

**sRAGE in Relation zu schwerer Parodontitis sowie als Prädiktor für neue  
kardiovaskuläre Ereignisse unter Patienten mit Koronarer Herzerkrankung  
- eine dreijährige Follow-up Studie**

Dissertation zur Erlangung des akademischen Grades  
Doktor der Zahnmedizin (Dr. med. dent.)

vorgelegt  
der Medizinischen Fakultät  
der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg

von Ulrike Triebert  
geboren am 25.08.1992 in Schlema

Betreuer\*innen:

1. apl. Prof. Dr. med. dent. Stefan Reichert
2. apl. Prof. Dr. rer. nat., rer. medic. habil. Susanne Schulz

Gutachter:

1. Prof. Dr. rer. nat. Andreas Simm
2. Univ.-Prof. Dr. med. habil. Dr. h. c. Holger Jentsch (Universität Leipzig)

05.07.2022

28.11.2022

**Meinen Eltern gewidmet**

## Referat

Trotz deutlicher Fortschritte in der Gesundheitsversorgung in den letzten Jahren sind kardiovaskuläre Erkrankungen weiterhin die führende Todesursache in den westlichen Industriestaaten. Deshalb kommt besonders der Prävention rekurrierender kardialer Ereignisse bei Patienten mit KHK durch die Identifikation kardiovaskulärer Risikofaktoren eine bedeutende Rolle in der kardialen Rehabilitation zu. Vor dem Hintergrund, dass eine Erhöhung an chronisch-systemischer Inflammation die Atherogenese begünstigt, steht seit einigen Jahren die Parodontitis als Risikofaktor für KHK in der Diskussion. Obwohl die zugrundeliegenden Pathomechanismen zwischen den beiden Krankheitsbildern noch nicht abschließend geklärt sind, kommt der proinflammatorische Receptor for advanced glycation endproducts (RAGE) als verbindender Mediator in Betracht. Die lösliche Isoform soluble RAGE (sRAGE) hemmt als kompetitiver Inhibitor die RAGE-vermittelte Signaltransduktion, weshalb wir in dieser Studie den Wert von sRAGE als möglichen Biomarker für das kardiovaskuläre Outcome sowie den parodontalen Schweregrad unter Patienten mit KHK untersuchten. Dazu wurden unter 933 stationären Patienten mit angiografisch nachgewiesener KHK (Altersmedian 68,8 Jahre, 73,7 % Männer) sowohl der dentale Status dokumentiert als auch internistische Untersuchungen durchgeführt. Die sRAGE-Serumkonzentration wurde mittels eines ELISA-Tests bestimmt und anschließend in Quartile kategorisiert. Nach einem dreijährigen Beobachtungszeitraum wurde zudem die Inzidenz des kombinierten Endpunktes (Herzinfarkt, kardialer Tod, Schlaganfall/TIA, Tod infolge Schlaganfalls) ermittelt. Dabei trat bei 142 Studienteilnehmern (16,03 %) ein sekundäres kardiovaskuläres Ereignis ein. Insgesamt wiesen Probanden mit einer schweren Parodontitis tendenziell geringere sRAGE-Spiegel auf als Patienten mit keiner oder leichter Parodontitis ( $p = 0,125$ ). Nach binärer logistischer Regression unter Einbeziehung etablierter Kofaktoren für Parodontitis waren höhere sRAGE-Konzentrationen (Quartil 4) mit einer signifikant verminderten adjustierten Odds Ratio ( $OR = 0,53$ ;  $p = 0,002$ ) für schwere Parodontitis assoziiert. Demgegenüber zeigte sich eine direkte Assoziation von sRAGE zur Inzidenz neuer kardiovaskulärer Ereignisse. So konnten bei Patienten, die den kEP erreicht hatten, signifikant höhere sRAGE-Werte nachgewiesen werden ( $p < 0,0001$ ). Nach Cox-Regression war ein hoher sRAGE-Spiegel (Quartil 4 entsprach  $> 842,39$  pg/ml) unter Einbeziehung weiterer kardialer Risikofaktoren mit einer signifikant erhöhten Hazard Ratio für die Inzidenz neuer kardiovaskulärer Ereignisse verbunden ( $HR = 1,67$ ). Resümierend können niedrige sRAGE-Spiegel ein Risikoindikator für schwere Parodontitis sein, wohingegen hohe sRAGE-Niveaus einen unabhängigen Prädiktor für rekurrierende kardiovaskuläre Events unter Patienten mit KHK darstellen können.

