vitalitätstests wurden in das Kulturmedium zunächst 50 µl/well MTT gegeben und für 3 h bei 37°C inkubiert. Nach diesem Zeitraum wurde das Medium entfernt und die Zelloberfläche mit 100 µl/well physiologischer Salzlösung gewaschen. Im Anschluss erfolgte die Trocknung der Mikrotiterplatte für 30 min. im Brutschrank bei 37°C. Danach wurden 100 µl/well Isopropanol zugegeben und die Platte für 5 min. geschüttelt (Heidolph, Titramax 100). Die Auswertung erfolgte über die Messung der optischen Dichte im Photometer (Lambdascan 200, Fa. MWG-Biotech) bei einer Wellenlänge von 570 nm. Pro Untersuchungseinheit wurden acht Ansätze gemessen.

3. 5 Bestimmung der Apoptoserate (Annexin-V-FITC)

Die Bestimmung apoptotischer Fibroblasten erfolgte im Durchflusszytometer mit dem fluoreszierenden Annexin-V-FITC. Der Annexin-V-Assay (Becton Dickinson) beruht auf dem Nachweis der Umlagerung des Phospholipids Phosphatidylserin (PS) innerhalb der Plasmamembran apoptotischer Zellen. Intakte Zellen zeigen eine ausgeprägte Polarität ihrer doppelschichtigen Zytoplasmamembran, in der sich PS nahezu ausschließlich auf der Innenseite befindet. Eine relativ früh in der Apoptose-Kaskade auftretende Veränderung ist die Aufhebung dieses Gradienten, in deren Folge PS auch auf die Außenseite der Zelle gelangt. Annexin-V-FITC bindet mit hoher Affinität an PS. Über den dann folgenden Nachweis des gebundenen Annexin-V-FITC können die apoptotischen Zellen im Durchflusszytometer erfasst werden. Da Annexin-V-FITC auch an nekrotisierende Zellen bindet, muss eine Doppelfärbung mit Propidiumiodid (PJ) durchgeführt werden, um nekrotische Zellen von apoptotischen Zellen zu differenzieren.

Zur Bestimmung der Apoptoserate wurden die Zellen nach einer 3-stündigen Infektion mit *P. gingivalis* zweimal mit PBS gewaschen und im Anschluss mit Trypsin-EDTA-Lösung von dem Boden der Kulturflasche abgelöst. Die gewonnene Zellsuspension wurde in ein FACS-Röhrchen überführt und bei 250xg (1200 Rpm) für 5 min. zentrifugiert. Anschließend erfolgte die Resuspendierung der Zellen in 100 µl Annexin-V-Binding-Puffer und die Dunkelinkubation mit 5 µl Annexin-V-FITC und 10 µl Propidiumiodid für 15 min. Nach der Zugabe von 400 µl HEPES-Puffer wurde die Messung und Auswertung im Durchflusszytometer (Fa. Becton Dickinson, Germany) durchgeführt.

3. 6 Messung der Superoxidfreisetzung (Cytochrom C)

Die Messung der Superoxidkonzentration im Zellmedium während der Infektion mit *P. gingivalis* erfolgte durch die Zugabe einer Ferricytochrom C-Lösung (Fa. Sigma). Diese Lösung bestand aus 1 ml Basalmedium (enthält kein Phenolrot), in dem 2 mg Ferricytochrom C gelöst waren. Die Fibroblasten wurden vor dem Test in 96 well Mikrotiterplatten bereits in Basalmedium kultiviert (30 000 Zellen/well). Sofort nach der Applikation von 20 µl Bakteriensuspension (ca. 10^6 Bakterienzellen/ml) erfolgte die Zugabe von 100 µl Ferricytochrom C-Lösung, um den Ausgangs- bzw. Startwert zu

bestimmen. Danach wurde regelmäßig im Abstand von jeweils 1 h für insgesamt 3 h die mittlere optische Dichte (OD) im Photometer (550 nm) gemessen. Aus diesen Werten konnte dann nach folgender Formel die Superoxidkonzentration in nmol berechnet werden [PICK & MIZEL 1981]:

$$\text{O}_2^- \text{ nmol} = \frac{\text{mittlere OD}_{550} \times 100}{6,3}$$

(6,3 = Extinktionskoeffizient für die Absorption von reduziertem Ferricytochrom C minus die Absorption von oxidiertem Ferricytochrom C)

Es wurden pro Ansatz 8 Messungen durchgeführt.

3. 7 Mikroskopische Analyse

Zur morphologischen Analyse der Wechselwirkung zwischen Fibroblast und Bakterienzelle wurden zusätzlich mikroskopische Untersuchungen durchgeführt. Dabei kamen einerseits ein Durchlichtmikroskop (Nikon TMS-F) in der 10- und 100-fachen Vergrößerung und andererseits die Elektronenmikroskopie in einer 300- bis 7500-fachen Vergrößerung zum Einsatz.

Die elektronenmikroskopischen Untersuchungen wurden im Institut für Ultrastrukturforschung der Friedrich-Schiller-Universität Jena durchgeführt. Dazu mussten die Fibroblasten auf Deckgläsern kultiviert und mit *P. gingivalis* infiziert werden. Nach einer 3-stündigen Infektionszeit erfolgte die Vorbereitung der Deckgläschen für die Elektronenmikroskopie. Dazu wurden die Fibroblasten zunächst mit Paraformaldehyd (4% PFA in PBS) fixiert und für 10 min. inkubiert. Durch 5-maliges waschen mit PBS wurde das PFA wieder aus der Kulturschale entfernt.

Für die rasterelektronenmikroskopische Bearbeitung ist es notwendig, dass die Proben kein Wasser enthalten. Daher erfolgte eine Probenentwässerung mit einer aufsteigenden Acetonkonzentrationsreihe (30-100%). Zwischen den einzelnen Konzentrationsstufen wurde eine Inkubationszeit von 5 min. eingehalten. Im Anschluss wurden die Präparate in einem Kritischen-Punkt-Trockner getrocknet. Diese Apparatur verhindert die Deformation oder das Platzen der Zellen. Damit die Oberflächenstruktur nicht durch

den Elektronenstrahl im Rasterelektronenmikroskop zerstört wird, wurden die Präparate mit einer Goldschicht bedampft. Danach erfolgte die Analyse im REM.

Mit dem REM können äußere Strukturen untersucht werden. Durch die Verwendung eines Elektronenstrahls ist eine wesentlich höhere Auflösung als mit lichtmikroskopischen Mitteln möglich. Die speziellen optischen Eigenschaften des REM sorgen zusätzlich noch für einen starken dreidimensionalen Eindruck auf den gewonnenen Bildern.

3. 8 Statistische Prüfverfahren

Für die graphischen Darstellungen und den direkten Vergleich der Ergebnisse wurden aus den einzelnen Messwerten jeder Untersuchungseinheit die entsprechenden Mittelwerte und Standardabweichungen berechnet. Die Berechnung der Signifikanz erfolgte mit dem Mann-Whitney-Test (U-Test). Dieser parameterfreie Test wurde dem Students-Test (T-Test) vorgezogen, weil die Annahme einer Normalverteilung aufgrund des geringen Stichprobenumfangs nicht möglich war. Der Wert U gibt an, ob die Hauptmasse der Testdaten signifikant, d. h. $p < 0,05$ größere bzw. kleinere Werte aufweist, als die der Kontrolldaten.

Für die statistischen Berechnungen wurde das SPSS Programm für Windows 10. verwendet.

4 Ergebnisse

4.1 Die Wirkung von Ascorbinsäure auf die Vitalität gingivaler Fibroblasten

Die Messung der Vitalität erfolgte mit MTT, einem Farbstoff der ausschließlich von lebenden Zellen umgesetzt wird. Als Kontrolle dienten Zellen, die nicht mit Ascorbinsäure behandelt wurden. Die Ermittlung der prozentualen Vitalitätsänderung erfolgte nach folgender Formel:

$$\text{Vitalitätsrate (\%)} = \frac{\text{Mittlere optische Dichte der behandelten Zellen}}{\text{Mittlere optische Dichte der unbehandelten Zellen}} \times 100$$

Die Zugabe von Ascorbinsäure zum Zellmedium führte insgesamt zu einem signifikanten Anstieg der Vitalitätsrate gingivaler Fibroblasten (Tab. 4-1/Abb. 4-1). Die größte Vitalitätssteigerung konnte bei einer Ascorbinsäurekonzentration von 12 µg/ml gemessen werden. Im Vergleich zu den unbehandelten Kontrollzellen stieg die Vitalität in diesem Fall um 29,18% ± 6,44 (p<0,001) an. Außerdem zeigte sich, dass es bei Konzentrationen oberhalb von 24 µg/ml zu einem geringeren Vitalitätsanstieg kommt. Dabei lagen jedoch die Werte nicht unter dem Vitalitätsniveau unbehandelter Zellen.

Tab. 4-1: Mittelwerte der optischen Dichte im MTT-Test nach der Behandlung mit Ascorbinsäure.

Ascorbinsäure-Konzentration	mittlere opt. Dichte ± s	Signifikanz (p)
0 µg/ml (Kontrolle)	0,425 ± 0,026	-
6 µg/ml	0,545 ± 0,028	0,001
12 µg/ml	0,549 ± 0,027	0,001
18 µg/ml	0,542 ± 0,030	0,001
24 µg/ml	0,515 ± 0,015	0,001
30 µg/ml	0,494 ± 0,030	0,002

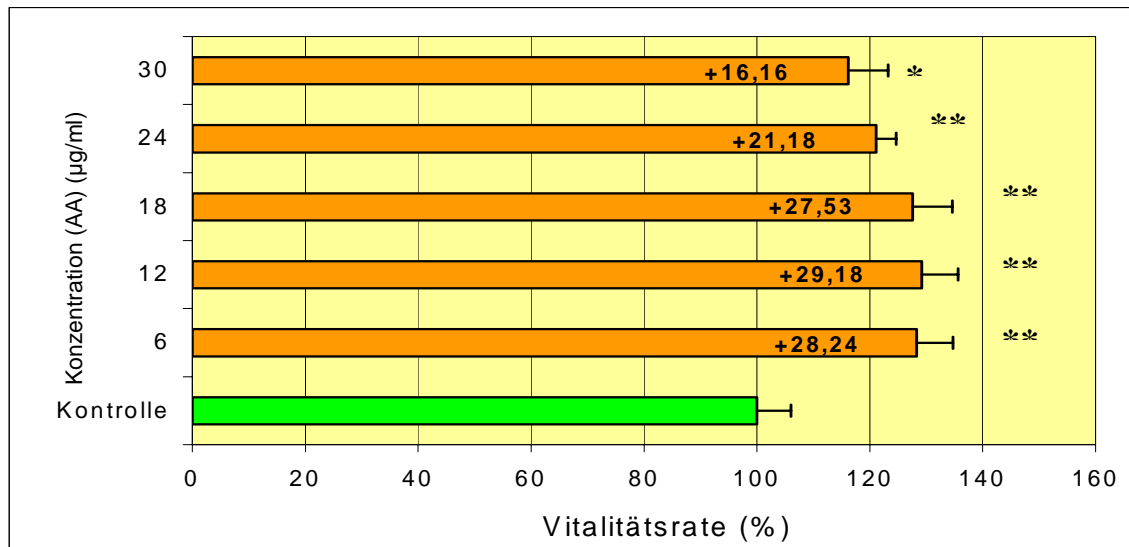


Abb. 4-1: Mittelwerte der Vitalitätsrate humaner gingivaler Fibroblasten im MTT-Test nach der Behandlung mit Ascorbinsäure in Abhängigkeit von der Konzentration. * $p < 0,005$; ** $p < 0,001$ (U-Test)

4. 2 Die Wirkung von *P. gingivalis* auf die Vitalität gingivaler Fibroblasten

Zur Untersuchung des Einflusses von *P. gingivalis* auf die Vitalität, wurden gingivale Fibroblasten für insgesamt 8 h mit dem Kulturüberstand (KÜ) einer *P. gingivalis* – Kultur inkubiert. Es wurden pro 100 µl Zellmedium 20 µl bzw. 40 µl KÜ appliziert. Tabelle 4-2 zeigt die mittlere optische Dichte im MTT-Test in Abhängigkeit von der Inkubationszeit und der Konzentration des Überstandes. Die Behandlung mit dem KÜ führte insgesamt zu einer Abnahme der Fibroblastenvitalität (Abb. 4-2). Nach einer Inkubationszeit von 8 h Stunden wurde bei einer Konzentration von 20 µl KÜ pro 100 µl Zellmedium eine Verminderung der Vitalität um 16,8% im Vergleich zu den unbehandelten Fibroblasten gemessen ($p < 0,05$). Die Behandlung mit 40 µl KÜ pro 100 µl Zellmedium führte nach 8 h zu einer signifikant höheren Vitalitätsreduktion von 25,7% ($p < 0,05$).

Im Vergleich dazu konnte durch die Behandlung mit lebenden *P. gingivalis* Bakterien bereits nach 3-stündiger Inkubation eine signifikante Abnahme der Zellvitalität beobachtet werden. (Tab. 4-3/Abb. 4-3). Nach einer Einwirkzeit von 1 h fiel die Vitalitätsrate um 13,6% ab. Nach 3 h kam es zu einem signifikanten Vitalitätsverlust von 23,0% ($p < 0,05$).

Tab. 4-2: Mittelwerte der optischen Dichte im MTT-Test nach der Behandlung mit dem KÜ einer P. gingivalis Kultur.

Inkubationszeit	mittlere opt. Dichte ± s	Signifikanz (p)
<u>20 µl KÜ pro 100 µl Zellmedium:</u>		
0 h (Kontrolle)	1,062 ± 0,015	-
2 h	1,093 ± 0,029	0,073
4 h	1,040 ± 0,038	0,216
6 h	1,002 ± 0,082	0,394
8 h	0,884 ± 0,021	0,022
<u>40 µl KÜ pro 100 µl Zellmedium:</u>		
0 h (Kontrolle)	1,062 ± 0,015	-
2 h	0,933 ± 0,065	0,002
4 h	0,925 ± 0,066	0,006
6 h	0,934 ± 0,028	0,006
8 h	0,789 ± 0,067	0,006

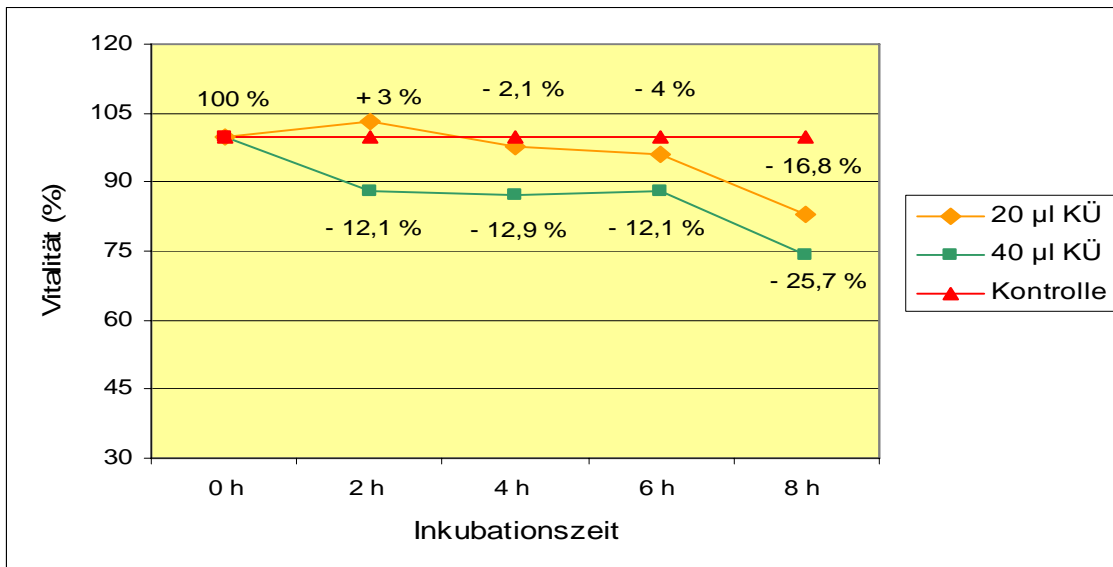


Abb. 4-2: Mittelwerte der Vitalitätsrate humaner gingivaler Fibroblasten im MTT-Test nach der Behandlung mit dem KÜ einer P. gingivalis Kultur, in Abhängigkeit von der Konzentration und der Inkubationszeit.

Tab. 4-3: Mittelwerte der optischen Dichte im MTT-Test nach der Behandlung mit aktiven *P. gingivalis* Bakterien.

Inkubationszeit	mittlere opt. Dichte ± s	Signifikanz (p)
0 h (Kontrolle)	0,739 ± 0,016	-
1 h	0,638 ± 0,053	0,093
2 h	0,572 ± 0,030	0,001
3 h	0,569 ± 0,037	0,001

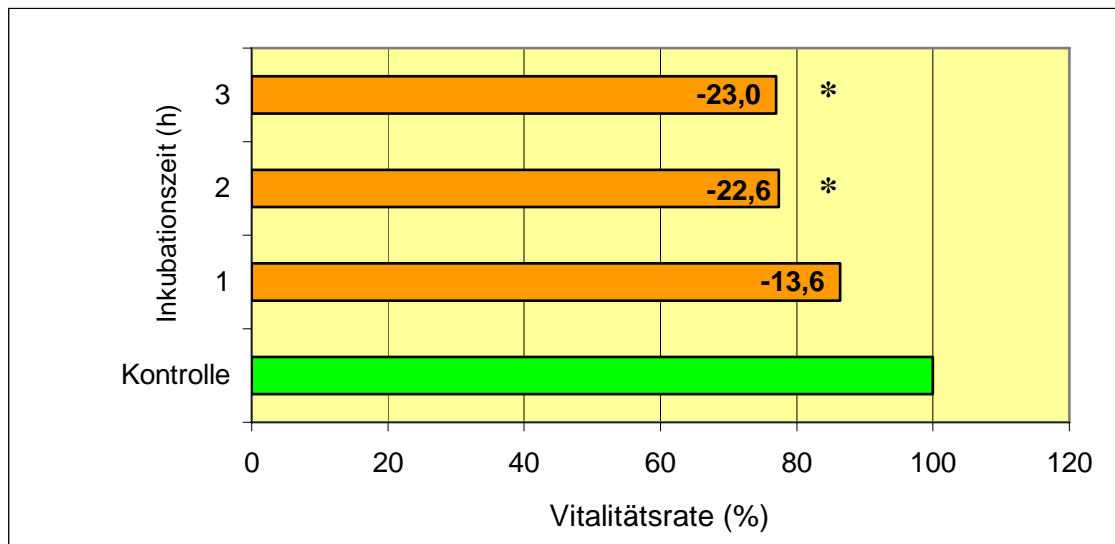


Abb. 4-3: Mittelwerte der Vitalitätsrate humaner gingivaler Fibroblasten nach der Behandlung mit aktiven *P. gingivalis* Bakterien in Abhängigkeit von der Inkubationszeit. * $p < 0,005$ (U-Test)

Zur Untersuchung der Ascorbinsäurewirkung auf die Zytotoxizität von *P. gingivalis* wurden die Fibroblasten 48 h vor der Infektion mit ascorbinsäurehaltigem Medium kultiviert. Die Infektionszeit mit *P. gingivalis* betrug 3 h. Die Ergebnisse zeigen positive Effekte, die jedoch von der Ascorbinsäurekonzentration abhängig waren (Tab. 4-4/Abb. 4-4). Dabei konnten bei der geringsten Konzentration (6 µg/ml) keine protektiven Effekte beobachtet werden. In diesem Fall kommt es nach der Bakterienexposition zu einem Vitalitätsverlust von 23,0%. Die Behandlung mit 10 µg/ml Ascorbinsäure führte

zu einem geringeren Vitalitätsverlust (11,0%) nach der Inkubation mit *P. gingivalis*, als ohne Vitamin C - Zugabe (22,6%). Bei einer Ascorbinsäurekonzentration von 20 µg/ml konnte trotz Infektion ein Vitalitätsanstieg um 19,0% beobachtet werden.

Tab. 4-4: Mittelwerte der optischen Dichte im MTT-Test nach der Behandlung mit aktiven *P. gingivalis* Bakterien und Ascorbinsäure.

Ascorbinsäurekonzentration	mittlere opt. Dichte ± s	Signifikanz (p)
0 µg/ml (Kontrolle)	0,739 ± 0,016	-
6 µg/ml	0,638 ± 0,053	0,093
10 µg/ml	0,572 ± 0,030	0,001
20 µg/ml	0,569 ± 0,037	0,001

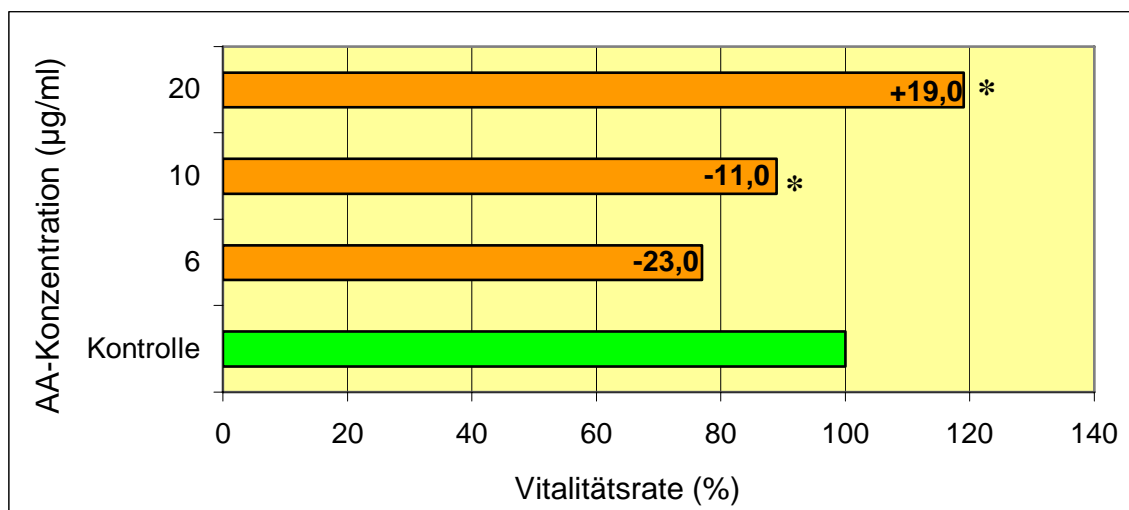


Abb. 4-4: Mittelwerte der Vitalitätsrate humaner gingivaler Fibroblasten nach der Behandlung mit aktiven *P. gingivalis* Bakterien und Ascorbinsäure.

* $p < 0,005$ (U-Test)

4. 3 Die Wirkung von *P. gingivalis* auf die Apoptose gingivaler Fibroblasten

Die Apoptoserate der gingivalen Fibroblasten wurde nach der Inkubation mit vitalen *P. gingivalis* Bakterien im Durchflusszytometer (Becton Dickinson) mit Annexin-V-FITC bestimmt. Tabelle 4-5 zeigt die prozentualen Anteile vitaler, apoptotischer und nekrotischer Zellen. Es wurden pro Ansatz vier Messungen durchgeführt, bei denen jeweils 5000 Zellen erfasst werden konnten. In Abbildung 4-5 wird deutlich, dass die Inkubation mit *P. gingivalis* den Anteil apoptotischer Zellen signifikant erhöht. Während unbehandelte Fibroblasten im Mittel 17,4% apoptotische Zellen aufweisen, zeigen nach der Inkubation mit *P. gingivalis* 66,1% der Zellen apoptotische Veränderungen. Außerdem konnten dann auch nekrotische Zellen nachgewiesen werden (2,7%). Wurde die Fibroblasten vor der *P. gingivalis*-Inkubation mit Ascorbinsäure behandelt, verringerte sich der Anteil apoptotischer Zellen signifikant auf unter 45% und nekrotische Zellen waren nicht mehr nachweisbar. Jedoch führten die verschiedenen Ascorbinsäurekonzentrationen zu unterschiedlichen Effekten auf die Apoptoserate. Bei 10 µg/ml AA konnte ein geringerer prozentualer Anteil apoptotischer Zellen gemessen werden als bei einer Konzentration von 20 µg/ml. In beiden Fällen wurden jedoch keine nekrotischen Zellen nachgewiesen.

Tab. 4-5: Prozentuale Anteile vitaler, apoptotischer und nekrotischer Fibroblasten nach der Behandlung mit aktiven *P. gingivalis* Bakterien und Ascorbinsäure (AA).

Ansatz	vitale HGF (%)	apoptot. HGF (%)	nekrotische HGF (%)
Kontrollzellen	82,5	17,5	0,0
<i>(ohne P. gingivalis + AA)</i>	81,5	18,5	0,0
	82,6	17,3	0,1
	83,1	16,9	0,0
HGF + <i>P. gingivalis</i> <i>(ohne AA)</i>	30,4	67,2	2,3
	32,3	64,6	3,1
	30,3	67,7	2,0
	31,7	64,8	3,5

HGF +<i>P. gingivalis</i> (mit 10 µg/ml AA)	60,4	39,6	0,0
	56,9	43,1	0,0
	62,0	37,9	0,1
	60,6	39,4	0,0
HGF +<i>P. gingivalis</i> (mit 20 µg/ml AA)	55,9	44,1	0,0
	54,1	45,9	0,0
	55,3	44,7	0,0
	56,0	44,0	0,0

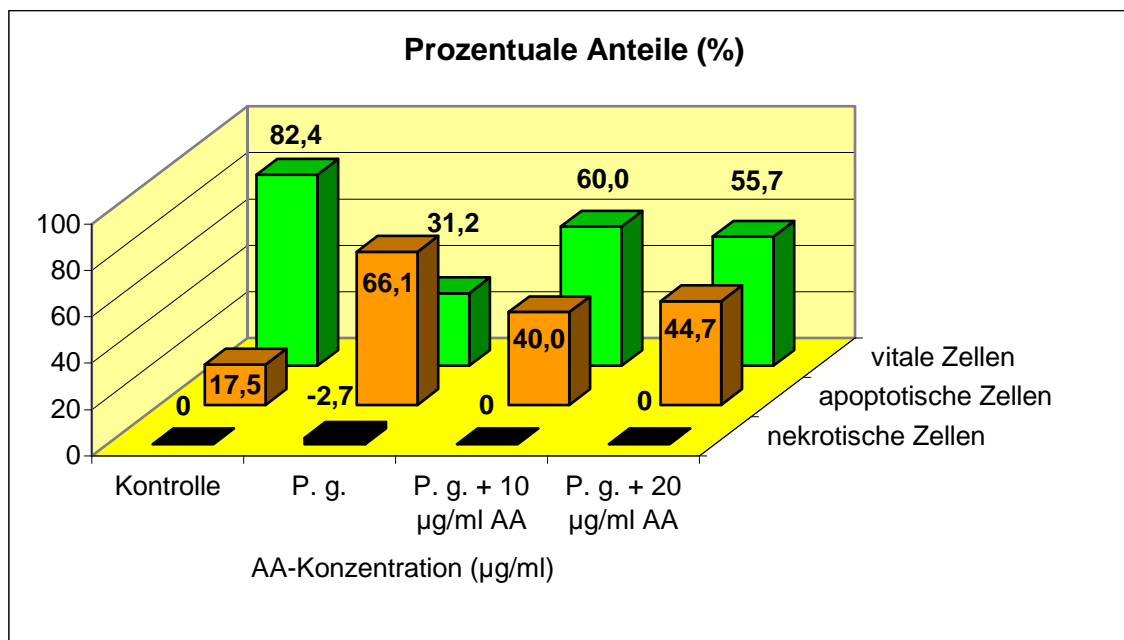


Abb. 4-5: Mittelwerte der prozentualen Anteile vitaler, apoptotischer und nekrotischer Fibroblasten nach der Behandlung mit *P. gingivalis* bzw. mit *P. gingivalis* und Ascorbinsäure (AA).

4. 4 Die Wirkung von *P. gingivalis* auf die Superoxidfreisetzung

Zur Bestimmung der Superoxid-Konzentration im Zellmedium während der Inkubation mit *P. gingivalis* wurde Ferri-Cytochrome C verwendet und der Farbumschlag photometrisch gemessen. Die Messungen (8 pro Ansatz) erfolgten zu Beginn, und 1, 2 und 3h nach der Infektion. Der Verlauf der Superoxidbildung ist in Abbildung 4-6 graphisch dargestellt. Im Diagramm zeigt sich ein deutlicher Anstieg der Superoxidkonzentration nach Zugabe der vitalen *P. gingivalis* Bakterien im Vergleich zu den unbehandelten

Kontrollzellen. Nach einer Inkubationszeit von 3 h konnte eine Konzentration von 0,954 nmol O_2^- gemessen werden, die signifikant über den Werten der unbehandelten Kontrollzellen (0,749 nmol O_2^-) lag ($p < 0,05$). Die Zugabe von Ascorbinsäure während der Infektion verringerte allerdings die Superoxidbildung nicht signifikant.

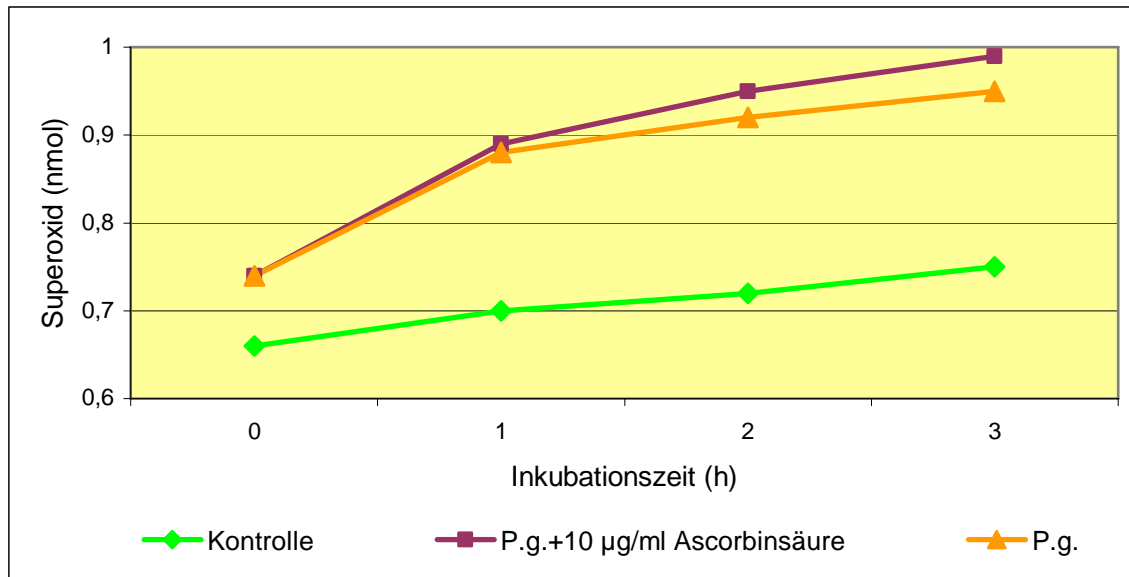


Abb. 4-6: Superoxidkonzentration im Zellmedium humaner gingivaler Fibroblasten während der Behandlung mit aktiven *P. gingivalis* Bakterien.

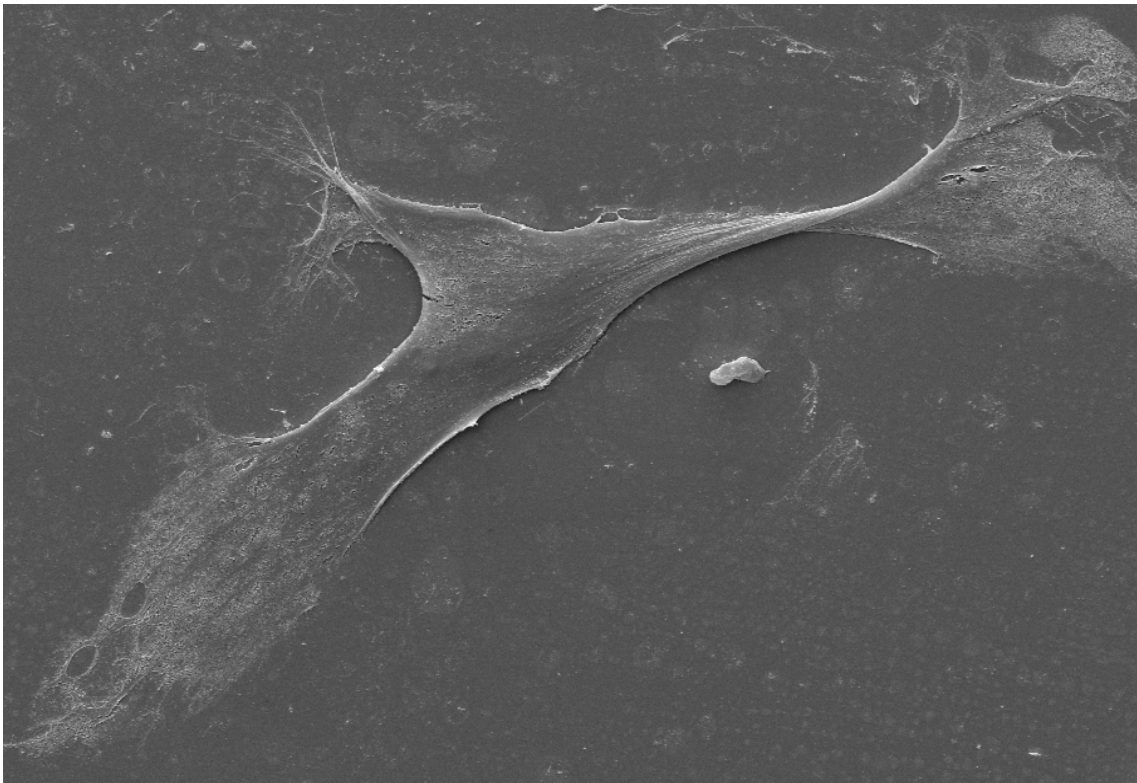
4.5 Mikroskopische Analyse

Zur Charakterisierung der zellulären Struktur der Fibroblasten und deren Interaktion mit *P. gingivalis* wurden die infizierten Zellen im Rasterelektronenmikroskop beobachtet:

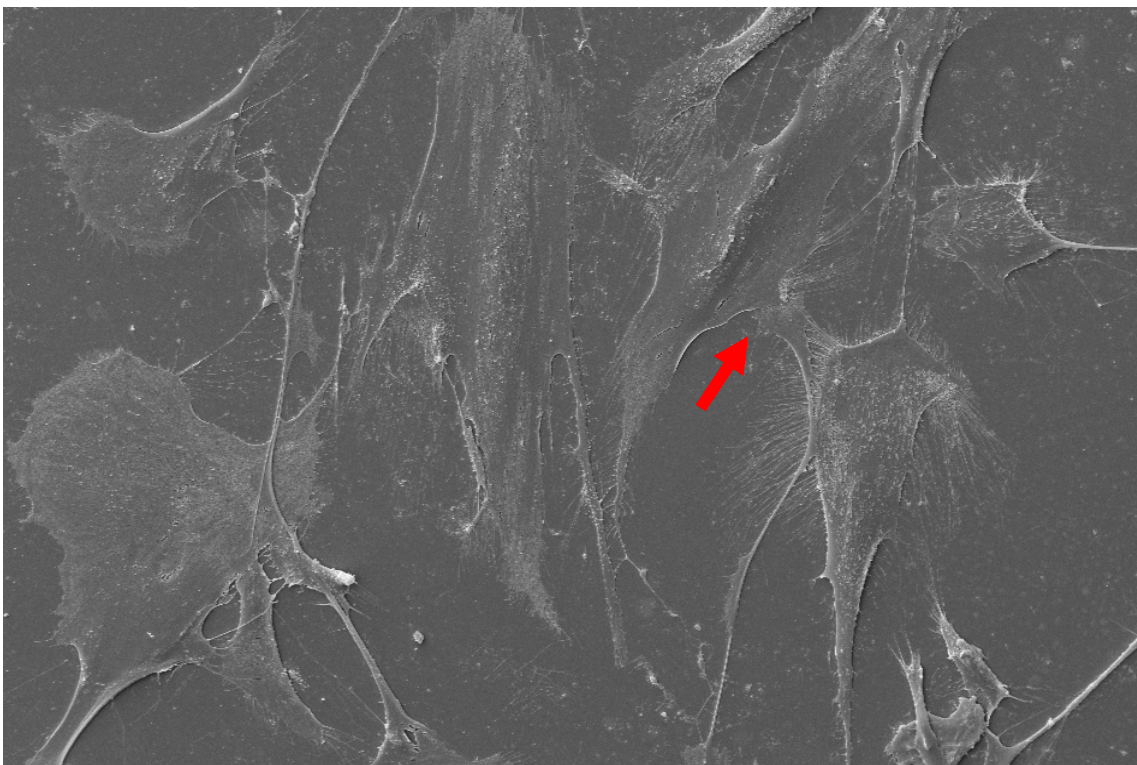
Die Abbildungen 4-7a bis c zeigen die Oberflächenstruktur gingivaler Fibroblasten ohne bakterielle Infektion. Dabei ist die faserförmige Struktur deutlich erkennbar (a). Im Zellverband bestehen Zellkontakte über filamentartige Fortsätze (b, c).

In Abbildung 4-8a wird die Zellwand eines humanen gingivalen Fibroblasts mit *P. gingivalis* Bakterien gezeigt. In der Umgebung einzelner Bakterien sind Zerstörungen der Zellmembran sichtbar. Die Form und die oberflächliche Beschaffenheit von *P. gingivalis* ATCC 33277 ist in Abbildung 4-8b zusehen. Das Bakterium tritt vereinzelt oder in Verklumpungen auf und entwickelt kleine runde oder längliche Formen. Deutlich sichtbar sind die Fimbrien der Bakterienzellwand, die den Kontakt zu anderen Bakterien und zur Zelloberfläche vermitteln.

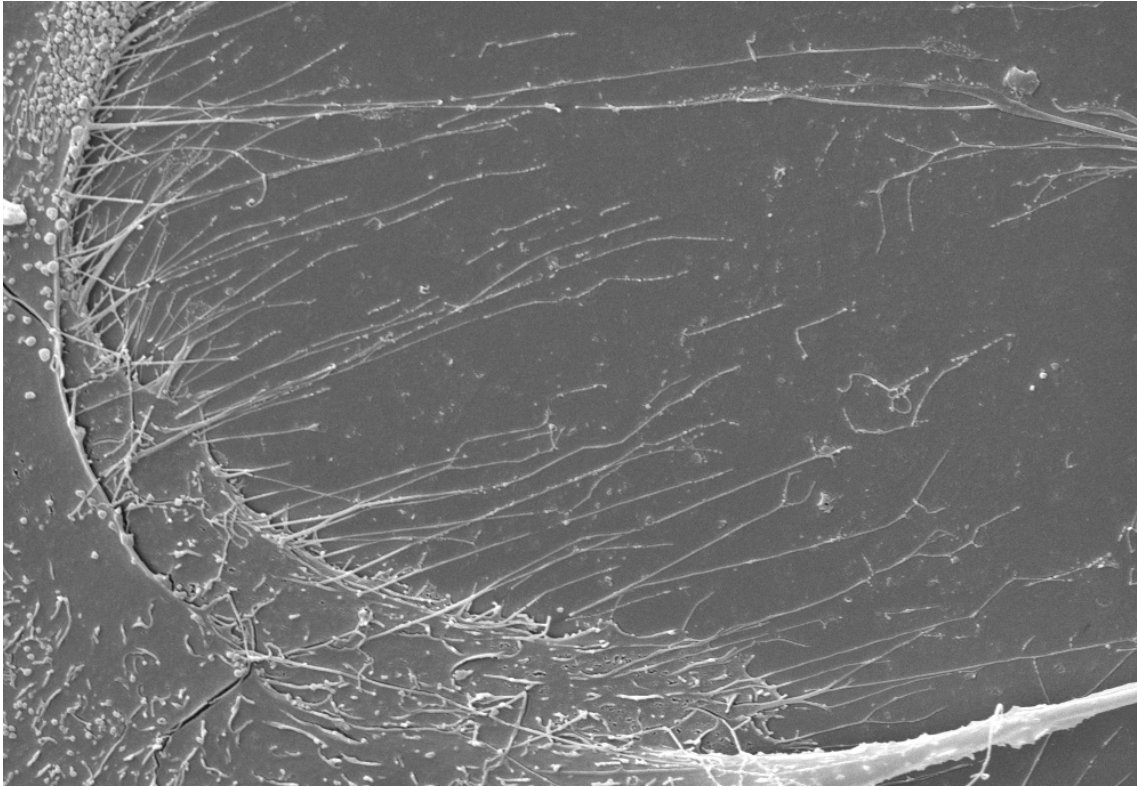
Abb. 4-7: *Gingivale Fibroblasten ohne bakterielle Infektion.*



(a) *Einzelner humaner gingivaler Fibroblast (468-fache Vergrößerung).*

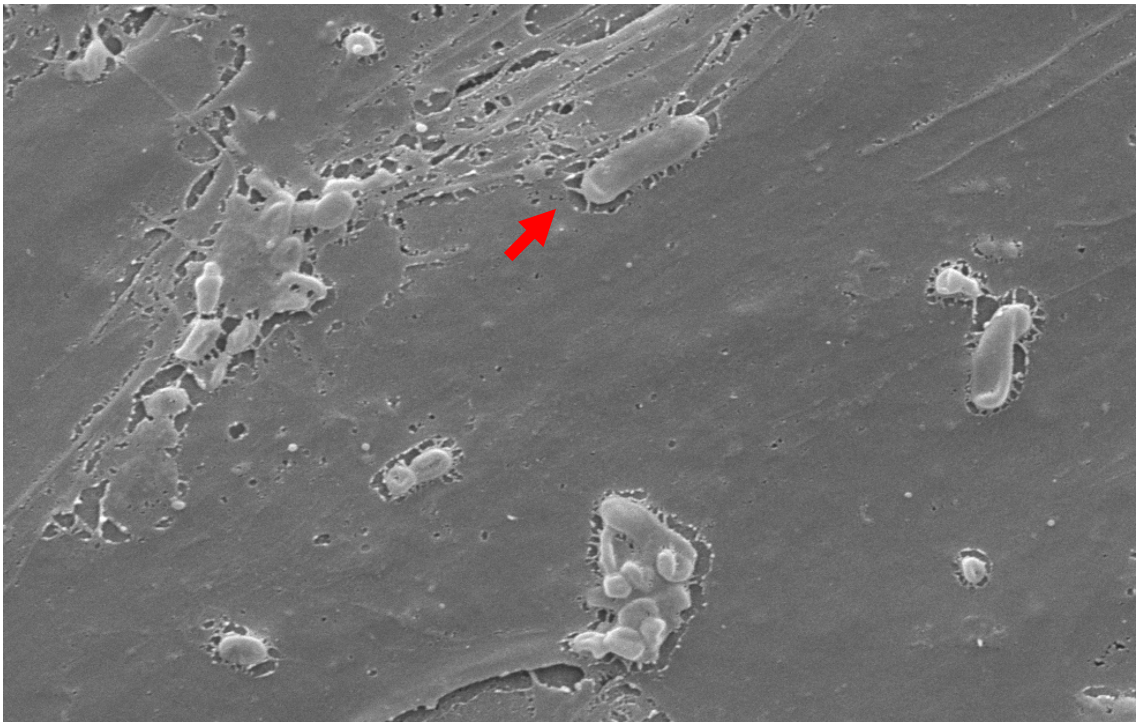


(b) *Gingivale Fibroblasten im Zellverband (228-fache Vergrößerung).*

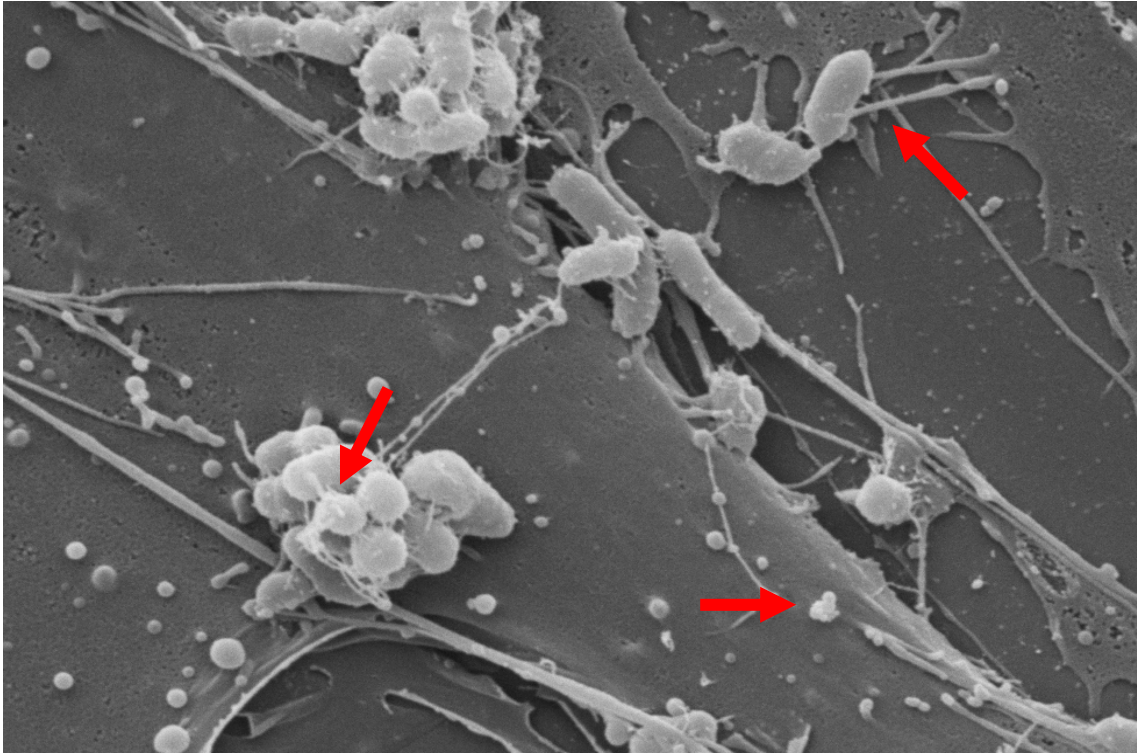


(c) Oberflächenstruktur eines gingivalen Fibroblasten (1550-fache Vergrößerung).

Abb. 4-8: Gingivale Fibroblasten mit *P. gingivalis* Infektion.



(a) *P. gingivalis* auf der Membran gingivaler Fibroblasten (4560-fache Vergrößerung).



(b) *P. gingivalis* auf der Membran gingivaler Fibroblasten (7300-fache Vergrößerung).

5 Diskussion

5. 1 Die zytotoxische Wirkung von *P. gingivalis*

Für die Untersuchungen in der vorliegenden Arbeit wurde *P. gingivalis* ATCC 33277 verwendet, ein Stamm, für den in verschiedenen Studien bereits eine starke zytotoxische Wirkung nachgewiesen werden konnte [JOHANSSON et al. 1996].

Die Inkubation der gingivalen Fibroblasten, sowohl mit dem Überstand einer *P. gingivalis* Kultur, als auch mit lebenden *P. gingivalis*, führte zu einer signifikanten Abnahme der Vitalitätsrate. Dabei zeigte die Behandlung mit dem Kulturüberstand eine deutliche Konzentrationsabhängigkeit. Bei einer Konzentration von 20 µl KÜ in 100 µl Zellmedium konnte nach 8 h eine Reduktion der Vitalitätsrate um 16,8% gemessen werden. Die Applikation von 40 µl KÜ in 100 µl Zellmedium führte bereits nach 2 h zu einer signifikanten Abnahme der Vitalität um 12,1%. Nach 8 h hatte die Vitalität bei 40 µl KÜ pro 100 µl Zellmedium um 25,8% abgenommen.

Der Kulturüberstand von Bakterien enthält Stoffwechselprodukte und bakterielle Zellbestandteile [SHAH et al. 1992]. *P. gingivalis* produziert beispielsweise proteolytische Enzyme und organische Säuren die an den extrazellulären Raum abgegeben werden und die in der Mundhöhle so mit den lokalen Gewebszellen in Kontakt kommen können [SHAH et al. 1992, KUMAGAI et al. 2000]. JOHANSSON et al. (1996) konnten für den Kulturüberstand von *P. gingivalis* (ATCC 33277) nach einer Inkubationszeit von 24 h ebenfalls eine signifikante Hemmung der Vitalität gingivaler Fibroblasten nachweisen.

Die Verwendung von Kulturüberständen entspricht jedoch nicht den Bedingungen in der Mundhöhle, da die nicht unwesentliche Wirkung bakterieller Zellbestandteile, wie Lipopolysaccharide und Fimbrien, nicht erfasst werden kann. In der Mehrzahl der verfügbaren In-vitro Studien wurden deshalb Bakterienextrakte (SBE=“sonicated bacterial extract“) verwendet, die durch die Zerstörung der Bakterienzelle mittels Ultraschall auch einzelne Zellbestandteile enthalten. YAMASAKI et al. (1998) beobachteten an periapikalen Fibroblasten eine deutliche Vitalitätsreduktion durch die Behandlung mit einem Extrakt aus *P. gingivalis*.

Einblicke in die direkten Wechselwirkungen zwischen Bakterium und Wirtszelle, die sich aus einer beiderseitigen biologischen Aktivität ergeben, können nur in Testsystemen erlangt werden, die mit lebenden Bakterien arbeiten. PARK & LAMONT

(1998) weisen daraufhin, dass die Bildung virulenter Substanzen erst durch den Kontakt zwischen Bakterium und Wirtszelle angeregt wird. In der vorliegenden Studie wurde daher neben der Verwendung des bakteriellen Überstandes auch mit aktiven Bakterien gearbeitet. Im Rahmen von Voruntersuchungen erfolgte dabei zunächst die Bestimmung der Überlebensrate des strikt anaeroben *P. gingivalis* im aeroben Milieu. Es zeigte sich, dass die Bakterien für 3 h ihre volle Aktivität im sauerstoffhaltigen Milieu aufrechterhalten können (Daten nicht gezeigt). Die Inkubationszeiten für die Untersuchungen wurden deshalb auf max. 3 h festgelegt.

Im Vergleich zur Anwendung des Kulturüberstandes von *P. gingivalis* konnte für lebende Bakterien eine stärkere und frühzeitigere Hemmung des Zellwachstums nachgewiesen werden. Nach einer Stunde wurde bereits ein signifikanter Vitalitätsverlust von 13,6% gemessen, während die Behandlung mit dem KÜ (40 µl) erst nach 2 h zu einer Reduktion der Vitalitätsrate um 12,1 % führte.

SHAH et al. (1992) untersuchten einzelne Virulenzfaktoren von *P. gingivalis* auf humane Epithelzellen und beobachteten, dass isolierte bakterielle Zellbestandteile nur eine mäßige zytotoxische Wirkung haben. Die Autoren stellten jedoch am Beispiel von Gingivain (Proteinase in der *P. gingivalis*-Membran) fest, dass bestimmte Zellstrukturen andere Virulenzfaktoren vor der irreversiblen Denaturierung im aeroben Milieu schützen. Diese Tatsache könnte die stärkere zytotoxische Wirkung der lebenden Bakterien in der vorliegenden Studie erklären. Im Überstand könnten die einzelnen Produkte und bakteriellen Bestandteile durch den Kontakt mit Sauerstoff ihre biologische Aktivität verloren haben und dadurch im Gegensatz zu den lebenden Bakterien eine geringere zytotoxische Aktivität aufweisen. Außerdem wäre es denkbar, dass endogene Schutzsysteme den Gewebszellen eine längere Widerstandsfähigkeit gegenüber löslichen Bakterienprodukten ermöglichen. Im Gegensatz dazu scheinen lebenden Bakterien Einfluss auf die zellulären Abläufe in der Wirtszelle zuzunehmen. Dies zeigen die vorliegenden Ergebnisse zu den Untersuchungen des Apoptoseverhaltens.