Triebert, Ulrike: sRAGE in Relation zu schwerer Parodontitis und als Prädiktor für neue kardiovaskuläre Ereignisse unter Patienten mit Koronarer Herzerkrankung - eine dreijährige Follow-up Studie, Halle (Saale), Univ., Med. Fak., Diss., 80 Seiten, 2022

# Inhalt

<b>1</b>	<b>EINLEITUNG</b>	<b>1</b>
1.1	Einführung	1
1.2	Parodontitis	2
1.2.1	Ätiologie	2
1.2.2	Bakterielle Besiedlung	4
1.2.3	Pathogenese	6
1.3	Koronare Herzerkrankung	7
1.3.1	Ätiologie	8
1.3.2	Pathogenese	9
1.3.3	Assoziation von Parodontitis und KHK	11
1.4	Der Receptor for advanced glycation endproducts (RAGE)	12
1.4.1	Struktur	13
1.4.2	Ligandenbindung	13
1.4.3	Signaltransduktion	14
1.4.4	Isoformen	15
1.4.5	Assoziation von RAGE und sRAGE	16
1.4.6	Assoziation von RAGE und sRAGE zu KHK	17
1.4.7	Assoziation von RAGE und sRAGE zu Parodontitis	19
<b>2</b>	<b>ZIELSTELLUNG</b>	<b>19</b>
2.1	Hauptziele	19
2.2	Nebenziele	20
<b>3</b>	<b>MATERIAL UND METHODEN</b>	<b>21</b>
3.1	Studiendesign	21
3.2	Patientenkollektiv	21
3.3	Anamnese	22
3.3.1	Zahnmedizinische Anamnese	22
3.3.2	Allgemeinmedizinische Anamnese	22
3.4	Klinische Untersuchung	22
3.4.1	Zahnmedizinische Untersuchung	22
3.4.2	Mikrobiologische Untersuchung	24
3.4.3	Allgemeinmedizinische Untersuchung	25
3.5	Bestimmung der sRAGE-Konzentration	25
3.5.1	Prinzip des Sandwich-ELISA-Tests	25
3.5.2	Durchführung und Auswertung des ELISA-Tests	26
3.6	Follow-Up	29
3.7	Statistik	29

<b>4</b>	<b>ERGEBNISSE .....</b>	<b>30</b>
4.1	Auswertung der Querschnittsuntersuchungen in Bezug zur parodontalen Diagnose .	30
4.1.1	Demografische Parameter in Abhängigkeit der parodontalen Diagnose .....	30
4.1.3	Zahnärztlich-klinische Parameter.....	30
4.1.4	Parodontopathogene Bakterien .....	31
4.1.5	Anamnestisch erfasste allgemeinmedizinische Vorerkrankungen .....	32
4.1.6	Biochemisch-serologische Parameter .....	32
4.2	Auswertung der Querschnittsuntersuchung in Bezug zur sRAGE-Konzentration.....	33
4.2.1	sRAGE und Assoziation zum Geschlecht.....	34
4.2.2	sRAGE in Assoziation zur parodontalen Diagnose .....	34
4.2.3	sRAGE in Assoziation zu parodontopathogenen Bakterien.....	36
4.2.4	sRAGE in Assoziation zum kombinierten Endpunkt.....	37
4.2.5	sRAGE in Assoziation zu bekannten Confoundern der KHK / Parodontitis .....	40
4.2.5.1	sRAGE in Assoziation zu Diabetes mellitus.....	40
4.2.6.1	sRAGE in Assoziation zum Rauchen.....	41
4.2.7.1	sRAGE in Assoziation zum C-reaktiven Protein .....	41
4.2.7.2	sRAGE in Assoziation zu Interleukin-6.....	43
4.3	Zusammenfassung der Ergebnisse .....	44
<b>5</b>	<b>DISKUSSION .....</b>	<b>45</b>
5.1	Diskussion der Methode.....	45
5.1.1	Diskussion des Studiendesigns.....	45
5.1.2	Diskussion der Untersuchungsmethode .....	46
5.1.3	Diskussion der sRAGE-Messung.....	48
5.2	Diskussion der Ergebnisse in Bezug zur parodontalen Diagnose .....	49
5.2.1	Assoziation demografischer Parameter zur parodontalen Diagnose .....	49
5.2.2	Assoziation zahnärztlich-klinischer Parameter zur parodontalen Diagnose .....	50
5.2.3	Assoziation anamnestisch bekannter Vorerkrankungen zur parodontalen Diagnose.....	51
5.2.4	Assoziation biochemisch-serologische Parameter zur parodontalen Diagnose ..	52
5.3	Diskussion der Ergebnisse in Bezug zur sRAGE-Konzentration .....	52
5.3.1	sRAGE in Assoziation zum Geschlecht.....	52
5.3.2	sRAGE in Assoziation zu Parodontitis .....	53
5.3.3	sRAGE in Assoziation zu parodontopathogenen Bakterien.....	54
5.3.4	sRAGE in Assoziation zum kombinierten Endpunkt.....	55
5.3.5	sRAGE in Assoziation zu bekannten Confoundern .....	57
5.3.5.1	sRAGE in Assoziation zu Diabetes mellitus.....	57
5.3.5.2	sRAGE in Assoziation zum Rauchen.....	58

5.3.5.3	sRAGE in Assoziation zum CRP und IL-6.....	59
5.4	Schlussfolgerung und Ausblick.....	60
<b>6</b>	<b>ZUSAMMENFASSUNG .....</b>	<b>62</b>
<b>7</b>	<b>LITERATURVERZEICHNIS.....</b>	<b>64</b>
<b>8</b>	<b>THESEN .....</b>	<b>79</b>
	<b>ANHANG</b>	
	<b>EIDESSTATTLICHE ERKLÄRUNGEN</b>	
	<b>DANKSAGUNG</b>	

## Abkürzungsverzeichnis

<i>A.a.</i>	<i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i>
A $\beta$	Beta-Amyloid
ADAM10	A Disintegrin and metalloproteinase domain-containing protein 10
AGEs	Advanced Glycation Endproducts
ApoE	Apolipoprotein E
ARIC-Studie	Atherosclerosis Risk In Communities-Studie
AS	Aminosäure
BMI	Body-Mass-Index
BOP	„Bleeding on Probing“ (Sondierblutung)
CAL	„clinical attachment loss“ (klinischer Attachmentverlust)
CDC/AAP	Centers for Disease Control and Prevention /American Academy of Periodontology
CPI	Community Periodontal Index
cRAGE	cleaved Receptor for Advanced Glycation Endproducts
CRP	C-reaktives Protein
DAMP	„damage-associated molecular patterns“ (Schaden-assoziiertes molekulares Muster)
DMF/T	Decayed, Missing, Filled - Tooth
DMS	Deutsche Mundgesundheitsstudie
DNA	“desoxyribonucleic acid” (Desoxyribonukleinsäure)
dnRAGE	dominant-negativer Receptor for Advanced Glycation Endproducts
ELISA	Enzyme-Linked Immunosorbent Assay
esRAGE	endogenously-secreted RAGE
EZR	Extrazellulärraum
FDA	US Food and Drug Administration
flRAGE	full-length Receptor for Advanced Glycation Endproducts
GLUT-4	Glukosetransporter-4