Die deutliche Verminderung der Vitalitätsrate durch die bakterielle Exposition scheint auf der Induktion von apoptotischen Vorgängen in den Fibroblasten zu beruhen. Die Bestimmung der Apoptoserate erfolgte mit Annexin-V-FITC im Durchflusszytometer. Dabei konnte ein drastischer Anstieg in der Anzahl apoptotischer Fibroblasten nach der Inkubation mit *P. gingivalis* (3 h) beobachtet werden. Durch die zusätzliche Verwendung von Propidiumjodid wurden nekrotische Zellen, deren Zellmembran

bereits stark zerstört war, von apoptotischen Zellen differenziert. Bei der Auswertung der Messungen war auffällig, dass die unbehandelten Kontrollzellen teilweise auch apoptotische Veränderungen (17,5%) zeigten. Dieser Effekt ist vermutlich auf die schädigende Wirkung von Trypsin-EDTA zur Ablösung der Zellen von der Oberfläche der Kulturflasche zurückzuführen. Nach der Inkubation mit *P. gingivalis* wurde jedoch eine deutlich höhere Apoptoserate (66,1%) gemessen.

Studien, die mit lebenden Bakterien und vergleichbaren Methoden zur Bestimmung der Apoptose arbeiten, liegen derzeit nicht vor. Jedoch konnten für parodontopathogene Bakterien, wie *A. actinomycetemcomitans* und *P. gingivalis* bereits apoptose-induzierende Eigenschaften, sowohl an Immunzellen (Leukozyten, T-Zellen) als auch an lokalen Gewebszellen, nachgewiesen werden [WANG et al. 1999, ARAKAWA et al. 2000, KATO et al. 2000].

WANG et al. (1999) isolierten Proteasen aus *P. gingivalis*, die apoptosefördernde Eigenschaften gegenüber gingivalen Fibroblasten entwickelten. Dabei verwendete die Arbeitsgruppe einen ELISA-DNA-Fragmentations-Test und Apo 2.7 im Durchflusszytometer. Nach 12 bzw. 24-stündiger Inkubation mit den Proteasen zeigte sich ein Anstieg in der Apoptoserate. Die Autoren führten diesen Effekt vorwiegend auf die proteolytische Wirkung gegenüber zellulären Strukturmolekülen, wie Kollagen und Fibronectin zurück.

De CARLO et al. (1998) konnten außerdem nachweisen, dass Proteasen von *P. gingivalis* auch die Aktivität und Freisetzung zelleigener Kollagenasen in Fibroblasten und Epithelzellen stimulieren. Die Zerstörung der extrazellulären Matrix scheint daher nicht nur durch direkte bakterielle Einflüsse zu erfolgen, sondern auch durch intrazelluläre Mechanismen bedingt zu sein, die letztlich apoptotische Veränderungen induzieren. Dabei scheinen freie Radikale (FR) oder reaktive Sauerstoffspezies (ROS) eine Rolle zuzuspielen, da sie auf verschiedenen Ebenen in die Signaltransduktion der Apoptose involviert sind [CHEN et al. 2001].

In der vorliegenden Arbeit wurde die Bildung von Superoxid ($O_2^{\cdot-}$) während der bakteriellen Infektion gemessen. Die Ergebnisse zeigen einen kontinuierlichen Anstieg der $O_2^{\cdot-}$ -Konzentration im Zellmedium der gingivalen Fibroblasten während der 3-stündigen Inkubationszeit.

Einige Studien zeigten bereits, dass der Kontakt mit bakteriellen Produkten bzw. mit Bakterien die Bildung und Freisetzung von FR und ROS induziert. Im Rahmen der Abwehrleistung phagozytischer Immunzellen, wie Granulozyten oder Makrophagen,

ist das ein ganz normaler Vorgang zur Abtötung phagozytierter und extrazellulärer Bakterien.

Derartige Reaktionen konnten auch an infizierten Endothelzellen und Fibroblasten beobachtet werden [MEIER et al. 1990, SANTUCCI et al. 1992, VALENTE et al. 2000]. Die exakten Mechanismen der Superoxid ($O_2^{\cdot-}$)-Freisetzung sind jedoch unbekannt. Es scheint sich allerdings weder um eine durch die Xanthin-Oxidase katalysierte Reaktion, noch um eine Beteiligung der mitochondrialen Atmungskette zu handeln.

VALENTE et al. (2000) konnten eine Zunahme von $O_2^{\cdot-}$ im Zellmedium von Endothelzellen messen, die mit *Pseudomonas aeruginosa* infiziert waren. SKALERIC et al. (2000) stimulierten die $O_2^{\cdot-}$ -Freisetzung gingivaler Fibroblasten durch die Exposition mit LPS von *E. coli* und erreichten nach 4 h eine Konzentration von max. 0,5 nmol $O_2^{\cdot-}$. Die Werte der vorliegenden Studie liegen etwa doppelt so hoch (1,0 nmol $O_2^{\cdot-}$ nach 3 h), was vermutlich auf die Verwendung anderer bzw. lebender Bakterien-spezies zurückzuführen ist.

Superoxid entsteht durch die Reduktion von molekularem Sauerstoff (O_2) und ist relativ reaktionsträge. Jedoch kann durch die Aufnahme von Wasserstoff das weitaus reaktionsfähigere Wasserstoffperoxid (H_2O_2) oder Hydroxylradikal (OH^{\cdot}) entstehen. Die hohe Reaktionsfähigkeit dieser Verbindungen ermöglicht die Bindung an biologische Makro- und Mikromoleküle. Speziell für gingivale Fibroblasten konnte gezeigt werden, dass freie Radikale Hyaluronsäuren und Proteoglykane der extrazellulären Matrix depolymerisieren und zytotoxisch wirken [SIMON et al. 1981, BARTOLD et al. 1984].

Eines der Enzyme, welche die Zelle gegenüber ROS, insbesondere Superoxid, schützt, ist die Superoxiddismutase (SOD). Diese befindet sich sowohl im Zytoplasma, als auch in der Mitochondrienmembran und konnte auch in Fibroblasten nachgewiesen werden [CROSTI et al. 1985]. Im Vergleich zur Haut zeigten biochemische Analysen im parodontalen Ligament eine über 2-fach höhere Aktivität der SOD [JACOBY & DAVIS 1991]. Als Antwort auf die bakterielle Infektion scheint daher nicht nur verstärkt $O_2^{\cdot-}$ freigesetzt, sondern auch die Genexpression für SOD als zellulärer Schutzmechanismus erhöht zu werden [SKALERIC et al. 2000]. Eine erhöhte Aktivität der SOD führt jedoch auch zu einer verstärkten Bildung von H_2O_2 , was wiederum durch seine schädigende Wirkung das Auftreten apoptotischer Veränderungen fördern könnte [BURDEN et al. 1996].

Die negativen Einflüsse der bakteriellen Exposition werden auch an sichtbaren Veränderungen in der zellulären Struktur deutlich. Neben der Messung der zytotoxischen Wirkung in den bereits diskutierten Testsystemen erfolgte zusätzlich eine Analyse des bakteriellen Infektionsvorgangs im Rasterelektronenmikroskop.

Die mikroskopische Betrachtung von *P. gingivalis* ATCC 33277 zeigt deutlich die Ausbildung von Fimbrien, die als polymere Strukturen der Bakterienmembran eine wichtige Rolle bei der Adhärenz zu anderen Bakterien und dem Wirtsgewebe spielen.

HAMADA et al. (1996) konnten nachweisen, dass *P. gingivalis* ATCC 33277 verschiedene Arten von Fimbrien aufweist, die sich in ihrer Proteinstruktur bzw. -größe (41 und 67 kDA) unterscheiden. *P. gingivalis* Stämme, die keine Fimbrien ausbilden, zeigen eine verminderte Adhärenzfähigkeit und damit ein geringeres pathogenes Potenzial.

Die mikroskopischen Bilder der gingivalen Fibroblasten zeigen auf der Zelloberfläche filamentartige Strukturen, die vermutlich der Zellkommunikation und der Stabilisierung des Zellverbandes dienen. Es wird vermutet, dass diese Filamente einen Kontakt zu den Bakterien herstellen und die Phagozytose durch Änderungen in der Zellmembran einleiten [ELLEN 1999]. In Abbildung 4-8b ist ein derartiger Kontakt zwischen *P. gingivalis* und der Fibroblastenmembran sichtbar.

ELLEN (1999) konnte nachweisen, dass *Treponema denticola* in der Lage ist diese Zellkontakte bzw. Filamente zu zerstören. Dabei kommt es zur Depolymerisierung von F-Actin, wodurch die längliche Struktur verloren geht und sich kugelförmige „Blebbs“ auf der Zelloberfläche bilden. In Abbildung 4-8b sind derartige „Bläschen“ erkennbar. Diese Tatsache spricht möglicherweise für einen ähnlichen pathogenen Mechanismus bei *P. gingivalis*, der durch die Zerstörung der zellvermittelten Kontaktstrukturen die Abwehrleistung der Fibroblasten abschwächen könnte.

Fibroblasten weisen die Fähigkeit zur Phagozytose auf. DOGAN et al. (1999) konnten *P. gingivalis* 24 h nach der Infektion mit dem Transmissionsmikroskop im Zytoplasma gingivaler Fibroblasten nachweisen.

5. 2 Die protektive Wirkung von Ascorbinsäure

In der vorliegenden Studie konnte durch die Kultivierung gingivaler Fibroblasten mit einem ascorbinsäurehaltigen Zellmedium eine Steigerung der Vitalität im MTT-Test nachgewiesen werden. Dieser Effekt lässt sich durch die verschiedenen funktionellen

Eigenschaften von Vitamin C begründen. Als wichtiges wasserlösliches Antioxidans im Zytosol und der Zellmembran inaktiviert es radikale Sauerstoffspezies, die als Nebenprodukt zellulärer Stoffwechselfvorgänge, z. B. in den Mitochondrien, gebildet werden. In der Zellmembran wirkt Ascorbinsäure außerdem indirekt antioxidativ durch die Regeneration des Tocopheroxyradikals [CHEPDA et al. 2001].

Die enorme Bedeutung antioxidativer Schutzsysteme, innerhalb und außerhalb der Zelle, zeigt sich in den negativen Auswirkungen von reaktiven Verbindungen auf zelluläre Strukturen. ROS sind instabile Moleküle, die auf Grund eines oder mehrerer ungepaarter Elektronen leicht mit zellulären Bestandteilen, wie z. B. Fettsäuren der Zellmembran oder Nukleinsäuren, reagieren können. Diese Reaktionen haben negative Folgen für die Funktionsfähigkeit der Zelle und können zum vorzeitigen Zelltod führen. Bei zellulären Alterungsprozessen spielen derartige Reaktionen ebenfalls eine wichtige Rolle [FRANCESCHI 1989]. KASHINO et al. (2003) beobachteten in einer aktuellen Studie an dermalen Fibroblasten, dass Ascorbinsäure den zellulären Alterungsprozess verzögern kann. Andere In-vitro Studien haben bereits die protektiven Effekte antioxidativer Substanzen, insbesondere von α -Tocopherol und Ascorbinsäure, gegenüber induziertem oxidativem Stress beschrieben. Dabei wurden Zelllinien der verschiedensten Organsysteme, wie z. B. Inselzellen der Pankreas [LUCA et al. 2000], dermale Fibroblasten [FARRIOL et al. 1994], Lungenzellen [ZHANG & OMAYE 2001] und arterielle Endothelzellen [HENNIG et al. 1989], untersucht. Jedoch scheint die Wirkung von Ascorbinsäure auf das Proliferationsverhalten auch von der Art der jeweiligen Zellen abzuhängen. So verminderte zum Beispiel die Zugabe von Ascorbinsäure die Proliferationsrate von malignen Zelllinien [ROOMI et al. 1998, NAIDU et al. 2003]. Für Zellarten, die Rückschlüsse auf die Problematik entzündlicher Parodontalerkrankungen zulassen, sind derartige Untersuchungen bisher unzureichend. Die Steigerung der Vitalitätsrate gingivaler Fibroblasten durch die Inkubation mit Ascorbinsäure zeigte in der vorliegenden Studie eine deutliche Konzentrationsabhängigkeit. Während Ascorbinsäurekonzentrationen zwischen 6 und 18 $\mu\text{g/ml}$ einen Vitalitätsanstieg von über 27% bedingten, führten im Gegensatz dazu Konzentrationen über 24 $\mu\text{g/ml}$ zu einem signifikant geringeren Vitalitätsanstieg (16 %).

Einige Autoren beschrieben bereits die Abhängigkeit der Ascorbinsäurewirkung von der Konzentration, wobei niedrige Dosen keine Effekte auf die Zellvitalität zeigten und höhere Dosen ($> 250 \mu\text{mol/l}$) sogar zu zytotoxischen Wirkungen führten [BUTLER et al. 1991, FARRIOL et al. 1994]. Möglicherweise stimulieren nur Konzentrationen, die

im physiologischen Bereich liegen das Zellwachstum. Daher wurden in dieser Arbeit Konzentrationen verwendet, die in etwa dem Durchschnittswert für humanes Plasma (ca. 50 $\mu\text{mol/l}$) entsprachen [LEVINE et al. 1999].

Außerdem wurde die Ascorbinsäure erst unmittelbar vor dem Gebrauch im Zellmedium gelöst, denn sie unterliegt im wässrigen Milieu und unter Sauerstoffanwesenheit schnell der Autoxidation. Bei diesem Prozess entsteht durch den Verlust eines Elektrons zunächst Semidehydroascorbinsäure bzw. ein freies Ascorbatradikal (AFR), das auf Grund seiner hohen Reaktionsfähigkeit im weiteren Verlauf durch die erneute Abgabe eines Elektrons zu Dehydroascorbinsäure oxidiert [WAYNER et al. 1986]. Einige Autoren beobachteten unter Anwesenheit von Zellen einen verzögerten Ascorbinsäureverlust und führten diesen Effekt auf einen Regenerationsmechanismus zurück, der durch ein Elektronentransportsystem in der Zellmembran gesteuert wird [NAVAS et al. 1994, GOLDENBERG et al. 2000].

Die Aufnahme von Ascorbinsäure durch humane Fibroblasten erfolgt nach WELCH et al. (1993) über zwei verschiedene Transportmechanismen, die beide aktiv entgegen eines Konzentrationsgradienten arbeiten, sich jedoch hinsichtlich ihrer Sättigungskinetik und ihrer Na^+ -Abhängigkeit unterscheiden. Während das erste Transportsystem bereits bei geringen Ascorbinsäurekonzentration eine Sättigung zeigt und Na^+ als Carrier benötigt, ist der zweite Mechanismus nahezu sättigungs- und natriumunabhängig [WELCH et al. 1994].

Neben der Funktion als Antioxidans ist die Ascorbinsäure auch an wichtigen Prozessen des Zellmetabolismus beteiligt. Als Cofaktor für die Prolin- und Lysin-Hydroxylase ist sie ein wichtiges Glied in der Kollagensynthese. Ein Vitamin C Mangel führt daher zu Schäden der Bindegewebsstruktur verschiedener Organsysteme, wie z. B. des Zahnweichgewebes und der Gefäßwände [FIRTH & MARVEN 2001]. Durch die Applikation von Ascorbinsäure konnte in In-vitro Studien eine Steigerung der Kollagensynthese beobachtet werden [BRIGELIUS & FLOHE 1996]. Indirekt würde diese Tatsache auch die gesteigerte Vitalitäts- bzw. Proliferationsrate begründen, die in der vorliegenden Studie beobachtet werden konnte. Diese Prozesse sind insbesondere für die Wundheilung von großer Bedeutung [DAVIDSON 1997, PASONEN-SEPPANEN et al. 2001]. CHEPDA et al. (2001) vermuten darüber hinaus, dass für die positive Wirkung auf das Zellwachstum das freie Ascorbatradikal (AFR) verantwortlich ist, das durch die Autoxidation von Ascorbinsäure entsteht. Dieses soll ein transmembranes Elektronentransportsystem aktivieren, welches das Zellwachstum stimuliert.

Die Applikation von Ascorbinsäure vor der bakteriellen Infektion führte in der vorliegenden In-vitro Studie zu einer abgeschwächten zytotoxischen Wirkung von *P. gingivalis* auf gingivale Fibroblasten. Das wird sowohl in einer erhöhten Vitalitätsrate, als auch in einer verminderten Apoptoserate nach der bakteriellen Infektion deutlich.

Mit dem MTT-Test konnte gezeigt werden, dass nach der Inkubation mit *P. gingivalis* (3 h) die Vitalität der Fibroblasten um 23% abnimmt. Bei den Zellen, die vorher mit Ascorbinsäure (10 µg/ml) behandelt wurden, trat allerdings ein Vitalitätsverlust von nur 11% ein. Diese Ergebnisse lassen insgesamt einen Mechanismus vermuten über den die Ascorbinsäure eine zytoprotektive Wirkung ausübt.

Fibroblasten können gegenüber bakteriellen Noxen eine Abwehrleistung entwickeln, die der Phagozytose von Leukozyten ähnlich ist [RABINOVITCH 1995]. In diesem Bereich ist möglicherweise auch ein Erklärungsansatz für die zytoprotektive Wirkung der Ascorbinsäure zu finden. Während des Phagozytosevorgangs werden verstärkt reaktive Sauerstoffspezies gebildet, um intra- und extrazelluläre Bakterien abzutöten. Die Ascorbinsäure spielt dabei eine wichtige Rolle. Einerseits schützt sie die phagozytierende Zelle intrazellulär vor den schädigenden Einflüssen der ROS. Andererseits scheint aber auch eine Beteiligung an der Bildung von ROS möglich zu sein, denn Ascorbinsäure kann sowohl antioxidative, als auch prooxidative Effekte entwickeln [ARRIGONI & DE TULLIO]. Phagozytierende Zellen, z. B. neutrophile Granulozyten, speichern in erhöhtem Maße Ascorbinsäure im Zellinneren, um sich selbst vor der schädigenden Wirkung freier Sauerstoffradikale zu schützen [WANG et al. 1997]. Die Bedeutung dieses Schutzmechanismus wird im Falle eines Vitamin C Mangels besonders deutlich, der u. a. mit einer gestörten Chemotaxis und somit einer erhöhten Anfälligkeit gegenüber Infektionen einhergeht [MEYLE et al. 1984, VAANANEN et al. 1993]. Außerdem konnten verschiedene Autoren nachweisen, dass sowohl In-vitro, als auch In-vivo eine Ascorbinsäuresupplementation zu einer Steigerung der Phagozytosefunktion bzw. der Abwehrleistung führt [MEYLE et al. 1984, LEVY et al. 1996].

Die Mechanismen der fibroblastenvermittelten Phagozytose sind im Einzelnen noch nicht geklärt. Jedoch werden Fibroblasten als so genannte „nichtprofessionelle“ Phagozyten bezeichnet, da ihre Phagozytosekapazität im Vergleich zu Granulozyten oder Makrophagen deutlich geringer ist [RABINOVITCH 1995].

In der vorliegenden Studie konnte während der bakteriellen Exposition ein Anstieg der Superoxidkonzentration gemessen werden, der durch die Behandlung mit Ascorbinsäure nicht reduziert werden konnte. Die Untersuchungen lassen jedoch keine Aussage darüber zu, ob die Superoxidfreisetzung auf die Fibroblasten oder die Bakterien zurückzuführen ist. VALENTE et al. (2000) weisen die Freisetzung von ROS eindeutig den Zellen zu, die durch den Kontakt mit Lipopolysacchariden von gram-negativen Bakterien zur Bildung von Superoxid und Wasserstoffperoxid angeregt werden. Dabei scheinen diese Verbindungen sowohl intrazellulär, als auch extrazellulär sezerniert zu werden.

Superoxid kann in der Zelle die Apoptose induzieren. WENZEL et al. (2004) beschreiben, dass Superoxid die Expression des antiapoptotischen Proteins bcl-X_L hemmt und somit an der Induktion apoptotischer Veränderungen beteiligt ist.

Möglicherweise neutralisiert Ascorbinsäure intrazellulär reaktive Sauerstoffspezies, insbesondere Superoxid, und verringert dadurch die Apoptoserate. Dies konnte in der vorliegenden Arbeit an Fibroblasten beobachtet werden. Durch die Exposition mit *P. gingivalis* stieg die Apoptoserate von 17,5% bei unbehandelten Zellen auf 66 % nach der Zugabe von *P. gingivalis* an. Bei Fibroblasten, die in einem ascorbinsäurehaltigen Medium (10µg/ml) kultiviert wurden, zeigte sich ein signifikant geringerer Anstieg der Apoptoserate (40%) nach der bakteriellen Exposition.

Die Rolle von Ascorbinsäure während apoptotischer Prozesse ist bisher noch nicht eindeutig geklärt. In den meisten verfügbaren Studien wurde die Wirkung von Vitamin C an malignen Zelllinien untersucht. Dabei konnten apoptosehemmende, aber auch apoptosefördernde Eigenschaften nachgewiesen werden [CASCIARI et al. 2001, WENZEL et al. 2004]. In einer aktuellen Studie von WENZEL et al. (2004) werden mögliche Angriffspunkte der Ascorbinsäure innerhalb der Apoptosekaskade detaillierter beschrieben. Dabei scheint die Ascorbinsäure die Aktivität des apoptoseauslösenden Proteins Caspase-3 zu hemmen, die Membranintegrität zu stabilisieren und die Fragmentation des Zellkerns zu verhindern, was insgesamt für eine protektive Wirkung gegenüber apoptotischen Prozessen spricht.

Obwohl die Rolle oxidativer Verbindungen während der bakteriellen Infektion unumstritten ist, war die Untersuchung von Antioxidantien als potentielle Protektoren bisher kaum Gegenstand aktueller Studien. Lediglich VALENTE et al. (2000) publizierten eine wissenschaftliche Arbeit zu dieser Problematik und beschrieben einen

signifikant positiven Effekt von Tocopherol (Vitamin E) auf die Überlebensrate infizierter Endothelzellen.

Teil II

Analyse der Nährstoffaufnahme von Patienten mit Parodontitis im Vergleich zu gesunden Probanden

6 Einleitung und Zielstellung

Patienten mit einer schweren oder auch therapierefraktären Form der Parodontitis sind in ihrem „Mundkomfort“ beeinträchtigt und erleben dadurch nicht selten eine deutliche Einschränkung der Lebensqualität, die neben ästhetischen Komponenten auch die Nahrungsaufnahme betreffen kann [MANDEL 2002]. Mit der Entzündung am parodontalen Weichgewebe und der Lockerung einzelner Zähne sind Schmerzen verbunden, die besonders bei der Nahrungsaufnahme auftreten. In der Folge kann es zu Änderungen in den Ernährungsgewohnheiten kommen. „Problematische“ Nahrungsmittel, wie z. B. Äpfel, Zitrusfrüchte, Nüsse oder Vollkornbrot, werden dann nicht mehr verzehrt, wodurch möglicherweise die Versorgung mit essentiellen Nährstoffen gefährdet ist. Eine unausgeglichene Nährstoffbilanz kann sich wiederum negativ auf die bestehende entzündliche Parodontalerkrankung auswirken, da einzelne Vitamine, Spurenelemente wichtige Funktionen im Immunsystem, während der Entzündungsreaktion und bei der Wundheilung erfüllen [BOYD & LAMPI 2001]. Unter diesem Aspekt sollte die Ernährung im Rahmen der parodontalen Gesundheitsprophylaxe und bei parodontaltherapeutischen Maßnahmen einen wichtigen Stellenwert einnehmen.

Im zweiten Teil der vorliegenden Arbeit wurde anhand eines 7-Tage-Ernährungsprotokolls die Aufnahme von bestimmten Nährstoffen bei Parodontitispatienten erfasst und mit den Daten gesunder Probanden verglichen. Außerdem erfolgte die labor-technische Bestimmung des Vitamin C Status.

7 Material und Methoden

7.1 Auswahl der Probandengruppen

Die Studienpopulation umfasste insgesamt 80 Probanden, die sich in zwei Gruppen unterteilten.

Die Testgruppe (n = 42) setzte sich aus Parodontitispatienten (19 Männer / 23 Frauen) zusammen, die konsekutiv aus dem Patientengut der Poliklinik für Konservierende Zahnheilkunde des Klinikums der Friedrich-Schiller-Universität Jena rekrutiert wurden. Die Patienten waren zur Parodontitistherapie an die Universitätszahnklinik überwiesen worden und zeigten anhand des klinischen Befundes eine generalisierte chronische bzw. aggressive Verlaufsform der Parodontitis. Das Durchschnittsalter der Patienten betrug 44 Jahre (22 - 75).

Die Referenzgruppe setzte sich aus 38 Personen (15 Männer / 23 Frauen) zusammen, die zur jährlichen Routineuntersuchung in die Zahnklinik kamen und auf Grund der parodontologischen Befunderhebung als „parodontal gesund“ eingestuft wurden. Die Personen entsprachen bezüglich des Alters denen der Testgruppe.

Alle Studienteilnehmer waren zum Zeitpunkt des Studienbeginns systemisch gesund, d. h. es waren keine Infektions- oder Stoffwechselerkrankungen bekannt.