HDL	High Density Lipoprotein
HMGB1	High-Mobility-Group-Protein B1
HR	Hazard ratio
IgG2	Immunglobulin G2
IL	Interleukin
IZR	Intrazellulärraum
kEP	kombinierter Endpunkt
KHK	Koronare Herzerkrankung
LDL	Low Density Lipoprotein
LPS	Lipopolysaccharide
MAPK	Mitogenaktivierte Proteinkinase
MD	Median
MMP	Matrixmetalloproteinase
mRNA	messenger-Ribonukleinsäure
MW	Mittelwert
NHANES III	National Health and Nutrition Examination Survey
NF-κB	„nuclear factor kappa B“ (Nukleärer Transkriptionsfaktor kappa B)
NO	„nitric oxide“ – Stickstoffmonoxid
ntRAGE	n-truncated Receptor for Advanced Glycation Endproducts
OPG	Osteoprotegerin
OR	Odds ratio
p	Signifikanz
PAAP	Platelet aggregation-associated protein
PAMP	„pathogen-associated molecular patterns“ (Pathogen-assoziierte molekulare Muster)
pAVK	periphere arterielle Verschlusskrankheit
PCI	„percutaneous coronary intervention“ (perkutane koronare Intervention)
PDGF	Platelet-derived growth factor



PGE <sub>2</sub>	Prostaglandin E <sub>2</sub>
PMN	polymorphkernige neutrophile Granulozyten
PI	Plaqueindex
Q	Quartil
RAGE	Receptor for Advanced Glycation Endproducts
RANK	Rezeptor-Aktivator des nukleären Faktors $\kappa$ B
RANKL	Ligand des Rezeptor-Aktivators des nukleären Faktors $\kappa$ B
ROS	„reactive oxygen species“ (Reaktive Sauerstoffspezies)
SCTI	Standardized Data Collection for Cardiovascular Trials Initiative
SD	„Standard deviation“ (Standardabweichung)
sRAGE	soluble Receptor for Advanced Glycation Endproducts
ST	Sondiertiefe
TIA	Transitorische ischämische Attacke
TNF- $\alpha$	Tumor-Nekrose-Faktor $\alpha$
TNT-Studie	Treating to New Targets-Studie
TLR	Toll-like-Rezeptor
VCAM	„vascular cell adhesion molecule“ (Vaskuläres Zelladhäsionsmolekül)
WHO	World Health Organisation

# 1 Einleitung

## 1.1 Einführung

Seit vielen Jahren führen die Koronare Herzerkrankung (KHK) und der Myokardinfarkt die Todesursachenstatistiken in den westlichen Industrienationen an. Nach Angaben des Statistischen Bundesamtes waren im Jahr 2019 20,8 % aller Todesfälle in Deutschland auf Erkrankungen des Herz-Kreislauf-Systems zurückzuführen, von denen wiederum 7,8 % auf eine chronische ischämische Herzkrankheit und 4,7 % auf einen akuten Myokardinfarkt entfielen (Deutsche Herzstiftung e.V. 2021). Die KHK beruht auf atherosklerotischen Stenosen der Herzkranzarterien, die eine Minderperfusion des Myokards bewirken. Patienten mit bereits bekannter KHK sind dabei einem hohen Risiko eines rekurrierenden kardiovaskulären Ereignisses ausgesetzt. Die Identifikation geeigneter Risikomarker stellt deshalb einen wichtigen Aspekt in der Sekundärprävention dar. Da die klassischen Risikomarker mit zunehmendem Alter jedoch an prädiktivem Wert verlieren, gewinnt die Suche nach alternativen prognostischen Biomarkern zunehmend an Bedeutung (Uthoff et al. 2010).