Die Studienteilnahme war freiwillig und wurde durch die Unterschrift auf einer Einverständniserklärung bestätigt. Der Studienablauf wurde der Ethikkommission der Friedrich Schiller Universität Jena vorgelegt und genehmigt.

7.2 Parodontologische Befunderhebung

Bei allen Studienteilnehmern erfolgte zu Beginn der Studie die Erfassung des Parodontalstatus durch die Bestimmung des Plaqueindex, des Sulkusblutungsindex und der Sondierungstiefen. Die klinische Befunderhebung wurde immer von dem gleichen Arzt durchgeführt, um subjektive Bewertungsunterschiede zu vermeiden.

Der Plaqueindex (PI) nach SILNESS und LÖE (1964) erlaubt die Einschätzung des Mundhygieniezustandes, indem über Bewertungsgrade die Plaquemenge im Bereich des Gingivasulkus und der benachbarten Zahnflächen beurteilt wird. Dabei werden alle Zähne, sowohl oral, als auch vestibulär an vier Messpunkten mittels Spiegel und Sonde untersucht. Aus der Summe der einzelnen Bewertungsgrade, die durch die Anzahl der

untersuchten Flächen geteilt wurde, konnte für jeden Studienteilnehmer eine individuell generalisierte und vergleichbare Plaquekonstante ermittelt werden.

Bewertungsgrade: Grad 0 – kein Plaquebelag

Grad 1 – hauchdünner Plaquebelag auf dem Gingivarand und den benachbarten Flächen

Grad 2 – mäßiger Plaquebelag auf dem Gingivarand und den benachbarten Flächen

Grad 3 – deutlicher Plaquebelag auf dem Gingivarand, der weit auf die Zahnkrone übergreift

Der Sulkusblutungsindex (SBI) nach MÜHLEMANN & SON (1971) bewertet die Blutungsbereitschaft des Parodonts und charakterisiert damit den Entzündungszustand der Gingiva. Im Rahmen der parodontologischen Befunderhebung wurden bei den Studienteilnehmern alle Zähne am Sulkuseingang vorsichtig mit einer Parodontalsonde untersucht. Dabei erfolgte die Unterscheidung von 5 Bewertungsgraden. Aus der Summe der einzelnen Bewertungsgrade, die durch die Anzahl der untersuchten Flächen geteilt wurde, konnte für jeden Probanden der Sulkusblutungsindex ermittelt werden.

Bewertungsgrade: Grad 0 – normal aussehende Gingiva, keine Blutung bei Sondierung

Grad 1 – keine Veränderung der Gingivafarbe und Textur, Blutung bei vorsichtiger Sondierung

Grad 2 – entzündliche Farbveränderung, keine Veränderung der Textur, Blutung bei Sondierung

Grad 3 – Farbveränderung, leichtes Ödem, Blutung bei Sondierung

Grad 4 – Farbveränderung, schweres Ödem, Blutung bei Sondierung

Grad 5 – Farbveränderung, schweres Ödem mit oder ohne Ulzeration, Spontanblutung

Mit einer standardisierten WHO-Sonde, die am Sondenende eine kleine Kugel mit einem Durchmesser von 0,5 mm hat und eine farbige Messskala bis 11,5 mm aufweist, lässt sich die Tiefe des Sulkusspaltes bestimmen. Die Messung der Sondierungstiefe gibt Auskunft über das Ausmaß der Destruktion am parodontalen Gewebe.

In der vorliegenden Studie wurden bei jedem Studienteilnehmer alle Zähne vorsichtig untersucht. Eine Sondierungstiefe von über 2 mm deutete auf pathologisch vertiefte Zahntaschen hin.

7. 3 Fragebogen und Ernährungserhebung (7-Tage-Ernährungsprotokoll)

Alle Studienteilnehmer füllten zu Beginn der Studie einen Fragebogen aus, der das aktuelle Körpergewicht, die Körpergröße, die Einnahme von Nahrungsergänzungsmitteln und die Rauchgewohnheiten dokumentierte (siehe Anhang).

Aus dem Körpergewicht und der Körpergröße erfolgte die Berechnung des Body Mass Index (BMI) und die Zuordnung zu verschiedenen Gewichtsgruppen:

BMI =	Körpergewicht (kg)	BMI < 18,5	Untergewicht
	_____	BMI 18,5 – 24,9	Normalgewicht
	[Körpergröße (m)] ²	BMI 25 – 29,9	Übergewicht
		BMI > 30	Adipositas

Personen, die Nahrungsergänzungsmittel einnahmen, wurden von der Teilnahme an der Studie ausgeschlossen.

Die Dokumentation der Ernährungsgewohnheiten erfolgte mit einem standardisierten 7-Tage-Ernährungsprotokoll nach einer Vorlage der *Deutschen Gesellschaft für Ernährung* (DGE) (siehe Anhang). Um den Protokollierungsaufwand für die Teilnehmer so gering wie möglich zu halten, waren alle Nahrungsmittel, die im Durchschnitt in Deutschland häufig verzehrt werden, in geeigneten Portionsgrößen auf dem Protokoll vorgegeben, so dass lediglich der Verzehr durch ein Vermerk bei dem entsprechenden Nahrungsmittel bestätigt werden musste. Für Nahrungsmittel, die nicht aufgelistet waren, stand zur Ergänzung ein freier Abschnitt auf dem Protokoll zur Verfügung.

Die Ausgabe der Protokolle erfolgte direkt nach der parodontologischen Untersuchung und war mit einer Anweisung über die Handhabung verbunden. Dabei wurden die bereits durchgeführten Mahlzeiten des aktuellen Tages als Beispiel gemeinsam mit den Probanden in das Protokoll eingetragen. Während des gesamten Studienzeitraumes stand den Probanden eine Hotline für eventuelle Fragen und Probleme beim Ausfüllen der Protokolle zur Verfügung.

Die Auswertung der Ernährungsdaten erfolgte mit einem PC-Programm der DGE „DGE-PC professional 2.7“. Dabei wurde anhand der protokollierten Nahrungsmittel die tägliche Aufnahme einzelner Ernährungsfaktoren, wie Hauptnährstoffe, Vitamine, Mengen- und Spurenelemente individuell für jeden Studienteilnehmer berechnet. Aus den einzelnen Daten der 7 Protokollierungstage wurde anschließend ein Mittelwert gebildet, der im Durchschnitt die Aufnahme der erfassten Nährstoffe widerspiegelt. Die Daten wurden mit den Empfehlungen der DGE verglichen.

Neben der Datenanalyse am PC erfolgte außerdem die Berechnung des individuellen Obst- und Gemüseverzehrs.

7. 4 Bestimmung des Vitamin C – Plasmaspiegels

Der Vitamin C – Status wurde bei jedem Studienteilnehmer durch die Messung des Ascorbinsäurespiegels im Blutplasma bestimmt. Die Blutentnahme erfolgte jeweils im Verlauf des Vormittags zwischen 8:00 und 12:00 Uhr. Gleich im Anschluss wurde das Plasma durch Zentrifugation bei 4000 rpm/min für 10 min separiert und bei -80°C tiefgefroren. Die Analyse der Proben erfolgte innerhalb von 2 Wochen. Da Ascorbinsäure lichtempfindlich ist, wurden alle verwendeten Röhrchen und Eppendorfgefäße mit Alufolie abgedunkelt.

Die verwendete Bestimmungsmethode beruht auf der Oxidation von Ascorbinsäure zu Dehydroascorbinsäure in einer kupferkatalysierten Reaktion. Die Zugabe von 2,4-Dinitrophenylhydrazin (DNP) ermöglichte die photometrische Messung anhand eines Farbumschlages.

Für die Messung der Ascorbinsäurekonzentration wurde jeweils 200 µl Plasma mit 300 µl Trichloressigsäure-Lösung zur Ausfällung der Plasmaproteine gemischt. Im Anschluss erfolgte die Zentrifugation bei 12.000 U/min. zur Gewinnung von 300 µl klarem Überstand. Aus 1 Teil Thioharnstofflösung, 1 Teil Kupfersulfatlösung und 20 Teilen 2,4-Dinitrophenylhydrazin-Lösung wurde in der Zwischenzeit ein DNP-Reagenz hergestellt, das in einer Menge von 100 µl zu der Probe gegeben wurde. Danach erfolgte für 1 h die Temperierung auf 60°C im Wasserbad. Nachfolgend war eine schnelle Senkung der Temperatur im Eisbad auf 5°C erforderlich, um die erneute Erwärmung durch die Zugabe von 200 µl konz. Schwefelsäure so gering wie möglich zu halten. Danach wurden die Proben für 20 min. im Dunkeln inkubiert und gleich im Anschluss photometrisch bei 520 nm gemessen.

Die Ascorbinsäurekonzentration wurde anhand einer Standardkurve, die sich aus den Messwerten von Lösungen mit bekannter Konzentration ergab, errechnet.

7.5 Statistische Prüfverfahren

Aus den Einzelbefunden erfolgte die Berechnung der entsprechenden Mittelwerte und Standardabweichungen sowohl für die Testgruppe, als auch für die Referenzgruppe.

Die Standardabweichung gibt den mittleren quadratischen Fehler der Einzelwerte an und wird von der Qualität einer Messmethode bestimmt.

Die Prüfung auf Normalverteilung war negativ, deshalb wurde der parameterfreie U-Test von MANN und WHITNEY für die Signifikanzprüfung gewählt. Der U-Test ist ein verteilungsfreier Test für den Vergleich der zentralen Tendenz zweier unabhängiger Stichproben. Er prüft die Hypothese, ob die zu vergleichenden Stichproben aus einer homogen verteilten Population mit identischem Medianwert stammen. Wird der U-Test signifikant, ist davon auszugehen, dass sich die Mediane der zugrunde liegenden Stichproben unterscheiden.

Zur statistischen Prüfung von Zusammenhängen wurde der Korrelationskoeffizient (r) nach Pearson berechnet. Er ist ein „Assoziationsmaß“ für lineare bzw. kontinuierliche Variablen, die gleichberechtigt betrachtet und durch eine z-Transformation standardisiert und vergleichbar gemacht werden. Der Korrelationskoeffizient kann in einem Wertebereich von -1 bis +1 liegen, wobei „ $r = 0$ “ auf keinen Zusammenhang zwischen zwei Variablen hinweist. Bei „ $r = -1$ “ liegt eine negative und bei „ $r = +1$ “ eine positive Korrelation vor.

Die statistische Analyse der Ernährungsdaten erfolgte vorwiegend in Abhängigkeit vom Geschlecht der Probanden, da bei den meisten Nährstoffen geschlechtsspezifische Unterschiede im Bedarf bestehen. Dabei wurden Männer und Frauen der Test- und Referenzgruppe jeweils separat verglichen. Der Vergleich der Ballaststoffaufnahme und der Vitamin C Plasmaspiegel erfolgte unabhängig vom Geschlecht.

8 Ergebnisse

8.1 Klinische Befunderhebung

Zu Beginn der vorliegenden Studie wurde der Parodontalstatus von allen Studienteilnehmern bestimmt, um einerseits den Krankheitszustand der Parodontitispatienten zu charakterisieren und andererseits die Teilnehmer der Referenzgruppe nachweislich als „parodontal gesund“ definieren zu können. In Tabelle 8-1 sind die Werte des Plaqueindex, des Sulkusblutungsindex und der Sondierungstiefen (ST) erfasst.

Auf Grund der parodontologischen Befunde konnte in der Parodontitisgruppe vorwiegend die generalisierte Form der Parodontitis diagnostiziert werden, die entweder einen chronischen oder aggressiven Verlauf aufwies.

Tab. 8-1: Daten der parodontologischen Befunderhebung.

Parameter	Testgruppe „Parodontitis“	Referenzgruppe „parodontal gesund“	Signifikanz (p)
n	42	38	
Alter	43,7	40,5	0,242
PI	0,61±0,5	0,21±0,2	0,001
SBI	1,68±0,6	0	0,001
ST	5,3±0,6	2,0±0,4	0,001

8.2 Body Mass Index (BMI)

Der Body Mass Index (BMI) als Parameter für das Körpergewicht zeigte keine signifikanten Unterschiede zwischen den Parodontitispatienten und der Referenzgruppe. Während in der gesunden Gruppe ein mittlerer BMI von 24,0 ermittelt wurde, hatten die Parodontitispatienten einen durchschnittlichen BMI von 25,5 (p=0,209). In der Abb. 8-1 sind die prozentualen Anteile der Probanden in dem jeweiligen Klassifizierungsbereich dargestellt. In der Parodontitisgruppe konnten auf Grund des BMI 53,0% als normalgewichtig, 29,4% als übergewichtig und 14,7% als adipös eingestuft werden. In der

gesunden Gruppe waren 55,6% normalgewichtig, 33,3% übergewichtig und nur 7,4% adipös.

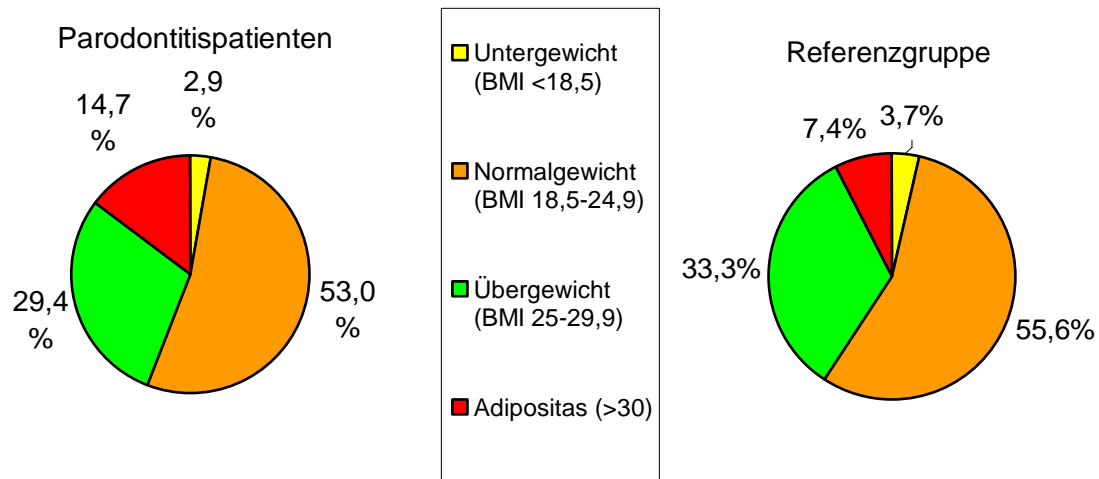


Abb. 8-1: Vergleich der prozentualen Anteile im jeweiligen BMI-Klassifizierungsbereich zwischen Parodontitispatienten und der Referenzgruppe.

8. 3 Auswertung der 7-Tage-Ernährungsprotokolle

Hauptnährstoffe

Bei der Auswertung der Ernährungsprotokolle konnten in der Energieaufnahme keine signifikanten Unterschiede zwischen der gesunden Referenzgruppe und der Parodontitisgruppe nachgewiesen werden (Abb. 8-2). Während die männlichen Parodontitispatienten im Durchschnitt täglich 2306 kcal aufnahmen, konnte bei den gesunden Männern eine etwas höhere Energiezufuhr von 2452 kcal errechnet werden ($p=0,252$). Die Frauen der Parodontitisgruppe kamen auf eine mittlere Energiezufuhr von 1747 kcal/d, die im Vergleich zu den Teilnehmerinnen aus der Referenzgruppe (1962 kcal/d) ebenfalls geringer war ($p=0,125$).

In Tabelle 8-2 ist für alle Studienteilnehmer die mittlere Aufnahme an den energieliefernden Nährstoffen (Kohlenhydrate, Fett und Eiweiß), differenziert nach dem Geschlecht, dargestellt.

Bei der Kohlenhydrataufnahme (KH) konnte ein signifikanter Unterschied zwischen den Parodontitispatienten und der Referenzgruppe beobachtet werden ($p<0,05$). Dabei nahmen die Männer der Parodontitisgruppe mit 237 g pro Tag signifikant weniger KH

im Vergleich zu den Teilnehmern aus der Referenzgruppe (289 g/d) auf. Bei den Frauen zeigten die Parodontitispatienten mit 202 g pro Tag ebenfalls eine geringere Aufnahme, als die Probanden der gesunden Referenzgruppe (240 g/d).

Die Auswertung des Fett- und Proteinverzehrs ergab keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen. Tendenziell zeigten die männlichen Parodontitispatienten eine höhere Eiweißaufnahme als die Teilnehmer der Referenzgruppe. Bei den weiblichen Studienteilnehmern konnte im Gegensatz dazu in der Referenzgruppe (77 g/d) eine höhere Eiweißzufuhr als in der Parodontitisgruppe (70 g/d) gemessen werden. Die Fettaufnahme lag bei den Studienteilnehmern je nach Geschlecht im Mittel auf dem gleichen Niveau. Dabei nahmen die Männer insgesamt 93-94 g und die Frauen 68 g Fett pro Tag auf.

Tab. 8-2: Mittelwerte der Kohlenhydrat- (KH), Fett- und Eiweißaufnahme (EW), differenziert nach dem Geschlecht.

Gruppe	KH (g/d)		Fett (g/d)		EW (g/d)	
	m	w	m	w	m	w
Testgruppe (Parodontitis)	237±64	202±59	94±24	68±14	99±28	70±13
Referenzgruppe (gesund)	289±39	240±58	93±23	68±20	93±10	77±20
Signifikanz (p)	0,031	0,038	0,899	0,904	0,849	0,200

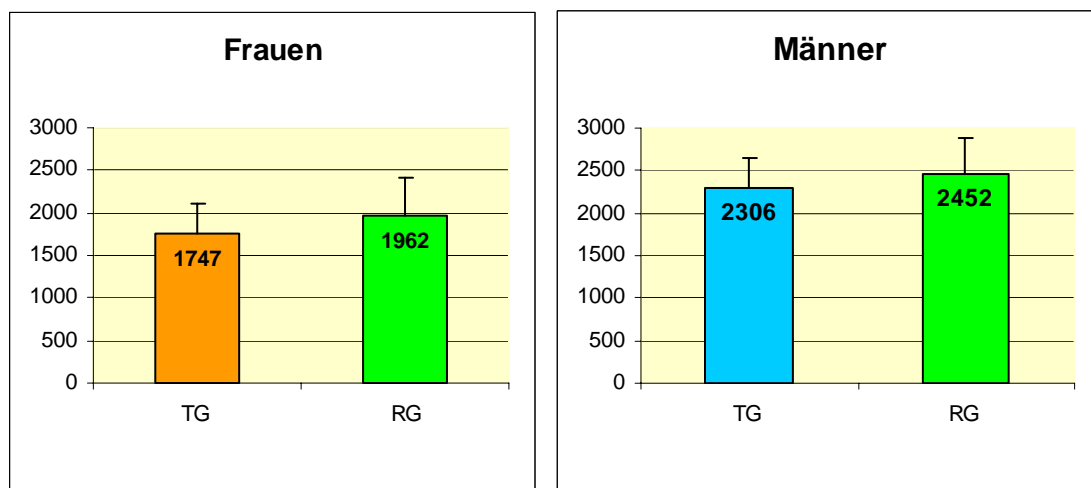


Abb. 8-2: Mittelwerte der Energiezufuhr in kcal/d. Vergleich zwischen Parodontitispatienten (TG) und Referenzgruppe (RG), differenziert nach dem Geschlecht.

Ballaststoffe

Die Ernährungsanalyse ergab eine deutliche Differenz in der Ballaststoffzufuhr zwischen den Parodontitispatienten und der gesunden Referenzgruppe (Abb. 8-3). Die Parodontitispatienten nahmen mit 22 g/d signifikant weniger Ballaststoffe über die tägliche Ernährung auf, als die gesunden Probanden mit 29 g/d ($p < 0,05$).

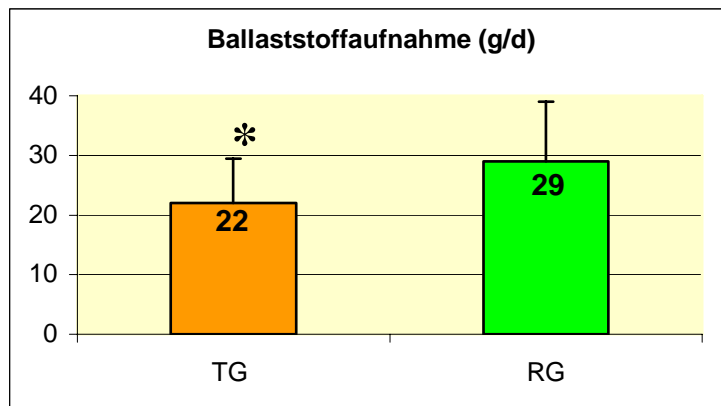


Abb. 8-3: Mittelwerte der Ballaststoffzufuhr in g/d. Vergleich zwischen Parodontitispatienten und der Referenzgruppe. * $p=0,018$ (U-Test)

Fettlösliche Vitamine

Die Erfassung der täglichen Vitamin A-Aufnahme ergab eine höhere Zufuhr bei den Parodontitispatienten, jedoch ohne statistische Signifikanz (Abb. 8-4). Während die Männer der Parodontitisgruppe im Mittel 2,1 mgRÄ/d aufnahmen, waren es in der Referenzgruppe nur 1,6 mgRÄ/d ($p=0,363$). Die Vitamin A-Aufnahme der Studienteilnehmerinnen lag grundsätzlich unter den Werten der Männer. Dabei wurden in der Parodontitisgruppe 1,7 mgRÄ/d und in der Referenzgruppe 1,5 mgRÄ/d aufgenommen ($p=0,589$).

Die Auswertung der Ernährungsprotokolle ergab bei der Vitamin E-Aufnahme geringere Werte in der Parodontitisgruppe (Abb. 8-5). Dieser Unterschied war jedoch statistisch nicht signifikant. Die Studienteilnehmerinnen der Testgruppe wiesen mit 11 mgTÄ/d eine geringere Zufuhr als die Probandinnen der Referenzgruppe (13 mgTÄ/d) auf ($p=0,367$). Die Männer wiesen insgesamt etwas höhere Werte auf, wobei die Testgruppe mit 12 mgTÄ/d unter dem Niveau der Referenzgruppe (14 mgTÄ/d) lag ($p=0,142$).

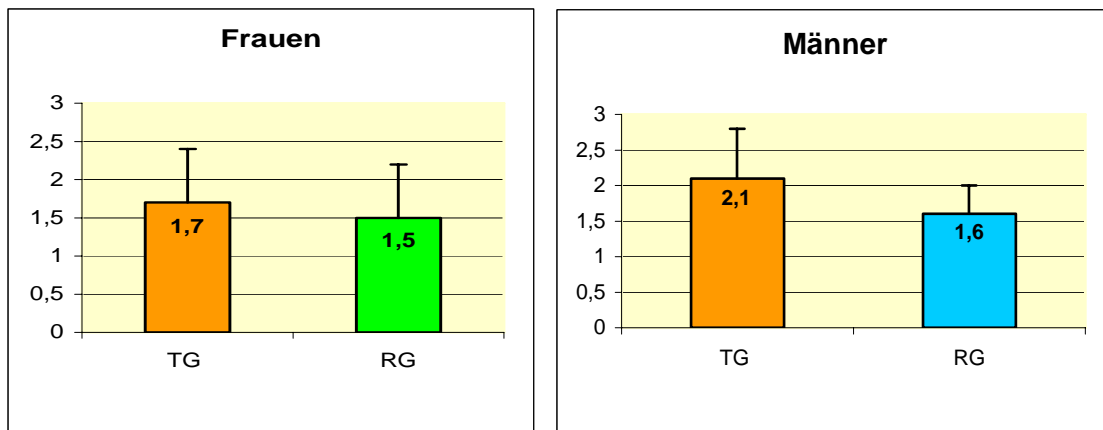


Abb. 8-4: Mittelwerte der Vitamin A - Aufnahme in mgRÄ/d. Vergleich zwischen Parodontitispatienten und Referenzgruppe, differenziert nach dem Geschlecht.

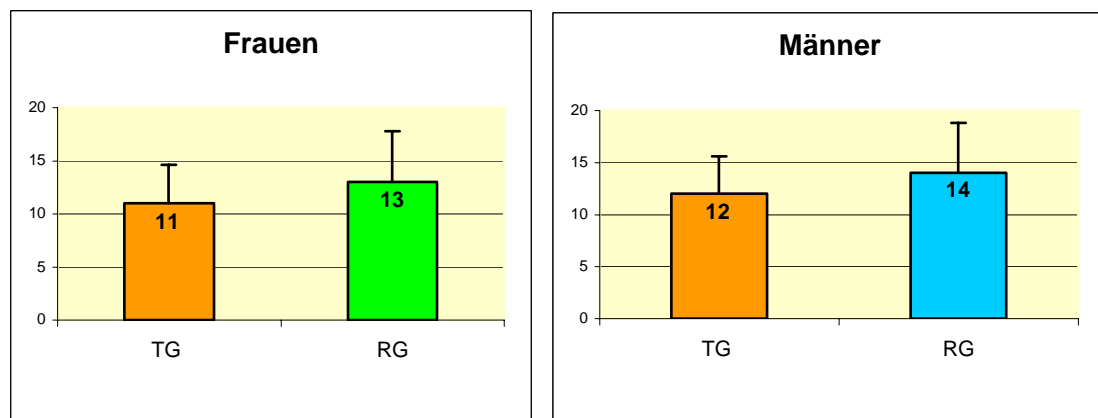


Abb. 8-5: Mittelwerte der Vitamin E - Aufnahme in mgTÄ/d. Vergleich zwischen Parodontitispatienten und Referenzgruppe, differenziert nach dem Geschlecht.

Wasserlösliche Vitamine

Von der Gruppe der wasserlöslichen Vitamine wurde die Aufnahme an Thiamin (B₁), Riboflavin (B₂), Pyridoxin (B₆), Cobalamin (B₁₂), Folsäure und Vitamin C erfasst.

Für Vitamin B₁ konnte eine signifikant geringere Aufnahme bei den weiblichen Parodontitispatienten beobachtet werden (Abb. 8-6). Während die Probandinnen der Parodontitisgruppe 1,2 mg/d aufnahmen, erreichten die Teilnehmerinnen der Referenzgruppe einen mittleren Wert von 1,4 mg/d ($p < 0,05$). Die Thiaminaufnahme der Männer unterschied sich zwischen den Gruppen nicht signifikant.

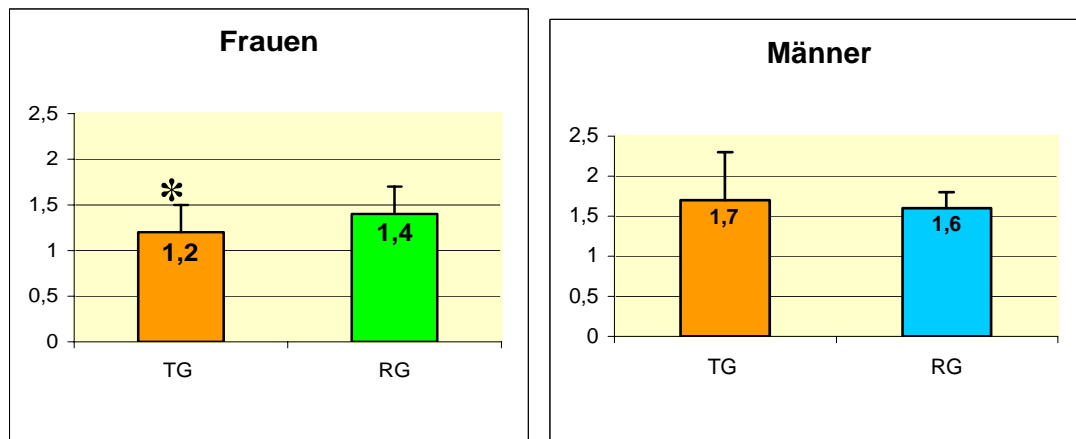


Abb. 8-6: Mittelwerte der Vitamin B₁ - Aufnahme in mg/d. Vergleich zwischen Parodontitispatienten und Referenzgruppe, differenziert nach dem Geschlecht. * $p=0,045$ (U-Test)

Die mittleren Gruppenwerte der Vitamine B₂, B₆ und B₁₂ sind in Tabelle 8-3 dargestellt. Die Ernährungsanalyse ergab keine signifikanten Unterschiede in der täglichen Aufnahme an Vitamin B₂, B₆ und B₁₂ zwischen den Parodontitispatienten und der gesunden Referenzgruppe. Bei den Frauen der Parodontitisgruppe zeigte sich jedoch tendenziell eine geringere Aufnahme für die Vitamine B₂ und B₆ (1,4 mgB₂/d; 1,6 mgB₆/d) im Vergleich zu den Probandinnen der Referenzgruppe mit 1,6 mgB₂/d ($p=0,116$) und 1,9 mgB₆/d ($p=0,092$). Bei den männlichen Studienteilnehmern konnte eine höhere Vitamin B₁₂-Zufuhr bei den Parodontitispatienten (10,2 µg/d) im Vergleich zur Referenzgruppe mit 6,8 µg/d ermittelt werden ($p=0,624$).

Tab. 8-3: Mittelwerte der Vitamin B₂-, Vitamin B₆- und Vitamin B₁₂-Aufnahme, differenziert nach dem Geschlecht.

Gruppe	B ₂ (mg/d)		B ₆ (mg/d)		B ₁₂ (µg/d)	
	m	w	m	w	m	w
Testgruppe (Parodontitis)	1,9±0,6	1,4±0,5	2,2±0,6	1,6±0,5	10,2±7,0	5,6±3,4
Referenzgruppe (gesund)	1,9±0,4	1,6±0,4	2,2±0,4	1,9±0,5	6,8±1,7	5,5±2,3
Signifikanz (p)	0,633	0,116	0,849	0,092	0,894	0,624

Für Vitamin C konnte bei den Parodontitispatienten eine deutlich geringere Aufnahme, sowohl bei den Frauen, als auch bei den Männern im Vergleich zur gesunden Referenzgruppe beobachtet werden (Abb. 8-7). Im Einzelnen ergab die Ernährungsanalyse bei den Patientinnen der Parodontitisgruppe eine tägliche Vitamin C-Zufuhr von 137 mg, während die Teilnehmerinnen der Referenzgruppe mit 225 mg Vitamin C pro Tag eine größere Menge aufnahmen ($p < 0,01$). Die Männer der Parodontitisgruppe zeigten eine mittlere Vitamin C-Aufnahme von 165 mg/d, die im Vergleich zur Referenzgruppe (251 mg/d) ebenfalls signifikant geringer war ($p < 0,05$).

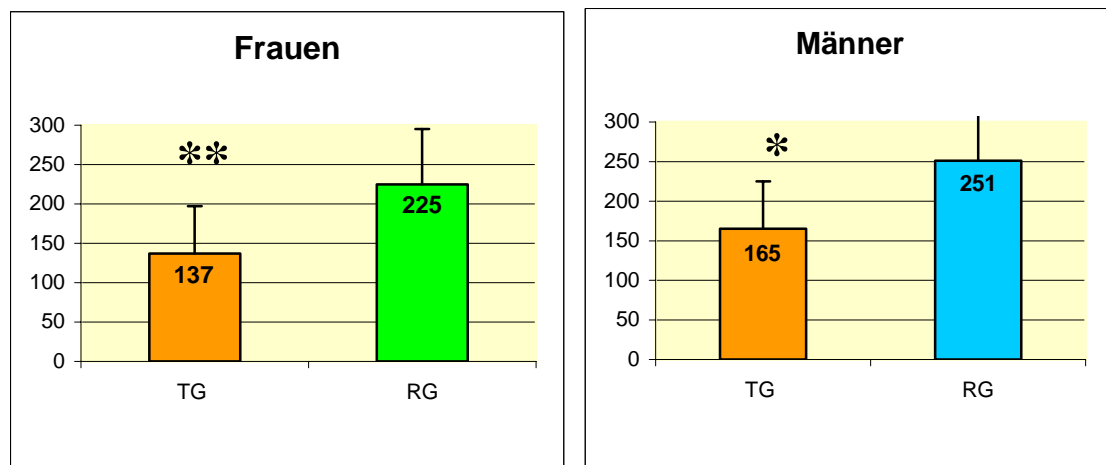


Abb. 8-7: Mittelwerte der Vitamin C - Aufnahme in mg/d. Vergleich zwischen Parodontitispatienten und Referenzgruppe, differenziert nach dem Geschlecht. * $p=0,046$; ** $p=0,003$ (U-Test)

Anhand des 7-Tage-Ernährungsprotokolls konnte bei den weiblichen Parodontitispatienten eine signifikant geringere Folsäureaufnahme im Vergleich zu den Frauen der gesunden Referenzgruppe nachgewiesen werden (Abb. 8-8). Dabei nahmen die Patientinnen im Mittel täglich 200 μg Folsäure auf, während die Teilnehmerinnen der Referenzgruppe auf einen höheren Wert von 251 $\mu\text{g}/\text{d}$ kamen ($p < 0,05$). Die an Parodontitis erkrankten Männer zeigten mit 232 $\mu\text{g}/\text{d}$ ebenfalls eine geringere Folsäureaufnahme als die Referenzgruppe (267 $\mu\text{g}/\text{d}$). In diesem Fall war der Unterschied jedoch statistisch nicht signifikant ($p=0,143$).

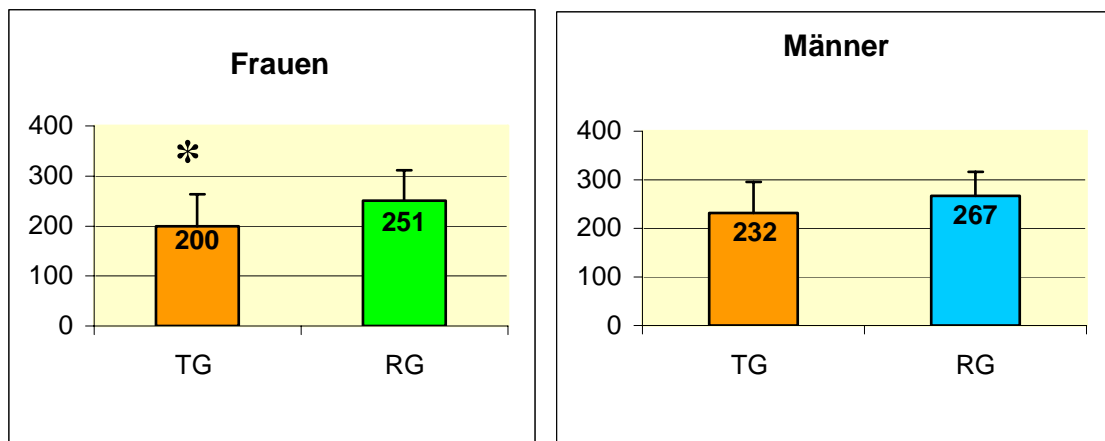


Abb. 8-8: Mittelwerte der Folsäure - Aufnahme in µg/d. Vergleich zwischen Parodontitispatienten und Referenzgruppe, differenziert nach dem Geschlecht. * $p=0,044$ (U-Test)

Mineralstoffe und Spurenelemente

In Tabelle 8-4 ist die mittlere, tägliche Aufnahme für Kalzium, Eisen und Zink dargestellt. Die Ergebnisse zeigen, dass die durchschnittliche Kalziumaufnahme der parodontal erkrankten Testgruppe unter den Werten der Referenzgruppe liegt. Für die männlichen Studienteilnehmer konnte dabei ein signifikanter Unterschied gesichert werden. Während die Patienten 0,792 gCa/d aufnahmen, erreichten die Männer der Referenzgruppe 1,050 gCa/d ($p<0,05$). Für die weiblichen Studienteilnehmer konnte dieser Unterschied statistisch nicht gesichert werden, jedoch nahmen die Patientinnen mit 0,790 gCa/d ebenfalls geringere Mengen als die Probandinnen der Referenzgruppe mit 0,855 gCa/d auf ($p=0,406$).

Die Analyse der Eisenaufnahme ergab bei den Parodontitispatienten geringere Werte im Vergleich zur gesunden Referenzgruppe. Der Unterschied war jedoch nur bei den weiblichen Studienteilnehmern statistisch signifikant. Mit durchschnittlich 11,82 mg Fe/d lagen die Werte der Patientinnen unter denen der Referenzgruppe mit 14,4 mgFe/d ($p<0,05$). Die Daten der Männer zeigten nur einen geringen Unterschied von 0,7 mg, der statistisch nicht gesichert werden konnte ($p=0,750$).

Die Unterschiede in der mittleren, täglichen Zinkaufnahme zwischen den Parodontitispatienten und den gesunden Probanden waren statistisch nicht signifikant. Jedoch lagen sowohl bei den Frauen, als auch bei den Männern die Werte für die Zinkzufuhr unter dem Niveau der gesunden Referenzgruppe.

Tab. 8-4: Mittelwerte der Kalzium- (Ca), Eisen- (Fe) und Zink (Zn) –Aufnahme, differenziert nach dem Geschlecht.

Gruppe	Ca (g/d)		Fe (mg/d)		Zn (mg/d)	
	m	w	m	w	m	w
Testgruppe (Parodontitis)	0,8±0,3	0,8±0,3	14±3,8	12±3,2	13±3,4	10±2,4
Referenzgruppe (gesund)	1,1±0,3	0,9±0,3	15±2,1	14±3,7	14±2,5	12±2,9
Signifikanz (p)	0,049	0,406	0,750	0,036	0,750	0,176

Bei der Magnesiumzufuhr zeigten die Parodontitispatienten geringere Werte, als die Teilnehmer der gesunden Referenzgruppe, wobei der Unterschied nur für die Frauen statistisch signifikant war (Abb. 8-9). Mit einer mittleren Aufnahme von 291 mgMg/d lagen die Werte der Patientinnen deutlich unter denen der Referenzgruppe mit 353 mg Mg/d ($p < 0,05$). Die an Parodontitis erkrankten Männer nahmen mit 350 mgMg/d ebenfalls geringere Mengen als die Referenzgruppe (393 mgMg/d) auf ($p = 0,065$).

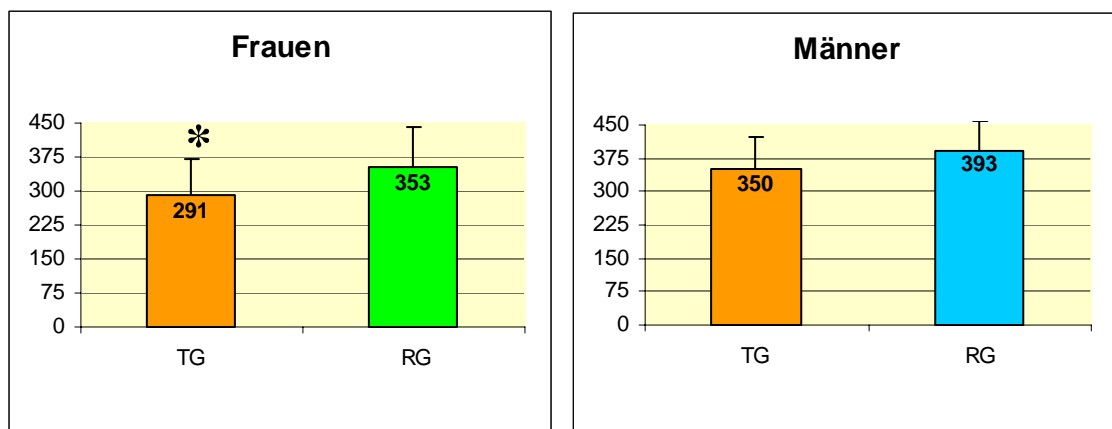


Abb. 8-9: Mittelwerte der Magnesium - Aufnahme in mg/d. Vergleich zwischen Parodontitispatienten und Referenzgruppe, differenziert nach dem Geschlecht. * $p = 0,017$ (U-Test)

Für jeden Studienteilnehmer wurde zur differenzierteren Analyse der Ernährungsgewohnheiten der individuelle Obst- und Gemüseverzehr aus den Daten der 7-Tage Ernährungsprotokolle berechnet. Die Gruppenmittelwerte sind in Tabelle 8-5 dargestellt.

Dabei zeigte sich, dass die Parodontitispatienten, sowohl Männer als auch Frauen, im Durchschnitt täglich weniger Frischobst verzehrten, als die gesunde Referenzgruppe ($p < 0,05$). Die Parodontitispatientinnen kamen auf einen täglichen Frischobstkonsum von 203 g, während die Teilnehmerinnen der Referenzgruppe im Durchschnitt 293 g/d verzehrten ($p = 0,036$). Die Männer der Parodontitisgruppe konsumierten eine mittlere Frischobstmenge von 231 g pro Tag, wobei der Wert ebenfalls signifikant unter dem der Referenzgruppe (335 g/d) lag ($p = 0,048$).

Zusätzlich wurde der prozentuale Anteil einzelner Obstsorten für die jeweilige Gruppe berechnet. Dabei ergaben sich deutliche Unterschiede in der Auswahl der Obstsorten (Abb. 8-10). Der Apfel war in beiden Gruppen die am meisten verzehrte Frucht. In der Parodontitisgruppe folgte dann mit 23,6% die Banane und mit 13,5% die Weintrauben. Im Gegensatz dazu wurden in der Kontrollgruppe häufiger Apfelsinen (18,2%) und Kiwis (12,7%) ausgewählt. Auffällig war auch der in der Referenzgruppe höhere Verzehr von Grapefruit, der gemessen an den anderen Obstsorten einen prozentualen Anteil von 11,7% einnahm. Die Parodontitisgruppe zeigte nur einen geringen Verzehr von Grapefruit, der ausschließlich in der Kategorie „Sonstige Obstsorten“ (6,9%) erfassbar war.

Die Analyse des Gemüseverzehr ergab bei den Parodontitispatienten im Vergleich zur gesunden Referenzgruppe ebenfalls geringere Mengen, jedoch konnte dieser Unterschied statistisch nicht gesichert werden (Tab. 8-5).

Tab. 8-5: Mittelwerte der Obst- und Gemüse-Aufnahme in g/d, differenziert nach dem Geschlecht.

Gruppe	Obst (g/d)		Gemüse (g/d)	
	m	w	m	w
Testgruppe (Parodontitis)	231±109	203±101	174±87	191±122
Referenzgruppe (gesund)	353±184	293±81	190±145	237±141
Signifikanz (p)	0,048	0,036	0,633	0,125

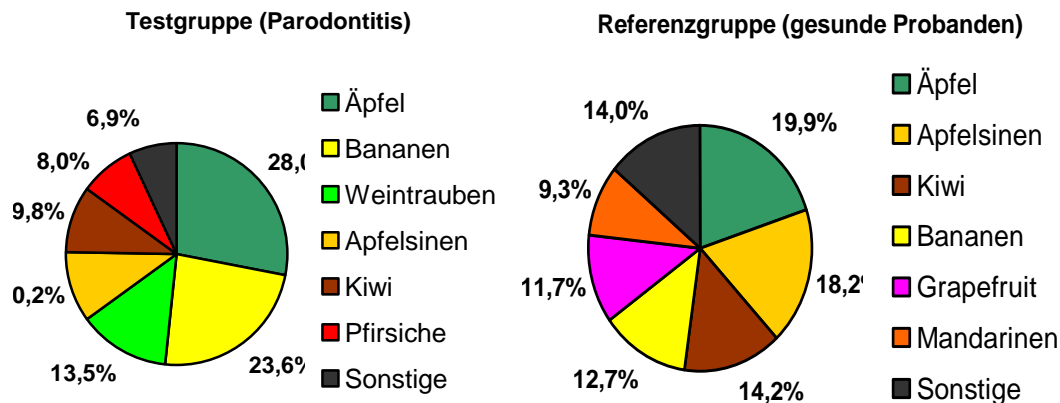


Abb. 8-10: Prozentualer Anteil verschiedener Obstsorten im Frischobstverzehr der Testgruppe und der Referenzgruppe.

8.4 Vitamin C – Plasmaspiegel

Die Bestimmung des Vitamin C – Status durch eine Analyse des Blutplasmas ergab bei den Parodontitispatienten mit durchschnittlich 0,63 mg/dl signifikant niedrigere Ascorbinsäurespiegel, als bei den Probanden der Referenzgruppe mit 1,13 mg/dl (Abb. 8-12). Die Abbildung 8-11 zeigt die prozentualen Anteile der einzelnen Klassifizierungsbereiche in der Patientenpopulation. Dabei konnten bei 59,8% der Parodontitispatienten Plasmawerte zwischen 0,2 – 0,64 mg/dl gemessen werden, die eine mangelhafte Vitamin C-Versorgung anzeigen. Unter den Patienten waren außerdem 16% mit 0,65-0,8 mg/dl normal versorgt und 23,9% wiesen eine optimale Vitamin C-Versorgung mit Plasmawerten über 0,8 mg/dl auf. In der gesunden Referenzgruppe konnten bei allen Teilnehmern Werte über 0,8 mg/dl gemessen werden, d. h. die gesunden Probanden waren optimal mit Vitamin C versorgt.

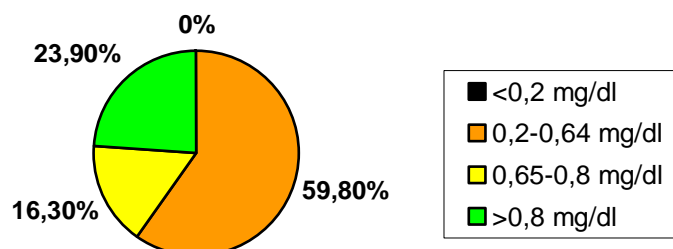
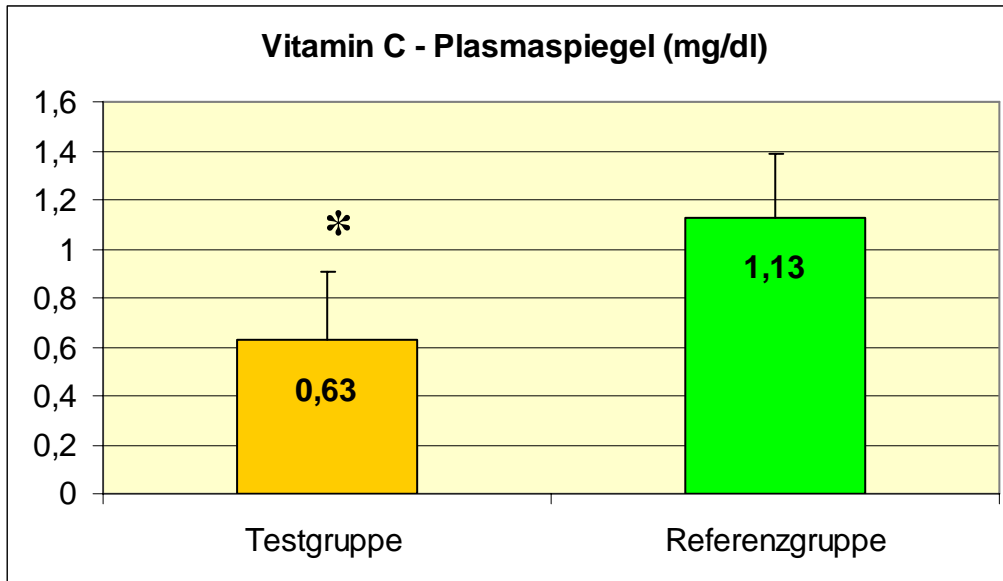


Abb. 8-11: Prozentuale Anteile der Parodontitispatienten in den entsprechenden Klassifizierungsbereichen für die Vitamin C-Versorgung.



*Abb. 8-12: Mittelwerte der Vitamin C – Plasmaspiegel in mg/dl. Vergleich zwischen Parodontitispatienten und Referenzgruppe. * $p < 0,001$ (U-Test)*

9 Diskussion

9.1 Zusammenhänge zwischen Körpergewicht und Parodontitisrisiko

Zur Ermittlung der Körpermasse wurde in der vorliegenden Studie der Body Mass Index (BMI) verwendet. Dieser Index korreliert gut mit dem Gesamtkörperfett und kann ohne großen Aufwand aus Körpergröße und –gewicht berechnet werden. Er eignet sich als Indikator zur Einschätzung des Körperfettanteils.

Das Körpergewicht und die Körpergröße der Studienteilnehmer wurden anhand eines Fragebogens erfasst. Aus diesen Daten konnte dann der BMI berechnet werden. Grundsätzlich zeigten sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppenmittelwerten des BMI bei Parodontitispatienten und der gesunden Referenzgruppe. Die differenzierte Betrachtung der BMI-Klassifizierungsbereiche ergab jedoch in der Parodontitisgruppe einen höheren prozentualen Anteil an adipösen Personen (BMI > 30).

Aktuelle Studien gehen davon aus, dass eine ausgeprägte Fettleibigkeit, besonders im jungen Erwachsenenalter, ein begünstigender Faktor für die Entstehung der Parodontitis ist [AL-ZAHRANI et al. 2003, WOOD et al. 2003]. AL-ZAHRANI et al. (2003) nutzten die Daten der „Third National Health and Nutrition Survey“ (NHANES III). Als Indikatoren für den Grad der Fettleibigkeit dienten der BMI und der Taillenumfang. Insgesamt wurden Daten von 13. 665 Personen ausgewertet. Dabei konnte die Fettleibigkeit (BMI > 30) als signifikanter Risikofaktor für die Entstehung der Parodontitis bei Studienteilnehmern zwischen 18 und 34 Jahren ermittelt werden.

WOOD et al. (2003) nutzten ebenfalls die Daten der III. NAHNES, führten aber zusätzlich eine Messung der Körperzusammensetzung mit Hilfe der Bioimpedanzanalyse (BIA) durch, die u. a. Auskunft über den Fettanteil im Körper gibt. Außerdem berücksichtigten sie das Fettverteilungsmuster, welches durch die „Waist-to-Hip Ratio“ (WHR) ermittelt wurde. Dabei konnten sie anhand der WHR zeigen, dass eine vorwiegend abdominelle Fetteinlagerung stärker mit dem Parodontitisrisiko korreliert, als eine subkutane Fettansammlung in den Beinen und im Hüftbereich.

9. 2 Nährstoffversorgung bei Parodontitispatienten

Zur Erfassung der Nährstoffversorgung bei Parodontitispatienten wurde in der vorliegenden Studie ein standardisiertes 7-Tage Ernährungsprotokoll verwendet, das den Verbrauch bzw. den individuellen Verzehr einzelner Nahrungsmittel dokumentierte. Außerdem erfolgte der Vergleich mit den Daten einer gesunden Referenzgruppe.

Im Gegensatz zu retrospektiven Methoden, wie die „Diet History“ oder die „Food Frequency“, ermöglicht das Ernährungsprotokoll die zeitgleiche Dokumentation der Nahrungsaufnahme. Informationsverluste durch Erinnerungslücken können dabei nahezu ausgeschlossen werden. Der Protokollierungszeitraum von 7 Tagen ermöglichte außerdem eine repräsentative Erfassung der Ernährungsgewohnheiten, da sowohl Wochentage, als auch das Wochenende einbezogen waren.