Ende der 80er Jahre wurden erstmals orale Infektionen, allen voran die Parodontitis, als Risikofaktor für KHK ins Spiel gebracht (Mattila et al. 1989). Die „Volkskrankheit der Mundhöhle“ führt über die bakterielle Destruktion von Alveolarknochen und Bindegewebe zu einer chronisch-entzündlichen Immunreaktion. Die Tatsache, dass chronisch-inflammatorische Prozesse Atherosklerose begünstigen können (Willerson und Ridker 2004), erklärt, warum verschiedene Studien ein erhöhtes KHK-Risiko bei Patienten mit Parodontitis feststellen konnten (Khader et al. 2004, Xu et al. 2017). Allerdings ist es auch möglich, dass die Assoziation beider Erkrankungen auf die Existenz gemeinsamer Risikofaktoren (Alter, Rauchen, Diabetes mellitus, männliches Geschlecht) zurückzuführen ist.

Ein zentraler Mediator chronischer Entzündungsprozesse ist der erstmals 1992 beschriebene Membranrezeptor RAGE, der zur Superfamilie der Immunglobuline gehört. Durch die Bindung unterschiedlicher Liganden führt er zu einer Aktivierung des Nukleären Transkriptionsfaktors kappa B (NF- $\kappa$ B), wodurch es zu einer proinflammatorischen Genaktivierung sowie einer Zunahme an oxidativem Stress kommt. So bewirkt die Interaktion des Rezeptors mit den namensgebenden Advanced Glycation Endproducts (AGEs) die Expression verschiedener Adhäsionsmoleküle und entzündungsfördernder Zytokine und ist auf diese Weise in die Pathophysiologie kardiovaskulärer Erkrankungen involviert (Basta 2008). Soluble RAGE (sRAGE) ist eine zirkulierende Isoform von RAGE, die nur aus der extrazellulären Rezeptordomäne besteht und im Sinne einer kompetitiven Inhibition ebenfalls RAGE-Liganden binden kann. Dies führt zur Hemmung der RAGE-vermittelten Signaltransduktion, weshalb sRAGE eine protektive anti-inflammatorische Rolle zugeschrieben wird. Tatsächlich konnten Untersuchungen zeigen, dass die

Verabreichung von sRAGE an diabetische Apolipoprotein E (ApoE)-Knockout-Mäuse die Progression atherosklerotischer Läsionen signifikant reduzierte (Bucciarelli et al. 2002). Zudem wiesen Mäuse, die mit parodontopathogenen Keimen infiziert worden waren, nach Zugabe von sRAGE einen verminderten alveolären Knochenabbau auf (Lalla et al. 2000).

Aufgrund des vermuteten anti-inflammatorischen Potenzials von sRAGE war das Hauptziel dieser Studie, den Wert von sRAGE als prognostischen Biomarker für das Auftreten kardiovaskulärer Folgeereignisse sowie den parodontalen Schweregrad unter Patienten mit KHK zu evaluieren. Dabei wurde auch ein möglicher Einfluss gemeinsamer Risikofaktoren auf die sRAGE-Konzentration berücksichtigt.