Die Auswertung der Ernährungsprotokolle ergab bei den Parodontitispatienten eine geringere Energieaufnahme im Vergleich zur gesunden Referenzgruppe, jedoch ohne statistische Signifikanz. Die *Deutsche Gesellschaft für Ernährung* (DGE) empfiehlt für 25-51-jährige Männer 2900 kcal und für Frauen 2300 kcal pro Tag. Energiemengen in dieser Größenordnung wurden weder von den Parodontitispatienten, noch von der gesunden Referenzgruppe erreicht. Die Ursache dafür könnte einerseits in einer möglichen Unterprotokollierung liegen oder sich andererseits aus einem individuell geringeren Energiebedarf ergeben. Die Empfehlungen der DGE für die Nährstoffzufuhr sind nur als Richtwerte anzusehen, da sie vom tatsächlichen individuellen Bedarf erheblich abweichen können. Wichtige Einflussgrößen, die den Nährstoffbedarf bestimmen, sind das Alter, das Geschlecht, die Körpergröße, das Körpergewicht und der tägliche Energieverbrauch durch körperliche Bewegung.

Im Ernährungsbericht der DGE aus dem Jahr 2000 wird bemängelt, dass die Kohlenhydrat- und die Ballaststoffaufnahme in Deutschland generell zu gering sind. Die DGE empfiehlt, dass 55-60% der Gesamtenergieaufnahme über komplexe Kohlenhydrate (Stärke, Ballaststoffe) gedeckt werden sollte. In der vorliegenden Studie wird diese Empfehlung weder von den gesunden Probanden, noch von den Patienten mit Parodontitis erreicht, wobei die KH-Zufuhr in der Parodontitisgruppe in Relation zur Energieaufnahme generell geringer ausfällt. Die differenzierte Betrachtung der Ballaststoffaufnahme zeigte eine signifikant geringere Zufuhr bei den Parodontitispatienten.

Unter Berücksichtigung der Symptomatik während einer Parodontiserkrankung, insbesondere bei der aggressiven Verlaufsform, könnte es sein, dass durch die

Entzündung am Zahnfleisch und die erhöhte Beweglichkeit einzelner Zähne feste, körnige, faserreiche und kauintensive Nahrungsmittel nicht oder nur eingeschränkt verzehrt werden können. Besonders Vollkornprodukte und rohes Gemüse, als wichtige Ballaststofflieferanten, könnten dadurch nur einen geringen Anteil in der Ernährung von haben. Diese Tatsache könnte die deutlich geringere Aufnahme von Ballaststoffen in der Parodontitisgruppe erklären.

Weiterhin zeigen die Ergebnisse eine etwas höhere Fettzufuhr bei den Parodontitispatienten im Vergleich zur gesunden Referenzgruppe. Die Fettzufuhr über die tägliche Ernährung sollte nach den DGE Empfehlungen nicht mehr als 30% der Gesamtenergieaufnahme ausmachen. Zur Vermeidung von Herz-Kreislauf-Erkrankungen oder Übergewicht wird eher eine geringere Fettzufuhr (20-25 E%) mit Schwerpunkt auf ungesättigte Fettsäuren aus pflanzlichen Fetten und Fischölen empfohlen. Als Maximalwerte für die Fettaufnahme gibt die DGE für Personen im Alter von 25-51 Jahren 97 g/d für Männer und 77 g/d für Frauen an. Die Fettaufnahme der Studienteilnehmer, sowohl in der Parodontitisgruppe, als auch in der Referenzgruppe, lag in der vorliegenden Untersuchung unter diesen Werten.

Für die Proteinzufuhr zeigten die Ergebnisse dieser Studie keine signifikanten Unterschiede zwischen den Parodontitispatienten und der Referenzgruppe. Nach den Empfehlungen der DGE sollte die tägliche Proteinzufuhr einen Anteil von 10-15% in der Gesamtenergieaufnahme einnehmen. Diese Empfehlung ergibt sich aus dem durchschnittlichen täglichen Proteinbedarf als Mindestmenge zur Erhaltung einer ausgeglichenen Stickstoffbilanz. Bei den männlichen Parodontitispatienten nahmen die Proteine in Relation zur Gesamtenergieaufnahme einen Anteil von ca. 17% ein, während die Männer der gesunden Referenzgruppe ca. 15% erreichten. Bei den Studienteilnehmerinnen, sowohl aus der Testgruppe, als auch aus der Referenzgruppe hatten die Proteine einen Anteil von ca. 16% an der Gesamtenergieaufnahme.

Im Ernährungsbericht der DGE (2000) wird darauf hingewiesen, dass die Proteinzufuhr in Deutschland grundsätzlich zu hoch sei und den Proteinbedarf bei weitem übersteige. Bezüglich der Energiebereitstellung spielen Eiweiße eine eher untergeordnete Rolle. Jedoch erfüllen die Aminosäuren, als Grundbausteine der Proteine, wichtige Funktionen bei biochemischen Prozessen, die insbesondere im Rahmen der immunologischen Abwehrreaktionen von Bedeutung sind. Dies zeigt sich in den Auswirkungen einer Infektionserkrankung auf den Proteinmetabolismus, die durch eine katabole Stoff-

wechsellage während akuter Infektionskrankheiten deutlich wird [POWANDA & BEISEL 2003].

Die Parodontitis, als infektiös-entzündliche Erkrankung, ist ebenfalls ein Zustand, der durch eine dauernde immunologische Abwehrleistung und ständige gewebliche Regenerationsprozesse gekennzeichnet ist. Daraus ergibt sich für den Organismus auch ein erhöhter Bedarf an funktionellen Proteinen. HENSKENS et al. (1996) konnten bei Parodontitispatienten eine erhöhte Synthese von Speichelproteinen (IgA, Amylase, Albumin) im Vergleich zu gesunden Probanden beobachten. Diese Betrachtungen deuten darauf hin, dass eine bestehende Parodontiserkrankung möglicherweise einen erhöhten Proteinumsatz bedingt, der durch die Ernährung kompensiert werden muss. Die höhere Proteinaufnahme der männlichen Parodontitispatienten im Vergleich zur gesunden Referenzgruppe könnte daher unter diesem Gesichtspunkt durchaus sinnvoll sein. Untersuchungen der Gesamtkörper-Stickstoffbilanz liegen für Parodontitispatienten derzeit jedoch nicht vor.

Die Analyse der Vitaminzufuhr ergab bei den fettlöslichen Vitaminen, sowohl für die Parodontisgruppe, als auch für die Referenzgruppe eine Vitamin A Aufnahme, die die Empfehlungen der DGE (0,8-1,0 mgRÄ/d) übersteigt. Vitamin A reichert sich als fettlösliche Verbindung in der Leber an, so dass die Gefahr einer Hypervitaminose gegeben ist. Es wird angenommen, dass beim Erwachsenen ab einer Vitamin A Aufnahme von 33,3 mgRÄ/d (100 000 IE/d) die Gefahr einer chronischen Hypervitaminose A besteht [BIESALSKI 1999]. Die Werte der Studienteilnehmer lagen allerdings weit unter diesem Wert. Die Patienten mit Parodontitis überstiegen die Empfehlungen im Durchschnitt um 1,1 mgRÄ/d (Männer) bzw. 0,9 mgRÄ/d (Frauen).

In jüngster Zeit wird eine exzessive Vitamin A Aufnahme mit der Entstehung von Osteoporose in Verbindung gebracht. Dabei konnte In-vitro und In-vivo eine gesteigerte Knochenresorption und eine verminderte Knochenneubildung beobachtet werden, was letztlich zu einer Verminderung der Knochendichte führte [JOHANSSON et al. 2002, BARKER & BLUMSOHN 2003]. Da die Parodontitis ebenfalls durch Abbauvorgänge am Alveolarknochen gekennzeichnet ist, werden auch hier Zusammenhänge zu einer überhöhten Vitamin A Aufnahme vermutet. In einer aktuellen Pilotstudie von DÖRFER et al. (2004) konnte ein höheres Parodontitisrisiko bei einer jährlichen Vitamin A Aufnahme von über 5 g (entspricht durchschnittlich 13,7 mgRÄ/d) im Vergleich zu einer jährlichen Aufnahme von 0-1 g beobachtet werden.

In der vorliegenden Studie lag die höchste Vitamin A Aufnahme bei einem Parodontitispatienten bei 7,8 mgRÄ/d. Der Vergleich zwischen Test- und Referenzgruppe zeigte bei den Parodontitispatienten im Durchschnitt höhere Mengen an Vitamin A in der täglichen Ernährung, jedoch ohne statistische Signifikanz.

Die mittlere Vitamin E Aufnahme pro Tag zeigte keine signifikanten Unterschiede zwischen den Parodontitispatienten und der gesunden Referenzgruppe. Die Empfehlung der DGE für eine tägliche Aufnahme von 15 mgTÄ für Männer und 12 mgTÄ für Frauen wurde jedoch nur von den weiblichen Studienteilnehmern der Referenzgruppe erreicht. Der Wert der Männer mit Parodontitis lag bei 12 mgTÄ/d und fiel damit im Vergleich zur Referenzgruppe (14 mgTÄ/d) etwas geringer aus.

Humanstudien über die Zusammenhänge zwischen Vitamin E und der parodontalen Gesundheit liegen derzeit nicht vor. Auf Grund von Untersuchungen an Tieren kann jedoch davon ausgegangen werden, dass ein Vitamin E Mangel die Entstehung einer Parodontitis wahrscheinlich nicht begünstigt [PARRISH et al. 1977]. Allerdings konnten in einer anderen Tierstudie unter oraler Supplementierung von D- α -Tocopherylacetat bessere Heilungserfolge bei einer experimentell induzierten Gingivitis erzielt werden [KIM & SHKLAR 1983]. In einer Humanstudie brachte jedoch die lokale Applikation eines Vitamin E haltigen Gels keine Vorteile bei der parodontalen Therapie [COHEN et al. 1991].

Die Analyse der wasserlöslichen Vitamine des B-Komplexes, insbesondere Vitamin B₁, B₂, B₆ und B₁₂, ergab keine signifikanten Unterschiede zwischen der Parodontitis- und der Referenzgruppe. Lediglich bei den Frauen der Parodontitisgruppe konnte eine signifikant geringere Thiamin (B₁) Aufnahme im Vergleich zur Referenzgruppe beobachtet werden.

Die B-Vitamine scheinen auf Grund ihrer funktionellen Eigenschaften auch für das orale System von Bedeutung zu sein, denn epidemiologische und experimentelle Studien zeigen, dass unter Vitamin B Mangel ein Verlust der Integrität der oralen Mukosa auftritt. In der Folge können Entzündungen der Mundschleimhaut, Stomatitis, Glossitis und Cheilitis auftreten [ROE 1991, FIELD et al. 1995].

Eine weitaus bedeutendere Rolle für die orale Gesundheit scheint Vitamin C zu spielen, denn im Falle eines Mangels treten entzündliche Symptome an der Gingiva und dem Parodontium auf. Die Ergebnisse der vorliegenden Studie bestätigen aktuelle Untersuchungen, nach denen eine verminderte Vitamin C Versorgung mit einem erhöhten Parodontitisrisiko einhergeht [VAANANEN et al. 1993, NISHIDA et al. 2000,

PUSSINEN et al. 2003, AMARASENA et al. 2005]. Sowohl bei den Frauen, als auch bei den Männern wiesen die Parodontitispatienten eine signifikant geringere Vitamin C Aufnahme als die gesunde Referenzgruppe auf. Dabei korrelierte die Vitamin C Aufnahme mit einem ebenfalls geringeren Ascorbatplasmaspiegel bei den Parodontitispatienten.

VAANANEN et al. (1993) erfassten den Verzehr Vitamin C haltiger Nahrungsmittel und beobachteten einen Zusammenhang zwischen dem Parodontitisrisiko und der Vitamin C Aufnahme, die jedoch im Vergleich zu den Werten der vorliegenden Studie geringer ausfiel. Das ist möglicherweise auf die Verwendung einer „Diet History“ als Erfassungsmethode für die Nahrungsaufnahme zurückzuführen, die häufig mit Datenverlusten durch Erinnerungslücken verbunden ist.

In der vorliegenden Studie wurde außerdem bei jedem Probanden der Vitamin C Status durch die Messung des Ascorbatplasmaspiegels bestimmt. Dabei wiesen die Parodontitispatienten im Gegensatz zur Referenzgruppe signifikant geringere Ascorbatplasmaspiegel auf. Obwohl die Empfehlung der DGE für eine Vitamin C Aufnahme von 100 mg pro Tag im Durchschnitt in beiden Untersuchungsgruppen erreicht bzw. überstiegen wurde, zeigten die Parodontitispatienten teilweise Werte unter dem Normalniveau ($< 0,65$ mg/dl). Ein Erklärungsansatz für diese Tatsache könnte der infektiöse Charakter der Parodontitiserkrankung sein, denn durch die Infektion mit pathogenen Bakterien werden entzündliche und immunologische Reaktionen induziert. Vitamin C wiederum erfüllt nachweislich wichtige Funktionen bei der Abwehrreaktion bzw. der Resistenz gegenüber bakteriellen Infektionen. Beispielsweise ist es ein funktioneller Faktor bei der Phagozytose und während der Geweberegeneration [JACOB & SOTOUDEH 2002]. Deshalb kann es durch Infektionskrankheiten zu einem drastischen Abfall der Vitamin C Konzentration in den Leukozyten und im Blutplasma kommen [WILSON 1975]. Eine Parodontitiserkrankung, insbesondere mit chronischem Verlauf könnte durch die permanente Immunreaktion ebenfalls durch einen erhöhten Vitamin C Verbrauch gekennzeichnet sein. Die in dieser Studie unter dem Normalbereich liegenden Ascorbatspiegel der Parodontitispatienten bestätigen diese Annahme.

PUSSINEN et al. (2003) konnten Assoziationen zwischen den Antikörpertitern gegen parodontopathogene Bakterien, insbesondere *P. gingivalis*, und geringen Ascorbatplasmaspiegeln nachweisen. Die Plasmawerte lagen dabei bei 0,14 und 0,45 mg/dl und waren niedriger als die der vorliegenden Studie. Jedoch war die Studienpopulation aus russischen und finnischen Männern zusammengesetzt, die einen hohen Alkohol- und

Zigarettenkonsum aufwiesen, so dass ein Vergleich mit den vorliegenden Ergebnissen nicht möglich ist, da beide Faktoren nachweislich den Vitamin C Plasmaspiegel negativ beeinflussen. VAANANEN et al. (1993) beobachteten insbesondere bei Rauchern geringere Vitamin C Plasmaspiegel, die positiv mit der Schwere der Parodontitis-erkrankung korrelierten. Der Anteil der Raucher war in unserer Studienpopulation gering und betrug in der Testgruppe 26% (11 von 42 Personen) und in der Referenzgruppe 21% (8 von 38 Personen). Der Alkoholkonsum unterschied sich nicht signifikant zwischen beiden Gruppen. Die Parodontitispatienten konsumierten im Durchschnitt 10,8 g Alk/d, während die gesunden Teilnehmer eine Alkoholzufuhr von 9,0 g/d zeigten ($p=0,461$).

In einer aktuellen Studie von AMARASENA et al. (2005) konnte bei Senioren (Alter: über 70 Jahre) eine Assoziation zwischen dem Vitamin C Serumspiegel und dem parodontalen Destruktionsprozess nachgewiesen werden. Dabei korrelierten niedrigere Ascorbatserumkonzentrationen signifikant mit einem höheren Attachmentverlust (CAL).

Die biologischen Systeme bzw. die Mechanismen, über die Vitamin C in die parodontale Gesundheit eingreift, sind im Einzelnen noch nicht vollständig bekannt. Jedoch können bereits zwei Bereiche benannt werden, die nachweislich eine wichtige Rolle spielen. Erstens die Kollagensynthese, bei der Vitamin C als Cofaktor eine Schlüsselfunktion übernimmt und die für die Geweberegeneration von entscheidender Bedeutung ist. Zweitens das antioxidative Schutzsystem, speziell in polymorphkernigen Granulozyten, wo Vitamin C die Chemotaxis und die Phagozytose beeinflusst und damit insgesamt eine Rolle bei der immunologischen Abwehrfunktion spielt.

Als weiteres wasserlösliches Vitamin wurde in der vorliegenden Studie die Folsäureaufnahme erfasst, denn dieses Vitamin scheint für die parodontale Gesundheit ebenfalls von Bedeutung zu sein, wie frühere Studien zeigen [PINDBORG 1943, PACK & THOMSON 1980, THOMSON & PACK 1982, PACK 1984]. Dabei konnte durch die Gabe von Folsäure insbesondere in der Schwangerschaft die Entstehung der „Schwangerschaftsgingivitis“ vermieden werden [THOMSON & PACK 1982]. Es ist bekannt, dass Folsäure für die Synthese von Purinen, Pyrimidinen und Desoxyribonukleinsäure notwendig ist, so dass eine Unterversorgung indirekt die Integrität von sich schnell erneuernden Geweben, wie z. B. auch des gingivalen Gewebes, negativ beeinflusst. In der vorliegenden Studie ergab die Auswertung, dass Parodontitispatienten eine geringere tägliche Aufnahme an Folsäure aufweisen, als die gesunde

Referenzgruppe. Besonders bei den Frauen war dieser Unterschied deutlich und auch statistisch signifikant. Die Folsäureversorgung wird in Deutschland generell als kritisch angesehen, denn die Empfehlungen der DGE von 400 µg/d werden in der Bevölkerung nur selten erreicht. Auch bei dieser Untersuchung blieben die Mittelwerte beider Gruppen unter 300 µg/d.

Neben der Vitaminversorgung konnte durch die Analyse der Ernährungsprotokolle auch die Versorgung mit Mineralstoffen und Spurenelementen erfasst werden. Dabei zeigte sich eine geringere Kalziumaufnahme in der Parodontitisgruppe im Vergleich zur Referenzgruppe, wobei sich für die männlichen Patienten ein statistisch signifikanter Unterschied ergab. Die Empfehlung der DGE einer täglichen Kalziumzufuhr von 1000 mg wurde nur von den Männern der gesunden Referenzgruppe erreicht.

NISHIDA et al. (2000) ermittelten durch die Auswertung der Daten der NAHNES III, dass eine niedrige Ca-Aufnahme mit einem erhöhten Parodontitisrisiko einhergeht. Diese Risikoerhöhung konnte bei einer täglichen Kalziumaufnahme von <500 mg nachgewiesen werden. Die Mittelwerte für die Kalziumaufnahme liegen in der vorliegenden Studie mit 800 mg/d in der Parodontitisgruppe über diesem Wert.

Außerdem konnten von den genannten Autoren Zusammenhänge zwischen niedrigen Ca-Serumkonzentrationen und dem Auftreten von Parodontitis bei Frauen im Alter von 20 bis 39 Jahren beobachtet werden [NISHIDA et al. 2000]. In einer früheren Studie von MEYLE et al. (1987) zeigte sich im Gegensatz dazu kein signifikanter Unterschied zwischen den Ca- Serumspiegeln von gesunden und an Parodontitis erkrankten Personen. Allerdings wurden in der Parodontitisgruppe bei Patienten, die Chemotaxisdefekte der neutrophilen Granulozyten aufwiesen, geringere Ca-Serumkonzentrationen gemessen, als bei Patienten ohne diese Leukozytendefekte.

Die Bedeutung des Kalziums für die orale bzw. die parodontale Gesundheit ergibt sich aus der Funktion im Knochenstoffwechsel. Untersuchungen an Tiermodellen bestätigen die positiven Effekte einer ausgeglichenen Kalziumbilanz auf die Formation des Alveolarknochens. Dabei spielt Vitamin D als Regulator von Mineralisierungs- und Demineralisierungsprozessen eine wichtige Rolle [DAVIDEAU et al. 2004].

Im Rahmen der Analyse der Mineralstoffzufuhr wurde in dieser Studie außerdem auch die mittlere Magnesiumaufnahme pro Tag ermittelt. Dabei ergaben sich bei den Parodontitispatienten im Vergleich zu den gesunden Probanden geringere Werte. Während der Unterschied bei den Männern statistisch nicht gesichert werden konnte, waren die Werte der Frauen in der Parodontitisgruppe (291 mg/d) signifikant niedriger

im Vergleich zu den Daten der Referenzgruppe (353 mg/d). Dabei lag die Magnesiumaufnahme der Patientinnen mit Parodontitis leicht unterhalb der DGE-Empfehlung von 300 mg/d (Frauen) bzw. 350 mg/d (Männer). Die Werte der männlichen Studienteilnehmer (350-393 mg/d) entsprachen bzw. überstiegen die Empfehlungen der DGE.

In einer aktuellen Studie von MEISEL et al. (2004) wurde die Magnesiumversorgung mit dem Erkrankungsrisiko für Parodontitis in Zusammenhang gebracht. Dabei korrelierte die Mg-Serumkonzentration positiv mit dem parodontalen Gesundheitszustand. Probanden, die Mg-Supplemente einnahmen, zeigten weniger Attachmentverluste und geringere Sondierungstiefen.

Die Bedeutung des Magnesiums für die parodontale Gesundheit ergibt sich vermutlich aus den funktionellen Eigenschaften im Immunsystem. Unter anderem ist es ein Cofaktor bei der Immunglobulinsynthese und indirekt an der Regulation der Zytokinantwort beteiligt [GALLAND 1988]. Im Tierversuch konnte unter Mg-Mangel eine erhöhte Freisetzung von proinflammatorischen Zytokinen (IL-6, TNF- α) und eine verstärkte Aktivität von neutrophilen Granulozyten nachgewiesen werden [WEGLIICKI et al. 1992]. Außerdem wurden durch eine starke Mg-Restriktion in der Ernährung erniedrigte Werte endogener Antioxidantien, wie Vitamin C, E und Glutathion, und erhöhte Werte für pro-oxidative Metallionen im Plasma gemessen [ITOKAWA 1987, MAK et al. 1994].

Die Bestimmung der Eisenaufnahme ergab bei den Patientinnen mit Parodontitis (12 mg/d) signifikant geringere Werte im Vergleich zur Referenzgruppe (14 mg/d). Die DGE-Empfehlung einer täglichen Eisenzufuhr von 15 mg für Frauen wurde jedoch von beiden Gruppen nicht erreicht. Im Gegensatz dazu lagen die Werte der Männer beider Gruppen (14-15 mg/d) über der DGE-Empfehlung von 10 mg/d.

Direkte Zusammenhänge zwischen einer verminderten Eisenaufnahme und dem Parodontitisrisiko wurden bisher in der Literatur nicht beschrieben. Jedoch könnten auch hier die funktionellen Eigenschaften des Eisens bei Abwehrreaktionen und immunologischen Vorgängen eine Rolle spielen [FINE et al. 2002, EKIZ et al. 2005].

9. 3 Obst- und Gemüseverzehr bei Parodontitispatienten

In der vorliegenden Arbeit wurde aus den Daten der Ernährungsprotokolle der Obst- und Gemüsekonsum von allen Studienteilnehmern ermittelt.

Während sich der Gemüseverzehr zwischen der Parodontitis- und der Referenzgruppe nicht signifikant unterschied, konnte ein deutlich geringerer Frischobstverzehr bei den Parodontitispatienten beobachtet werden. Im Vergleich zur gesunden Referenzgruppe verzehrten die Patienten mit Parodontitis dabei im Durchschnitt täglich 90-122 g weniger Obst.

Frische Früchte liefern neben Vitaminen, Mineralstoffen und Ballaststoffen eine variable Vielfalt an sekundären Pflanzenstoffen, die u. a. das Aroma und die Farbe der Frucht bestimmen. Diesen Stoffen wurden in zahlreichen Studien z. B. antioxidative, antiinflammatorische und immunstimulierende Eigenschaften nachgewiesen [SUN et al. 2002]. Internationale Gesundheitsorganisationen empfehlen daher schon seit mehreren Jahren den Anteil von Obst und Gemüse in der Ernährung zu erhöhen, um chronisch degenerativen Erkrankungen vorzubeugen. Die Umsetzung dieser Empfehlungen erfolgt jedoch nur sehr langsam, wie der Ernährungsbericht 2004 der DGE zeigt. Im Durchschnitt wurden dabei pro Person täglich 300g Obst und Gemüse verzehrt. Dieser Wert liegt jedoch noch unter der Empfehlung der *World Health Organisation* (WHO) von 400 g pro Tag und ist weit entfernt von der Empfehlung der DGE von 650 g pro Tag.

In der vorliegenden Studie ergab die differenzierte Betrachtung des Frischobstverzehrs bei den Parodontitispatienten eine tägliche Aufnahme von 203 g (Frauen) bzw. 231 g (Männer) und bei der gesunden Referenzgruppe eine Menge von 293 g (Frauen) bzw. 353 g (Männer) Obst pro Tag. Das Verhältnis von Obst und Gemüse im Rahmen der DGE Empfehlung von 650g/d sollte etwas 2:3 betragen, so dass auf frisches Obst ein Mengenanteil von 260g entfällt. Während diese Frischobstmenge in der vorliegenden Untersuchung von der gesunden Referenzgruppe noch übertroffen wurde, erreichten die Parodontitispatienten diese Empfehlung nicht.

Die genaue Analyse des Frischobstverzehrs ergab in der Auswahl einzelner Obstsorten deutliche Unterschiede zwischen Parodontitispatienten und gesunden Probanden. Während die gesunden Probanden häufiger Apfelsinen, Kiwi und Grapefruit auswählten, wurden bei den Parodontitispatienten in der Mehrzahl Bananen oder Weintrauben verzehrt. In beiden Gruppen war der Apfel, die am häufigsten konsumierte Frucht. Da die Ernährungsdaten der Test- und der Referenzgruppe nahezu zeitgleich erfasst wurden, sind saisonale Unterschiede in der Verfügbarkeit einzelner Obstsorten auszuschließen.

Die Daten des Vitamin C Status spiegeln die Präferenzen für die einzelnen Obstsorten wider, wobei die gesunde Referenzgruppe mit einem deutlich höheren Verzehr an Vitamin C reichen Früchten (Apfelsinen, Grapefruit, Kiwi) auch einen höheren Vitamin C Plasmaspiegel aufwies. Neben geschmacklichen Vorlieben könnte bei den Parodontitispatienten der verminderte Verzehr von Zitrusfrüchten möglicherweise auf brennende Schmerzen am entzündeten Zahnfleisch, hervorgerufen durch den hohen Fruchtsäuregehalt, zurückzuführen sein. Die Patienten mit Parodontitis konsumierten vermehrt Bananen, die durch ihre weiche Konsistenz und Säurearmut vielleicht angenehmer zu verzehren waren.

In früheren Studien wurden bereits die Zusammenhänge zwischen dem Obstverzehr und der parodontalen Gesundheit untersucht. BLIGNAUT & GROBLER (1992) beobachteten bei Farmarbeitern, dass die Gruppe mit dem höchsten Zitrusfrüchteverzehr einen besseren Parodontalstatus und geringere Sondierungstiefen aufwies.

In einer vorangegangenen Supplementationstudie unserer Arbeitsgruppe konnte nachgewiesen werden, dass sich durch den regelmäßigen Verzehr von Grapefruit die Entzündung am parodontalen Gewebe bei Parodontitispatienten bessert und sich die Abwehrleistung der polymorphkernigen Granulozyten in der Sulkusflüssigkeit erhöht [STAUDTE et al. 2002].

Die positiven Effekte eines hohen Obst- bzw. Zitrusfrüchteverzehr auf die parodontale Gesundheit sind auf verschiedene Wirkmechanismen zurückzuführen. Einerseits trägt vermutlich der Gehalt an Vitamin C zur Steigerung der lokalen Resistenz- bzw. Abwehrleistung und der Geweberegeneration bei. Andererseits regen auch die faserige Textur und der Fruchtsäuregehalt während des Kauvorgangs den Speichelfluss und die Durchblutung des gingivalen Gewebes an. Darüber hinaus scheinen die sekundären Pflanzenstoffe eine nicht unwesentliche Rolle, insbesondere durch ihre antioxidativen Eigenschaften, zu spielen. Um die Wirkung einzelner Substanzen auf das parodontale Gewebe besser charakterisieren zu können, sollten sich weiterführende Untersuchungen anschließen.

10 Zusammenfassung

Die Ernährung spielt bisher bei der Parodontitisprophylaxe und –therapie eine eher untergeordnete Rolle. Jedoch deutet eine Vielzahl von Studien daraufhin, dass verschiedene Ernährungsfaktoren über unterschiedliche Mechanismen einen Einfluss auf die parodontale Gesundheit haben.

Das Ziel der vorliegenden Arbeit war die Analyse der Ernährungsgewohnheiten von Parodontitispatienten im Vergleich zu gesunden Probanden. Außerdem wurde die Wirkung von Vitamin C auf die Resistenzeigenschaften gingivaler Gewebezellen in einem In vitro-Testsystem untersucht.

Die experimentellen Beobachtungen sind im ersten Teil der Arbeit dargestellt. Dabei erfolgte zunächst die Charakterisierung der Pathogenität von *P. gingivalis* ATCC 33277 auf humane gingivale Fibroblasten durch die Bestimmung der Vitalitätsrate und der Apoptoserate. Zusätzlich wurde eine mikroskopische Analyse im REM und eine Messung der Superoxidfreisetzung durchgeführt. Im Rahmen dieser Tests wurde eine mögliche protektive Wirkung von Vitamin C durch die Behandlung der Fibroblasten mit Ascorbinsäure vor der Bakterienexposition untersucht.

Die Ergebnisse zeigen eine starke zytotoxische Wirkung von *P. gingivalis*, die durch eine verminderte Vitalitätsrate und eine erhöhte Apoptoserate nachgewiesen werden konnte. Die Behandlung mit Vitamin C wirkte zytoprotektiv, denn durch die Applikation von Ascorbinsäure 48 h vor der Bakterienexposition verminderte sich die Apoptoserate und erhöhte sich die Fibroblastenvitalität trotz bakterieller Infektion.

Diese Testergebnisse identifizieren Vitamin C als eine Substanz, die möglicherweise die Resistenz gegenüber bakteriellen Einflüssen erhöht und somit für die Parodontitisprophylaxe bedeutsam sein kann.

Vitamin C hat, wie auch andere essentielle Substanzen in der humanen Ernährung einen wichtigen Stellenwert. Die tägliche Zufuhr muss gesichert sein, um eine optimale Versorgung der Zellen und Gewebe zu gewährleisten und somit die Funktion dieser Systeme im Organismus aufrecht zu erhalten. Die Zusammensetzung der Ernährung spielt deshalb eine große Rolle bei der Vorbeugung von Krankheiten.

Im zweiten Teil dieser Arbeit wurden die Ernährungsgewohnheiten von Parodontitispatienten untersucht und mit einer gesunden Referenzgruppe verglichen. Durch die Protokollierung der verzehrten Nahrungsmittel über einen Zeitraum von 7 Tagen und

die Messung des Vitamin C Plasmaspiegels konnte die durchschnittliche Nährstoffversorgung und ebenfalls die Vitamin C Versorgung analysiert werden.

Die Ergebnisse zeigen deutlich eine verminderte Nährstoffaufnahme für Vitamin C, Folsäure, Calcium und Magnesium bei den Parodontitispatienten. Diese Nährstoffe wurden in aktuellen Studien bereits mit der Parodontiserkrankung in Zusammenhang gebracht. Besonders deutlich werden die Ernährungsunterschiede gesunder und an Parodontitis erkrankter Personen im Obstverzehr. Während die Probanden der Referenzgruppe häufiger Zitrusfrüchte (Grapefruit, Orangen) verzehrten, wählten die Parodontitispatienten vorwiegend Früchte mit einem geringen Säureanteil (Bananen, Weintrauben). Diese Präferenzen spiegelten sich auch in der Vitamin C Versorgung wieder, denn sowohl die Vitamin C Aufnahme, als auch die Vitamin C Plasmaspiegel der Parodontitispatienten lagen deutlich unter den Werten der Referenzgruppe. Darüber hinaus zeigten die Parodontitispatienten eine geringere Ballaststoffaufnahme. Dieses Resultat war auf einen verminderten Verzehr von Vollkornprodukten, rohem Gemüse und Früchten von fester, kauintensiver Konsistenz zurückzuführen, der sich vermutlich durch die klinische Symptomatik der parodontalen Erkrankung ergab.

11 Schlussfolgerung und Ausblick

Die vorliegende Arbeit fasst einerseits die aktuell verfügbaren Daten über mögliche Zusammenhänge zwischen einzelnen Ernährungsfaktoren und der Parodontitis zusammen und ergänzt andererseits dieses Wissen durch weiterführende Untersuchungen.

In Deutschland leidet ein Großteil der erwachsenen Bevölkerung an entzündlichen Parodontalerkrankungen. Effektive Prophylaxe- und Therapieprogramme sind daher notwendig um die Erkrankungsrate zu senken und somit auch das Risiko für Erkrankungen, wie Rheuma, Myokarditis und Atherosklerose einzudämmen, das nachweislich durch eine bestehende Parodontitis erhöht werden kann. Die Behandlung der Parodontitis erfordert, insbesondere bei schweren Formen, eine schnelle und effektive Therapie. Die momentan angewandten Behandlungsmethoden, die vorwiegend auf mechanischen und antibiotischen Strategien basieren, scheinen bei einigen Patienten nur ungenügende Erfolge zu erzielen und mit einer hohen Rezidivrate verbunden zu sein. Dies erklärt die zunehmende Anzahl an Studien, die die Effekte von natürlichen Substanzen auf die verschiedenen pathologischen Bereiche der Parodontitis untersuchen.

In der vorliegenden Arbeit konnte Vitamin C als eine Substanz identifiziert werden, die möglicherweise die Widerstandskraft des gingivalen Gewebes gegenüber bakteriellen Noxen erhöht. Um eine Anwendung von Vitamin C in der Parodontistherapie wissenschaftlich zu begründen, sollten weiterführende Studien die Wirkung von Ascorbinsäure auf die parodontale Infektion am lebenden Organismus untersuchen.

Jedoch lassen sich im Zusammenhang mit den Daten der Ernährungsanalyse spezielle Empfehlungen für die zahnärztliche Praxis bezüglich der unterstützenden Parodontistherapie ableiten:

1. Die Erfassung von krankheitsbedingten Problemen bei der Nahrungsaufnahme.
2. Die Analyse der Nährstoffversorgung an Hand eines Ernährungsprotokolls.
3. Gegebenenfalls der Ausgleich von Nährstoffdefiziten durch gezielte Ernährungsempfehlungen.
4. Die spezielle Empfehlung einer Vitamin C reichen Ernährung.

Literaturverzeichnis

- Abou-Mohamed, G., El-Kashef, H.A., Salem, H.A., Elmadza, M.M.: Effect of zinc on the anti-inflammatory and ulcerogenic activities of indomethacin and declophenac. *Pharmacology* 50, 1995, 266-270
- Altman, L.C., Baker, C., Fleckman, P., Luchtel, D., Oda, D.: Neutrophil mediated damage to human gingival epithelial cells. *J Periodont Res* 27, 1992, 70-79
- Al-Zahrani, S., Bissada, N. F., Borawski, E.L.: Obesity and periodontal disease in young, middle-aged, and older adults. *J Periodontol* 74, 2003, 610-615
- Amarasena, N., Ogawa, H., Yoshihara, A., Hanada, N., Miyazaki, H.: Serum vitamin C-periodontal relationship in community-dwelling elderly Japanese. *J Clin Periodontol* 32, 2005, 93-97
- Anderson, R., Oosthuizen, R., Maritz, R., Theron, A., Rensburg, A.J.: The effects of increasing weekly doses of ascorbate on certain cellular and humoral immune functions in normal volunteers. *Am J Clin Nutr* 33, 1980, 71-76
- Arakawa, S., Nakajima, T., Ishikura, H., Ichinose, S., Ishikawa, I., Tsuchida, N.: Novel apoptosis-inducing activity in *Bacteroides forsythus*: a comparative study with three serotypes of *actinobacillus actinomycetemcomitans*. *Infect Immun* 68, 2000, 4611-4615
- Arrigoni, O., de Tullio, M.C.: Ascorbic acid: much more than just an antioxidant. *Biochem Biophys Acta* 1569, 2002, 1-9
- Baltino, A.M., Bullon, P., Wilson, M., Newman, M.: Oxidative injury and inflammatory periodontal disease: The challenge of antioxidants to free radicals and reactive oxygen species. *Crit Rev Oral Biol Med* 10, 1999, 458-476
- Barker, M.E., Blumsohn, A.: Is vitamin A consumption a risk factor for osteoporotic fracture? *Proc Nutr Soc* 62, 2003, 845-850
- Bartold, P.M., Wiebkin, O.W., Thonard, J.C.: The effect of oxygen-derived free radicals on gingival proteoglycans and hyaluronic acid. *J Periodont Res* 19, 1984, 390-400
- Battikhi, T., Lee, W., McCulloch, C.A.G., Ellen, R.P.: *Treponema denticola* outer membrane enhances the phagocytosis of collagen-coated beads by gingival fibroblasts. *Infect Immun* 67, 1999, 1220-1226
- Beard, J.I.: Iron biology in immun function, muscle metabolism and neuronal functioning. *J Nutr* 131, 2001, 568-579
- Beck, F.W.J., Prasad, A.S., Kaplan, J., Fitzgerald, J.T., Brewer, G.J.: Changes in cytokine production and T cell subpopulations in experimentally induced zinc-deficient humans. *Am J Physiol* 272, 1997, 1002-1007

- Beck, J.D. & Offenbacher, S.: The association between periodontal diseases and cardiovascular diseases: a state-of-the-science review. *Ann Periodontol* 6, 2001, 9-15
- Benoni, G., Cuzzolin, L., Marrella, M., Crivellente, F., Adami, A., Bertaso, C., Velo, G., Milanino, R.: Neutrophil behavior following exposure to in vivo or in vitro zinc in normal and acutely-inflamed rats: studies on lysozyme secretion, superoxide anion release and platelet adhesion. *Inflammation* 22, 1998, 175-189
- Biesalski, H.K.: Vitamine. In: Biesalski, H.K., Fürst, P., Kasper, H., Kluthe, R., Pöler, W., Puchstein, C., Stähelin, H.B.: *Ernährungsmedizin*. Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 1999, 111-158
- Blech, J.J., Muir, A.: n-6 and n-3 essential fatty acids in rheumatoid arthritis and other rheumatic conditions. *Proc Nutr Soc* 57, 1998, 563-569
- Blignaut, J.B., Grobler, S.R.: High fruit consumption and the periodontal status of farm workers. *Clin Prev Dent* 2, 1992, 25-28
- Boyd, L.D., Lampi, K.J.: Importance of nutrition for optimum health of the periodontium” *J Cont Dent Pract* 2, 2001, 36-45
- Brigelius, R., Flohe, L.: Ascorbic acid, cell proliferation, and cell differentiation in culture. *Subcell Biochem* 25, 1996, 83-107
- Brock, J.H., Mulero, V.: Cellular and molecular aspects of iron and immune function. *Proc Nutr Soc* 59, 2000, 537-540
- Burdon, R.H., Gill, V., Alliangana, D.: Hydrogen peroxide in relation to proliferation and apoptosis in BHK-21 hamster fibroblasts. *Free Radic Res* 24, 1996, 81-93
- Butler, J.D., Bergsten, P., Welch, R.W., Levine, M.: Ascorbic acid accumulation in human skin fibroblasts. *Am J Clin Nutr* 54, 1991, 1144-1146
- Cantorna, M.T., Nashold, F.E., Hayes, C.E.: Vitamin A deficiency results in a priming environment conducive for Th1 cell development. *Eur J Immunol* 25, 1995, 1673-1679
- Casciari, J.J., Riordan, N.H., Schmidt, T.L., Meng, X.L., Jackson, J.A., Riordan, H.D.: Cytotoxicity of ascorbate, lipoic acid, and other antioxidants in hollow fibre in vitro tumours. *Br J Cancer* 84, 2001, 1544-1550
- DeCarlo, A.A., Grenett, H.E., Harber, G.J., Windsor, L.J., Bodden, M.K., Birkedal-Hansen, B., Birkedal-Hansen, H.: Induction of matrix metalloproteinases and a collagen-degrading phenotype in fibroblasts and epithelial cells by secreted *Porphyromonas gingivalis* proteinase. *J Periodontol Res* 33, 1998, 408-420
- Chapple, I.L.C.: Reactive oxygen species and antioxidants in inflammatory diseases. *J Clin Periodontol* 24, 1997, 287-296

- Chen, Z., Casiano, C.A., Fletcher, H.M.: Protease-active extracellular protein preparations from *Porphyromonas gingivalis* W83 induce N-cadherin proteolysis, loss of cell adhesion and apoptosis in human epithelial cells. *J Periodontol* 72, 2001, 641-650
- Chepda, T., Cadau, M., Girin, P.H., Frey, J., Chamson, A.: Monitoring of ascorbate at a constant rate in cell culture: effect on cell growth. *In Vitro Cell Dev Biol Anim* 37, 2001, 26-30
- Cohen, R.E., Ciancio, S.G., Mather, M.L., Curro, F.A.: Effect of vitamin E gel, placebo gel and chlorhexidine on periodontal disease. *Clin Prev Dent* 13, 1991, 20-24
- Cook-Mills, J.M., Wirth, J.J., Fraker, P.J.: Possible roles for zinc in destruction of *Trypanosoma cruzi* by toxic oxygen metabolites produced by mononuclear phagocytes. *Adv Exp Med Biol* 262, 1990, 111-121
- Crosti, N., Bajor, J., Serra, A., Riggs, A., Scarpa, M., Viglino, P.: Coordinate expression of MnSOD and CuZn SOD in human fibroblasts. *Exp Cell Res* 160, 1985, 396-402
- Davideau, J.L., Lezot, F., Kato, S., Bailleul-Forestier, I., Berdal, A.: Dental alveolar bone defects related to Vitamin D and calcium status. *J Steroid Biochem Mol Biol* 89-90, 2004, 615-618
- Dibbert, B., Simon, H.U.: The molecular mechanism of apoptosis. Report of the 4th European Conference on Apoptosis. *Dtsch Med Wochenschr* 122, 1997, 523-526
- Dörfer, C., Becher, H., Buggle, F., Joerss, D.: Assoziationen zwischen Vitamin-A-Aufnahme und Parodontitis. *Parodontologie* 3, 2004, Abstrakt 6, 286
- Dogan, B., Saarela, M., Asikainen, S.: Genotyping of *Actinobacillus actinomycetem-comitans* serotype d isolates based on polymerase chain reaction. *Oral Microbiol Immunol* 14, 1999, 387-390
- Drew, H.J., Vogel, R.I., Molofsky, W., Baker, H., Frank, O.: Effect of folate on phenytoin hyperplasia. *J Clin Periodontol* 14, 1987, 350-356
- Duncan, M.J., Nakao, S., Skobe, Z., Xie, H.: Interactions of *Porphyromonas gingivalis* with epithelial cells. *Infect Immun* 61, 1993, 2260-2265
- Duthie, S.J., Johnson, W., Dobson, V.L. : The effects of dietary flavonoids on DNA damage (strand breaks and oxidised pyrimidines) and growth in human cells. *Mutat Res* 390, 1997, 141-151
- Ekiz, C., Agaoglu, L., Karakas, Z., Gurel, N., Yalcin, I.: The effect of iron deficiency anemia on the function of the immune system. *Hematol J* 5, 2005: 579-583
- Ellen, R.P., Song, I.A., Buividis, S., McCulloch C.A.G.: Morphology of *Treponema denticola* invasion in gingival fibroblasts (abstract). *J Dent Res* 72, 1993, 411

- Ellen, R.P.: Perturbation and exploitation of host cell cytoskeleton by periodontal pathogens. *Microbes Infect* 1 (8), 1999, 621-632
- Farriol, M., Mourelle, M., Schwartz, S.: Effect of vitamin C and vitamin E analog on aged fibroblasts. *Rev Esp Fisiol* 50, 1994, 253-257
- Falkow, S.: Bacterial entry into eucaryotic cells. *Cell* 65, 1991, 1099-1102
- Field, E.A., Speechley, J.A., Rugman, F.R, Varga, E., Tyldesley, W.R.: Oral signs and symptoms in patients with undiagnosed vitamin B12 deficiency. *J Oral Pathol Med* 24, 1995, 468-470
- Fine, D.H., Furgang, D., Beydouin, F.: Lactoferrin iron levels are reduced in saliva of patients with localized aggressive periodontitis. *J Periodontol* 73, 2002, 624-630.
- Finlay, B.B., Falkow, S.: Common themes in microbial pathogenicity. *Microbiol Rev* 53, 1989, 210-230
- Firth, N., Marven, E.: Oral lesions in scurvy. *Aust Dent J* 46, 2001, 298-300
- Fraker, P.J., King, L.E., Laakko, T., Vollmer, T.L.: The dynamic link between the integrity of the immune system and zinc status. *J Nutr* 130, 2000, 1399-1406
- Franceschi, C.: Cell proliferation, cell death and aging. *Aging* 1, 1989, 3-15
- Galland, L.: Magnesium and immune function: an overview. *Magnesium* 7, 1988, 290-299
- Gaultier, F., Foucault-Bertaud, A., Lamy, E., Ejeil, A.L., Dridi, S.M., Piccardi, N., Piccirilli, A., Msika, P., Godeau, G., Gogly, B.: Effects of a vegetable extract from *Lupinus albus* (LU105) on the production of matrix metalloproteinases (MMP1, MMP2, MMP9) and tissue inhibitor of metalloproteinases (TIMP1, TIMP2) by human gingival fibroblasts in culture. *Clin Oral Investig* 7, 2003, 198-205
- Goldenberg, H., Landertshamer, H., Laggner, H.: Functions of vitamin C as a mediator of transmembrane electron transport in blood cells and related cell culture models. *Antioxid Redox Signal* 2 (2), 2000, 189-196
- Grimble, R. F.: Dietary manipulation of the inflammatory response. *Proc Nutr Soc* 51, 1992, 285-294
- Halliwell, B.: Reactive oxygen species in living systems: source, biochemistry and the role in human disease. *Am J Med* 91, 1991, 14-22

- Hallquist, N.A., McNeil, L.K., Lockwood, J.F., Sherman, A.R.: Maternal-iron-deficiency effects on peritoneal macrophage and peritoneal natural-killer-cell cytotoxicity in rat pups. *Am J Clin Nutr* 55, 1992, 741-746
- Hamada, N., Sojar, H.T., Cho, M.I., Genco, R.J.: Isolation and characterization of a minor fimbria from *Porphyromonas gingivalis*. *Infect Immun* 64, 1996, 4788-4794
- Hasegawa, M., Suzuki, K., Nakaji, S., Sugawara, K.: Effects of zinc on the reactive oxygen species generating capacity of human neutrophils and on the serum opsonic activity *in vitro*. *Luminescence* 15, 2000, 321-327
- Haynes, W.G., Stanford, C.: Periodontal disease and atherosclerosis: from dental to arterial plaque. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 23, 2003, 1309-1311
- Hennig, B., Boissonneault, G.A., Wang, Y.: Protective effects of vitamin E in age-related endothelial cell injury. *Int J Vitam Nutr Res* 59, 1989, 273-279
- Henskens, Y.M., van den Keijbus, P.A., Veerman, E.C., Van der Weijden, G.A., Timmerman, M.F., Snoek, C.M., Van der Velden, U., Nieuw Amerongen, A.V.: Protein composition of whole and parotid saliva in healthy and periodontitis subjects. Determination of cystatins, albumin, amylase and IgA. *J Periodontal Res* 31, 1996, 57-65
- Heseker, H.: Folsäure. *Ernährungsumschau* 43, 1996, 222-224
- Hillmann, G., Vipismakul, V., Donath, K.: *Die Entstehung plaquebedingter Gingivataschen im Tiermodell. Dtsch Zahnärztl Z* 45, 1990, 264-266
- Itokawa, Y.: Tissue minerals of magnesium-deficient rats with thiamine deficiency and excess. *Magnesium* 6, 1987, 48-54
- Jacob RA, Sotoudeh G.: Vitamin C function and status in chronic disease. *Nutr Clin Care* 5, 2002, 66-74
- Jacoby, B.H., Davis, W.L.: The electron microscopic immunolocalization of a copper-zinc-superoxide dismutase in association with collagen fibers of periodontal soft tissues. *J Periodontol* 62, 1991, 413-420
- Johansson, A., Bergenholtz, A., Holm, S.E.: Strong cytotoxicity to human gingival fibroblasts by *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277. *J Periodont Res* 31, 1996, 477-482
- Johansson, S., Lind, P.M., Hakansson, H., Oxlund, H., Orberg, J., Melhus, H.: Subclinical hypervitaminosis A causes fragile bones in rates. *Bone* 31, 2002, 685-689
- Kashino, G., Kodama, S., Nakayama, Y., Suzuki, K., Fukase, K., Goto, M., Watanabe, M.: Relief of oxidative stress by ascorbic acid delays cellular senescence of normal human and Werner syndrome fibroblast cells. *Free Radic Biol Med* 35, 2003, 438-443

- Kato, S., Nakashima, K., Inoue, M., Tomioka, J., Nonaka, Koji, Nishihara, T., Kowashi, Y.: Human epithelial cell death caused by *Actinobacillus actinomycetemcomitans* infection. *J Med Microbiol* 49, 2000, 739-745
- Khansari, N.: Effect of ascorbic acid on neutrophil function. *Am J Vet Res* 47, 1986, 700.
- Kim, J.H.: Anti-bacterial action of onion (*Allium cepa* L.) extracts against oral pathogenic bacteria. *J Nihon Univ Sch Dent* 39, 1997, 136-141
- Kim, J.E., Shklar, G.: The effect of vitamin E on the healing of gingival wounds in rats. *J Periodontol* 54, 1983, 305-308
- Kimura, S., Yonemura, T., Kaya, H.: Increased oxidative product formation by peripheral blood polymorphonuclear leucocytes in human periodontal diseases. *J Periodontal Res* 28, 1993, 197-203
- Kirven, M.J., Wolf, G.: Synthesis and glycosylation of fibronectin in hepatocytes from vitamin A-deficient rats. *Mol Cell Biochem* 101, 1991, 101-114
- Krook, L., Whalen, J.P., Lesser, G.V., Lutwak, L.: Human periodontal disease and osteoporosis. *Cornell Vet* 62, 1972, 371-391
- Kumagai, Y., Konishi, K., Gomi, T., Yagishita, H., Yajima, A., Yoshikawa, M.: Enzymatic properties of dipeptidyl aminopeptidase IV produced by the periodontal pathogen *Porphyromonas gingivalis* and its participation in virulence. *Infect Immun* 68, 2000, 716-724
- Kumari, M.V., Hiramatsu, M., Ebadi, M.: Free radical scavenging actions of metallothionein isoforms I and II. *Free Radic Res* 29, 1998, 93-101
- Lamont, R.J., Chan, A., Belton, C.M., Isutzu, K.T., Vasel, D., Weinberg, A.: *Porphyromonas gingivalis* invasion of gingival epithelial cells. *Infect Immun* 63, 1995, 3878-3885
- Leccia, M.T., Richard, M.J., Favier, A., Beani, J.C.: Zinc protects against ultraviolet A-induced DNA damage and apoptosis in cultured human fibroblasts. *Biol Trace Elem Res* 69, 1999, 177-190
- Levine, M., Rumsay, S.C., Daruwala, R., Park, J.B., Wang, Y.: Criteria and recommendations for vitamin C intake. *JAMA* 281, 1999, 1415-1423
- Levy R, Shriker O, Porath A, Riesenber, K., Schlaeffer, F.: Vitamin C for the treatment of recurrent furunculosis in patients with impaired neutrophil functions. *J Infect Dis* 173, 1996, 1502-1505
- Lewis, B., Langkamp-Henken, B.: Arginine enhances In vivo immune responses in young, adult and aged mice. *J Nutr* 130, 2000, 1827-1830