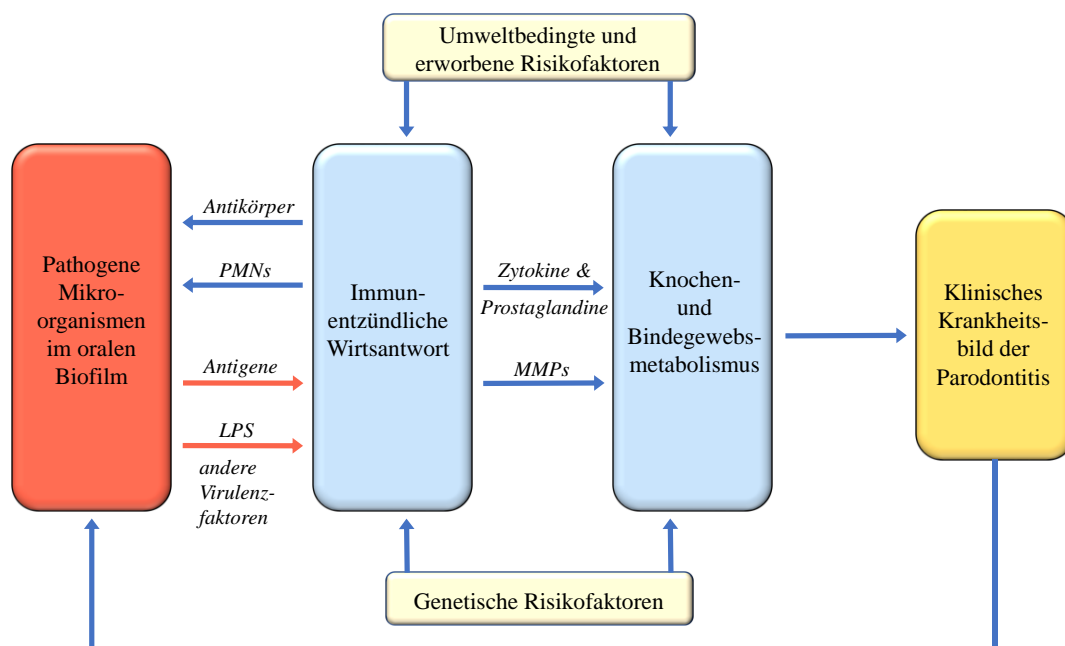
## **1.2 Parodontitis**

Die marginale Parodontitis bezeichnet eine multifaktoriell bedingte, chronisch-entzündliche Erkrankung des Zahnhalteapparates, die mit einem bakteriellen Biofilm assoziiert ist. Sie ist durch die progrediente Destruktion des Parodonts gekennzeichnet, was sich klinisch sowohl im Abbau des alveolären Knochens als auch im Verlust des parodontalen Attachments manifestiert. Die Erkrankung entsteht infolge komplexer Interaktionen zwischen einem dysbiotischen Biofilm und der körpereigenen Immunantwort, wobei Letztere über die Freisetzung von inflammatorischen Mediatoren und Proteasen die Destruktion parodontaler Strukturen verursacht (Meyle und Chapple 2015). Die schwere Parodontitis war im Jahr 2010 mit einer Prävalenz von 10,8 % (743 Mio. Menschen) die sechsthäufigste Erkrankung weltweit (Kassebaum et al. 2014). Im Rahmen der fünften Deutschen Mundgesundheitsstudie (DMS V), die im August 2016 veröffentlicht wurde, wiesen 19,8 % der jüngeren Senioren (65 – 74 Jahre) und 44,5 % der älteren Senioren (75 – 100 Jahre) eine schwere Parodontitis auf (Jordan und Micheelis 2016).

### **1.2.1 Ätiologie**

Die entzündlichen Parodontopathien entstehen auf Grundlage eines multifaktoriellen Ursachenkomplexes, in dessen Zentrum die Besiedlung der Zahnwurzeloberfläche durch einen bakteriellen Biofilm steht. Den ersten experimentellen Nachweis zum Zusammenhang zwischen der Plaqueakkumulation und einer daraus resultierenden Gingivitis konnten 1965 Loe et al. erbringen (Loe et al. 1965). Nach der auf dieser Studie basierenden *unspezifischen Plaquehypothese* ging man davon aus, dass allein die *Quantität* der Plaque und der damit einhergehenden bakteriellen Belastung über die parodontale Destruktion bestimmt. Ein anderes Bild zeigten jedoch Untersuchungen von sri-lankischen Plantagenarbeitern, denen weder orale Hygienemaßnahmen noch zahnärztliche Behandlung zugänglich waren. Obwohl bei allen Arbeitern massive Plaquebeläge festgestellt wurden, entwickelten lediglich 8% eine schwere Parodontitis, wohingegen 11% keine Anzeichen einer progredienten Parodontalerkrankung aufwiesen (Loe et al. 1986). Dies könnte für die Existenz spezieller genetischer Risiko- bzw. Resistenzfaktoren sprechen, die die Pathogenese der Parodontitis beeinflussen können. Nach Slots et al. (Slots 1979) kommt es im Zuge einer