- Liberman, T.O. & Baltimore, D.: Activation of interleukin-6 gene expression through NF-kB transcription factor. *Mol Cell Biol* 10, 1990, 2327-2334
- Luca, G., Nustruzzi, C., Basta, G., Brozetti, A., Saturni, A., Mughetti, D., Ricci, M., Rossi, C., Brunetti, P., Calafiore, R.: Effects of anti-oxidizing vitamins on in vitro cultured porcine neonatal pancreatic islet cells. *Diab Nutr Metab* 13, 2000, 301-307
- Mak, I.T., Stafford, R.E., Weglicki, W.B.: Loss of red blood cell glutathione during Mg deficiency: prevention by vitamin E, D-propranolol, and chloroquine. *Am J Physiol* 267, 1994, 1366–1370
- Mandel, I.D.: Oral infections: impact on human health, well-being, and health-care costs. *Compend Contin Educ Dent* 23, 2002, 403-406
- Manthey, J.A., Grohmann, K., Montanari, A., Ash, K., Manthey, C.L.: Polymethoxylated flavones derived from citrus suppress tumor necrosis factor-alpha expression in human monocytes. *J Nat Prod* 62, 1999, 441-444
- Mariotti, A.: The extrazellular matrix of the periodontium: dynamic and interactive tissues. *Periodont 2000* 3, 1993, 39-63
- Mayrand, D., Holt, S.C.: Biology of asaccharolytic black-pigmented Bacteroides species. *Mircobiol Revs* 52, 1988, 134
- Meier, B., Radeke, H.H., Selle, S., Raspe, H., Sies, H., Resch, K., Habermehl, G.G.: Human fibroblasts release reactive oxygen species in response to treatment with synovial fluid from patients suffering from arthritis. *Free Radic Res Com* 8, 1990, 149-160
- Meisel, P., Schwahn, C., Kocher, T.: Magnesiummangel als Risikofaktor für die Parodontitis und Effekte der Magnesiumzufuhr. *Parodontol* 3, 2004, 276 (Abstrakt)
- Mercado, F.B., Marshall, R.I., Bartold, M.B.: Inter-relationships between rheumatoid arthritis and periodontal disease. A review. *J Clin Periodontol.* 30, 2003, 761-772
- Meyle, J., Heller, W., Götz, H., Fuhrer, G.: Plasmakonzentrationen von Calcium, Magnesium, Zink und Kupfer bei Patienten mit marginaler Parodontitis. *Dtsch Zahnärztl Z* 42, 1987, 474-479
- Meyle, J., Schulte, W., Dopfer, R., Niethammer, D.: Untersuchungen zur Funktion der neutrophilen Granulozyten bei der Parodontitis und bei Mundschleimhauterkrankungen. Dtsch Zahnärztl Z* 39, 1984, 388-395
- Moriguchi, S., Muraga, M.: Vitamin E and immunity. *Vitam Horm* 59, 2000, 305-36
- Mosmann, T.: Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. *J Immunol Methods* 65, 1983, 55-63
- Mühlemann, H.R., Son, S.: Gingival sulcus bleeding – a leading symptom in initial gingivitis. *Helv Odont Acta* 15, 1971, 107-113

- Musconda, C.A., Chipman, J.K.: Quercetin inhibits hydrogen peroxide-induced NFκB DNA binding activity and DNA damage in HepG2 cells. *Carcinogenesis* 19, 1998, 1583-1589
- Mutunga, M., Preston, M.P., Sumption, K.J.: Nitric oxide is produced by *Cowdria ruminantium*-infected bovine pulmonary endothelial cells in vitro and is stimulated by gamma interferon. *Infect Immun* 66, 1998, 2115-2121
- Naidu, K.A., Karl, R.C., Naidu, K.A., Coppola, D.: Antiproliferative and proapoptotic effect of ascorbyl stearate in human pancreatic cancer cells: association with decreased expression of insulin-like growth factor 1 receptor. *Dig Dis Sci* 48, 2003, 230-237
- Navas, P., Villalba, J.M., Cordoba, F.: Ascorbate function at plasma membrane. *Biochem Biophys Acta* 1197, 1994, 1-13
- Nishida, M., Grossi, S.G., Dunford, R.G., Ho, A.W., Trevisan, M., Genco, R.J.: Dietary vitamin C and the risk of periodontal disease. *J Periodontol* 71, 2000, 1215-1223
- Ohguchi, M., Ishisaki, A., Okahashi, N., Koide, M., Koseki, T., Yamato, K., Noguchi, T., Nishihara, T.: *Actinobacillus actinomycetemcomitans* toxin induces both cell cycle arrest in the G2/M phase and apoptosis. *Infect Immun* 66, 1998, 5980-5987
- Olson, R.H., Adam, D.F., Layman, D.L.: Inhibitory effect of periodontally diseased root extract on the growth of human gingival fibroblasts. *J Periodontol* 56 (10), 1985, 592-596
- Oppenheimer, S.J.: Iron and its relation to immunity and infectious disease. *J Nutr* 131, 2001, 616-633
- Ozaki, K., Hanazawa, S.: *Porphyromonas gingivalis fimbriae* inhibit caspase-3-mediated apoptosis of monocytic THP-1 cells under growth factor deprivation via extracellular signal-regulated kinase-dependent expression of p21 Cip/WAF 1. *Infect Immun* 69, 2001, 4944-4950
- Pack, A.R.: Folate mouthwash: effects on established gingivitis in periodontal patients. *J Clin Periodontol* 11, 1984, 619-628
- Pack, A.R., Thomson, M.E.: Effects of topical and systemic folic acid supplementation on gingivitis in pregnancy. *J Clin Periodontol* 7, 1980, 402-414
- Panizzon, R.: Skin symptoms in disorders of vitamin and mineral metabolism. *Ther Umsch* 52, 1995, 257-263
- Papapanou, P.N.: Periodontal diseases: epidemiology. *Ann Periodontol* 1, 1996, 1-36
- Park, Y., Lamont, R.J.: Contact-dependent protein secretion in *Porphyromonas gingivalis*. *Infect Immun* 66, 1998, 4777-4782

- Parrish, J.H., DeMarco, T.J., Bissada, N.F.: Vitamin E and periodontitis in the rat. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 44, 1977, 210-218
- Pasonen-Seppanen, S., Suhonen, T.M., Kirjavainen, M., Suihko, E., Urtti, A., Miettinen, M., Hyttinen, M., Tammi, M., Tammi, R.: Vitamin C enhances differentiation of a continuous keratinocyte cell line (REK) into epidermis with normal stratum corneum ultrastructure and functional permeability barrier. *Histochem Cell Biol* 116, 2001, 287-297
- Patrone, F., Dallegri, F., Bonvini, E., Minervini, F., Sacchetti, C.: Effects of ascorbic acid on neutrophil function. Studies on normal and chronic granulomatous disease neutrophils. *Acta Vitaminol Enzymol* 4, 1982, 163-168
- Pick, E., Mizel, D.: Rapid microassays for the measurement of superoxide and hydrogen peroxide production by macrophages in culture using an automatic enzyme immunoassay reader. *J Immunol Methods* 46, 1981, 211-226
- Pindborg, J.J.: The effect of methyl folic acid on the periodontal tissue in rat molars (experimental granulocytopenia). *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 2, 1949, 1485-1496
- Powanda, M.C., Beisel, W.R.: Metabolic effects of infection on protein and energy status. *J Nutr* 133, 2003, S322-S327
- Pussinen, P.J., Laatikainen, T., Alfthan, G., Asikainen, S., Jousilahti, P.: Periodontitis is associated with a low concentration of vitamin C in plasma. *Clin Diagn Lab Immunol* 5, 2003, 897-902
- Rabinovitch, M.: Professional and non-professional phagocytes: an introduction. *Trends Cell Biol* 5, 1995, 85-88
- Rice-Evans, C., Miller, N., Paganga, G.: Structure antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic compounds. *Free Radic Biol Med* 20, 1996, 933-956
- Richard, M.J., Guiraud, P., Leccia, M.T., Beani, J.C., Favier, A.: Effect of zinc supplementation on resistance of cultured human skin fibroblasts toward oxidant stress. *Biol Trace Elem Res* 37, 1993, 187-199
- Rocha, N.P.: Vitamin E stimulates endotoxin-inhibited monocyte migration and phagocytosis in vivo. *Braz J Med Biol Res* 22, 1989, 1401-1403
- Roe, D.A.: Riboflavin deficiency: mucocutaneous signs of acute and chronic deficiency. *Semin Dermatol* 10, 1991, 293-295
- Romanos, G.E., Bernimoulin, J.P.: Das Kollagen als Basiselement des Parodonts: Immunhistochemische Aspekte beim Menschen und bei Tieren. *Parodontologie* 4, 1990, 363-375
- Romanus, B., Henriksson, P.A.: Skeletal strength in dogs on different diets. *Nord Med* 86, 1971, 1089

- Roomi, M.W., House, D., Eckert-Maksic, M., Maksic, Z.B., Tsao, C.S.: Growth suppression of malignant leukemia cell line in vitro by ascorbic acid (vitamin C) and its derivatives. *Cancer Lett* 122, 1998, 93-99
- Rosenshine, I., Finlay, B.B.: Exploitation of host signal transduction pathways and cytoskeletal functions by invasive bacteria. *Bio Essays* 15, 1993, 17-24
- Rosenstein, E.D., Kushner, L.J., Kramer, N., Kazandjian, G.: Pilot study of dietary fatty acid supplementation in the treatment of adult periodontitis. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 68, 2003, 213-218
- Saito, T., Shimazaki, Y., Sakamoto, M.: Obesity and periodontitis. *N Engl J Med* 339, 1998, 482-483
- Sandros, J., Papapanou, P.N., Mannmark, U., Dahlén, G.: *Porphyromonas gingivalis* invades human pocket epithelium in vitro. *J Periodont Res* 29, 1994, 62-69
- Santucci, L.A., Gutierrez, P.L., Silverman, D.J.: *Rickettsia rickettsii* induces superoxide radical and superoxide dismutase in human endothelial cells. *Infect Immun* 60, 1992, 5113-5118
- Sastravaha, G., Yotnuengnit, P., Booncong, P., Sangtherapitikul, P.: Adjunctive periodontal treatment with *Centella asiatica* and *Punica granatum* extracts. A preliminary study. *J Int Acad Periodontol* 5, 2003, 106-115
- Schraufstatter, I.U., Browne, K., Harris, A., Hyslop, P.A., Jackson, J.H., Quehenberger, O., Cochrane, C.: Mechanisms of hypochlorite (HOCL) injury of target cells. *J Clin Invest* 85, 1990, 554-562
- Shah, H.N., Gharbia, S.E., O'Toole, C.M.: Assessment of the relative Cytotoxicity of *Porphyromonas gingivalis* cells, Products and components on human epithelial cell lines. *J Periodontol* 63 (1), 1992, 44-51
- Silness, J., Løe, H.: Periodontal disease in pregnancy II. Correlation between oral hygiene and periodontal condition. *Acta Odontol Scand* 22, 1964, 121-125
- Simon, R.M., Scoggin, C.H., Patterson, D.: Hydrogen peroxide causes the fatal injury to human fibroblasts exposed to oxygen radicals. *J Biol Chem* 256, 1981, 7181-7186
- Skaleric, U., Manthey, C.M., Mergenhagen, S.E., Gaspirc, B., Wahl, S.M.: Superoxide release and superoxide dismutase expression by human gingival fibroblasts. *Eur J Oral Sci* 108, 2000, 130-135
- Sojar, H.T., Sharma, A., Genco, R.J.: *Porphyromonas gingivalis* fimbriae bind to cytokeratin of epithelial cells. *Infect Immun* 70, 2002, 96-101

- Song, S.E., Choi, B.K., Kim, S.N., Yoo, Y.J., Kim, M.M., Park, S.K., Roh, S.S., Kim, C.K.: Inhibitory effect of procyanidin oligomer from elm cortex on the matrix metalloproteinases and proteases of periodontopathogens. *J Periodontal Res* 38, 2003, 282-289
- Spanheimer, R., Zlatev, T., Umpierrez, G., DiGirolamo, M.: Collagen production in fasted and food-restricted rats: response to duration and severity of food deprivation. *J Nutr* 121, 1991, 518-524
- Sreenivasan, P.K., Meyer, D.H., Fives-Taylor, P.M.: Requirements for invasion of epithelial cells by *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. *Infect Immun* 61, 1993, 1239-1245
- Staudte, H., Sigusch, B.W., Klinger, G., Glockmann, E.: Grapefruit beeinflusst klinische und paraklinische Faktoren bei Patienten mit Parodontitis marginalis. *ZWR* 1-2, 2002, 33-38
- Sun, J., Chun, Y., Wu, X., Liu, R.H.: Antioxidant and antiproliferative activities of common fruits. *J Agric Food Chem* 50, 2002, 7449-7454
- Thomson, M.E., Pack, A.R.: Effects of extended systemic and topical folate supplementation on gingivitis of pregnancy. *J Clin Periodontol* 9, 1982, 275-280
- Thorstensson, H., Hugoson, A.: Periodontal disease experience in adult long-duration insulin-dependent diabetics. *J Clin Periodontol* 20, 1993, 352-358
- Touyz, L.Z.: Oral scurvy and periodontal disease. *J Can Dent Assoc* 63, 1997, 837-845
- Travis, J., Pike, R., Imamura, T., Potempa, J.: Porphyromonas gingivalis proteinases as virulence factors in the development of periodontitis. *J Periodont Res* 32, 1997, 120-125
- Uhrbom, E., Jacobson, L.: Calcium and periodontitis: clinical effect of calcium medication. *J Clin Periodontol* 11, 1984, 230-241
- Vaananen, M.K., Markkanen, H.A., Touvinen, V.J., Kullaa, A.M., Karinpaa, A.M., Kumpusalo, E.A.: Periodontal health related to plasma ascorbic acid. *Proc Finn Dent Soc* 89, 1993, 51-59
- Valente, E., Assis, M.C., Alvim, I.M., Pereira, G.M., Plotkowski, M.C.: *Pseudomonas aeruginosa* induces apoptosis in human endothelial cells. *Microb Pathog* 29, 2000, 345-356
- Vinson, J.A., Liang, X., Proch, J., Hontz, B.A., Dancel, J., Sandone, N.: Polyphenol antioxidants in citrus juices: in vitro and in vivo studies relevant to heart disease. *Adv Exp Med Biol* 505, 2002, 113-122
- Vogel, R.I., Fink, R.A., Schneider, L.C., Frank, O., Baker, H.: The effect of folic acid on gingival health. *J Periodontol* 47, 1976, 667-668

- Wang, H., Nair, M.G., Strasburg, G.M., Chang, Y.C., Booren, A.M., Gray, J.I., DeWitt, D.L.: Antioxidant and antiinflammatory activities of anthocyanins and their aglycon, cyanidin, from tart cherries. *J Nat Prod* 62, 1999, 294-296
- Wang, P.L., Shirasu, S., Shinohara, M., Daito, M., Oido, M., Kowashi, Y., Ohura, K.: Induction of apoptosis in human gingival fibroblasts by a *Porphyromonas gingivalis* protease preparation. *Arch Oral Biol* 44, 1999, 337-342
- Wang, Y., Russo, T.A., Kwon, O., Chanock, S., Rumsey, S.C., Levine, M.: Ascorbate recycling in human neutrophils: induction by bacteria. *Proc Natl Acad Sci USA* 94, 1997, 13816-13819
- Wayner, D.D.M., Burton, G.W., Ingold, K.U.: The antioxidant efficiency of vitamin C is concentration-dependent. *Biochim Biophys Acta* 884, 1986, 119-123
- Weglicki, W.B., Phillips, T.M., Freedman, A.M., Cassidy, M.M., Dickens, B.F.: Magnesium deficiency elevates circulating levels of inflammatory cytokines and endothelia. *Mol. Cell. Biochem.* 110, 1992, 169–173
- Weiss, S.S.: Tissue destruction by neutrophils. *N Engl J Med* 320, 1989, 365-376
- Welch, R.W., Bergsten, P., Butler, J.P., Levine, M.: Ascorbic acid accumulation and transport in human fibroblasts. *Biochem J* 249, 1993, 505-510
- Wenzel, U., Nickel, A., Kuntz, S., Daniel, H.: Ascorbic acid suppresses drug-induced apoptosis in human colon cancer cells by scavenging mitochondrial superoxide anions. *Carcinogenesis* 25, 2004, 703-712
- Wilson, C.N.: Ascorbic acid function and metabolism during colds. *Ann N Y Acad Sci* 258, 1975, 529-539
- Wilson, M.: Biological activities of lipopolysaccharides from oral bacteria and their relevance to the pathogenesis of chronic periodontitis. *Sci Prog* 78, 1995, 19-34
- Wilton, J.M., Hurst, T.J., Scott, E.E.: Inhibition of polymorphonuclear leucocyte phagocytosis by *Porphyromonas gingivalis* culture products in patients with adult periodontitis. *Arch Oral Biol* 38, 1993, 285-289
- Wood, N., Johnson, R.B., Streckfus, C.F.: Comparison of body composition and periodontal disease using nutritional assesment techniques: Third National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES III). *J Clin Periodontol* 30, 2003, 321-327
- Yamasaki, M., Nakata, K., Imaizumi, I., Iwama, A., Nakane, A., Nakamura, H.: Cytotoxic effect of endodontic bacteria on periapical fibroblasts. *J Endod* 24 (8), 1998, 534-539
- Yeung, M.K., Cisar, J.O.: Sequence homology between the subunits of two immunologically and funktionally distinct types of fimbriae of *Actinomyces* spp.. *J Bacteriol* 172, 1990, 2462-2468

Zhang, P., Omaye, S.T.: Antioxidant and prooxidant roles for beta-carotene, alpha-tocopherol and ascorbic acid in human lung cells. *Toxicol In Vitro* 15, 2001, 13-24

Danksagungen

Mein herzlicher Dank gilt Herrn Prof. Dr. E. Glockmann und Herrn Prof. Dr. R. Bitsch für die Überlassung des Themas und die Betreuung der Arbeit.

Mein besonderer Dank gilt Herrn PD Dr. B. W. Sigusch für die schnelle und hilfreiche Unterstützung bei Fragen und der Erstellung der Arbeit.

Herzlich danken möchte ich den Mitarbeitern des wissenschaftlichen Labors der Poliklinik für Konservierende Zahnheilkunde.

Wissenschaftlicher Lebenslauf

Name: Staudte
Vorname: Henrike
Geburtsdatum/-ort: 09. 08. 1976 in Jena
Familienstand: ledig
Staatsangehörigkeit: deutsch

Bildungsweg:

- 1983 – 1991 Besuch einer Polytechnischen Oberschule in Jena
- 1991 – 1995 Besuch des Musischen Gymnasiums, Landesschule Pforta (Abitur)
- 1995 – 2000 Studium der Ernährungswissenschaften an der Friedrich-Schiller-Universität in Jena
11. 12. 2000 Abschluss als Diplom-Trophologin mit der Diplomarbeit zu dem Thema: Der Einfluss von Grapefruit auf das Krankheitsbild der Parodontitis marginalis.
- 04/2001 Annahme als Doktorandin an der Biologisch-Pharmazeutischen Fakultät der Friedrich-Schiller-Universität in Jena mit dem Thema: Die Rolle der Ernährung und einzelner Ernährungsfaktoren bei der Parodontitis.

beruflicher Werdegang:

03. 01. 2000-30. 09. 2000 **wissenschaftliche Hilfskraft** im Labor der Zahnklinik für Konservierende Zahnheilkunde am Klinikum der FSU Jena
- PCR
 - in vitro Phagozytose
 - Plasma-/Serumanalyse (Vitamin C)
01. 11. 2000-30. 04. 2002 **wiss. Mitarbeiterin** im Labor der Zahnklinik für Konservierende Zahnheilkunde an der FSU Jena
- Kultur anaerober und aerober Bakterienstämme
 - Zellkultur (Fibroblasten, Endothelzellen, Keratinozyten)
 - Plasma-/Serumanalyse (oxLDL, Antioxidative Kapazität)
01. 06. 2002-30. 09. 2003 **wiss. Mitarbeiterin** im Labor der Zahnklinik für Konservierende Zahnheilkunde an der FSU Jena

- Durchflusszytometrie (Immunstatus, Apoptose, Phagozytose)
- Mikroskopie (Durchlicht/Fluoreszenz)

17. 03. 2004-31. 05. 2004 **wiss. Mitarbeiterin** im Labor der Klinik für Innere Medizin Bereich Kardiologie an der FSU Jena

- In-situ-Hybridisierung (Nachweis der MLC-2)
- Klonierung
- Gefrierschnitte

01.01.2005-31.03.2005 **wiss. Mitarbeiterin** im Labor der Zahnklinik für Konservierende Zahnheilkunde an der FSU Jena

Weiterbildungen:

02/2001 Teilnahme an einem wissenschaftlichen Grundkurs zur Durchflusszytometrie bei der Fa. Becton Dickenson in Heidelberg

Tagungsteilnahmen:

05/2001 Gemeinschaftstagung der „British Dental Hygienists Association“, „British Society of Periodontology“ und „International Academy of Periodontology“ in Glasgow; Posterpräsentation. 1. Preis beim Posterwettbewerb

06/2001 IADR (International Association for Dental Research) -Tagung in Chiba/Japan; Führung einer Diskussionsrunde zum Thema: Grapefruit influences the clinical and paraclinical parameters in periodontitis patients.

05/2002 „The 7th European Oral Microbiology Workshop“ in Jena; Vortrag zum Thema: Photodynamic therapy (PDT) by different photosensitizers influence the survival rate of periodontopathogenic bacteria in vitro and in vivo.

05/2002 5. Deutsche Nikotin-Konferenz der Deutschen Gesellschaft für Nikotinforschung in Erfurt; Vortrag zum Thema: Erniedrigte Vitamin C-Plasmaspiegel als zusätzliches Parodontitisrisiko bei Rauchern.

09/2002 Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Parodontologie in Baden-Baden; Poster: Hemmung der zytotoxischen Wirkung von Porphyromonas gingivalis durch Vitamin C.

09/2002 „Pan European Festival of Oral Science conference“ in Cardiff; Poster: Inhibition of P. gingivalis-cytotoxic effects by ascorbic acid.

10/2002 5. Friedrich-Ludwig-Hesse-Symposium in Leipzig; Vortrag: Grapefruit beeinflusst klinische und paraklinische Faktoren bei Patienten mit Parodontitis marginalis.

- 11/2002 Thüringer Zahnärztetag in Erfurt; Posterbeiträge: Grapefruit verbessert die Entzündungsparameter bei Parodontitispatienten/Hemmung der zytotoxischen Wirkung von *P. gingivalis* durch Ascorbinsäure.
- 03/2004 82. IADR-Tagung in Honolulu/Hawaii; Posterbeiträge: Fruit intake and vitamin C status in periodontal diseased subjects/ Superoxide release and apoptosis of gingival fibroblasts after infection.
- 09/2004 Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Parodontologie in Dresden, Poster: Frischobstverzehr und Vitamin C-Status bei Parodontitispatienten im Vergleich zu gesunden Probanden.

Publikationen

- H. Staudte**, B.W. Sigusch, G. Klinger, E. Glockmann
Grapefruit beeinflusst klinische und paraklinische Faktoren bei Patienten mit Parodontitis marginalis. *ZWR - Das deutsche Zahnärzteblatt* 1-2; 2002: 33-37
- H. Staudte**, B.W. Sigusch, G. Klinger, E. Glockmann
Grapefruit verbessert den Entzündungszustand bei Parodontitis.
Thüringer Zahnärzte Blatt 5; 2002: 23-26
- H. Staudte**, B.W. Sigusch, G. Klinger, E. Glockmann
Erniedrigte Vitamin C-Plasmaspiegel als zusätzliches Parodontitisrisiko bei Rauchern.
In: *Rauchen und Nierenerkrankungen, Rauchen und orale Gesundheit -Vorträge der 5. Deutschen Nikotinkonferenz in Erfurt*. Verlag PERFUSION, Nürnberg 2002: 99-103
- H. Staudte**, B.W. Sigusch, R. Bitsch, E. Glockmann
Die Bedeutung der Ernährung für die orale Gesundheit.
ZWR - Das deutsche Zahnärzteblatt 9; 2003: 368-376
- H. Staudte**, B.W. Sigusch, E. Glockmann
Hemmung der zytotoxischen Wirkung von *P. gingivalis* durch Ascorbinsäure.
DZZ – Deutsche Zahnärztliche Zeitschrift 5; 2003: 295-297
- B.W. Sigusch, **H. Staudte**, A. Pfitzner, A. Güntsch
Die Rolle gesunder Ernährung bei entzündlichen Parodontalerkrankungen.
Parodontologie 14; 2003: 383-387
- H. Staudte**, B.W. Sigusch, R. Bitsch, E. Glockmann
Ernährung – Zusammenhänge zur Karies und Parodontitis.
Thüringer Zahnärzte Blatt 5; 2004: 23-26
- H. Staudte**, B.W. Sigusch, E. Glockmann
Grapefruit consumption improves vitamin C status in periodontitis patients.
British Dental Journal (im Druck)
- H. Staudte**, B.W. Sigusch, E. Glockmann
Verminderter Frischobstverzehr und Vitamin C-Status bei Parodontitispatienten.
DZZ-Deutsche Zahnärztliche Zeitschrift (im Druck)

H. Staudte, B.W. Sigusch, R. Bitsch, E. Glockmann
Übergewicht – ein Risikofaktor für die Entstehung der Parodontitis?
ZWR – Das deutsche Zahnärzteblatt (im Druck)

Sprachkenntnisse: Englisch, Russisch, kleines Latinum

Besondere Fähigkeiten: Violinen-, Klavier- und Gesangsausbildung

Henrike Staudte