subgingivalen Entzündung zu einem sogenannten Bakterienshift. Während im gesunden gingivalen Sulkus grampositive Mikroorganismen dominieren (85%), wird das Taschenmilieu von erkrankten Patienten vor allem von gram-negativen anaeroben Bakterien (75%) bestimmt. Die daraus abgeleitete *spezifische Plaque-hypothese* machte *qualitative* Veränderungen innerhalb der Plaque für das subgingivale Entzündungsgeschehen verantwortlich. Nachfolgende Studien ließen jedoch Zweifel an dieser Theorie aufkommen. Dies resultierte zum einen aus der Beobachtung, dass Patienten, die mit parodontopathogenen Keimen infiziert waren, nicht in jedem Fall erkrankten und zum anderen der Erkenntnis, dass sich das bakterielle Taschenspektrum sogar innerhalb eines Organismus unterscheiden kann (Socransky und Haffajee 1992). Nach dem heutigen Kenntnisstand ist das alleinige Vorliegen von pathogenen Bakterien nicht ausreichend, um eine Parodontitis auszulösen, da krankmachende Erregerstämme in geringer Anzahl auch bei parodontal gesunden Patienten nachweisbar sind (Ximénez-Fyvie et al. 2000). Vielmehr wird die Erkrankung als opportunistische Infektion angesehen (*opportunistische Plaquehypothese*), bei der neben der bakteriellen Besiedelung und der daraufhin aktivierten körpereigenen Immunabwehr zusätzlich verschiedene endogene und exogene Faktoren zum Entstehungsgeschehen beitragen (s. Abb.1).



**Abb 1.:** Pathogenese der Parodontitis (adaptiert nach Page und Kornman 1997)  
 PMNs: Polymorphkernige neutrophile Granulozyten, LPS: Lipopolysaccharide,  
 MMPs: Matrixmetalloproteinasen

So sind unter anderem Alter, männliches Geschlecht und chronischer Nikotinabusus als potente Risikofaktoren für die Parodontitis bekannt (Palmer et al. 2005, Hajishengallis 2014, Shiau und Reynolds 2010). Daneben haben auch systemische Erkrankungen einen großen Einfluss auf den parodontalen Gesundheitszustand, wobei seit ein paar Jahren vor allem die bidirektionale Wechselbeziehung von Diabetes mellitus und Parodontitis im Fokus der Forschung steht. In einer Studie von Mealey und Ocampo konnte bei Diabetikern ein etwa dreifach höheres Parodontitisrisiko

im Vergleich zu gesunden Patienten festgestellt werden (Mealey und Ocampo 2007). Ein wichtiges Bindeglied zwischen den beiden Erkrankungen stellen *Advanced Glycation Endproducts* (AGEs) dar, welche im hyperglykämischen Milieu des Diabetes mellitus durch vermehrte nicht-enzymatische Glykierung von Proteinen und Lipiden akkumulieren und entweder auf direktem Wege oder über die Bindung an ihren Rezeptor RAGE das Entzündungsgeschehen innerhalb des Zahnhalteapparates beeinflussen können (Taylor et al. 2013). Nicht zuletzt macht die individuelle genetische Prädisposition einen erheblichen Anteil des Gesamtrisikos der Parodontitis aus, wobei der Beitrag der Genetik mittlerweile auf fast 50 % geschätzt wird (Michalowicz et al. 1991).

### **1.2.2 Bakterielle Besiedlung**

Man schätzt, dass sich das orale Mikrobiom aus etwa 700 verschiedenen Bakterienspezies zusammensetzt (Arweiler und Netuschil 2016), von denen jedoch rund die Hälfte bisher noch nicht kultiviert werden konnte und nur ein Teil als parodontopathogen eingestuft wird (Socransky und Haffajee 1994). Die Mikroorganismen liegen in der Mundhöhle entweder ungebunden in einer planktonischen Phase oder innerhalb eines der Zahnoberfläche anhaftenden dentalen Biofilms, der sogenannten Plaque, vor (Marsh 2005). Diese besteht zu fast 90 % aus einer von den Bakterien selbst sezernierten Extrazellulärmatrix, bestehend aus Exopolysacchariden, in die bakterielle Mikrokolonien eingebettet sind. Diese sind durch wasserführende Poren vernetzt und dadurch in der Lage, metabolische Kooperationen untereinander einzugehen sowie genetische Informationen auszutauschen. Die Organisation im Biofilm schützt die Mikroorganismen vor äußeren Einflüssen, wodurch die Pathogenität der Bakterien in der Plaque drastisch gesteigert sein kann. So ist die Resistenz gegenüber Antibiotika 1000-1500-mal höher als die der planktonischen Phase (Arweiler und Netuschil 2016).

Während sich die supragingivale Plaque zunächst vor allem aus grampositiven Kokken und Stäbchen zusammensetzt, dominieren im sauerstoffarmen Milieu der subgingivalen Tasche gramnegative Anaerobier das pathologische Geschehen (Aruni et al. 2015). Bis heute haben sich Studien zur Ätiologie der Parodontitis auf etwa 40 Bakterienspezies konzentriert (Socransky et al. 2004, Haffajee et al. 2005). Socransky et al. konnten 1998 zeigen, dass bestimmte Parodontopathogene häufig gemeinsam in subgingivalen Plaqueproben auftreten und teilten die koaggregierenden Erreger daraufhin, wie in Abbildung 2 dargestellt, in farbcodierte Komplexe ein (Socransky et al. 1998). Die überwiegend gram-positiven Vertreter des blauen (Actinomyceten), gelben (Streptokokken) und violetten Komplexes gelten hierbei als Frühbesiedler (Socransky und Haffajee 2002). Sie weisen zwar lediglich ein schwach pathogenes Potenzial auf, sind jedoch für die Biofilmentstehung von essenzieller Bedeutung, indem sie einerseits mittels unspezifischer physikochemischer Wechselwirkungen wie hydrophoben Interaktionen und Van-der-Waals-Kräften sowie andererseits über spezifische extrazelluläre Proteinkomponenten der Bakterien, den sogenannten Adhäsinen, an der Pellikel adhären (Teughels et al. 2006). Auf diese Weise schaffen

die Frühkolonisierer die Grundlage für die Besiedelung des Sulkus mit Erregern höherer Pathogenität.

Ein Weg der bakteriellen Kolonisation wird geebnet durch die moderat pathogenen Vertreter des grünen Komplexes und gipfelt in der Besiedelung des Sulkus mit dem hochpathogenen *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (A.a.) Serotyp b. Dieser gilt als Leitkeim der aggressiven juvenilen Parodontitis und besitzt eine Reihe von Virulenzfaktoren (Fives-Taylor et al. 1999). Die hohe Pathogenität von A.a. ist dabei vor allem auf die Produktion von Leukotoxinen zurückzuführen, die bei menschlichen Leukozyten mittels Porenbildung die Zellyse herbeiführen (Åberg et al. 2015, Kachlany 2010). Die Vertreter des orangenen Komplexes zeichnen sich durch eine moderate bis starke Pathogenität aus und fungieren als sogenannte „Brückenkeime“ als Wegbereiter für die Bakterien des stark pathogenen roten Komplexes. So kann z.B. *Prevotella intermedia* den Sauerstoffgehalt in der Tasche durch die aerobe Metabolisierung von Glucose reduzieren, womit den streng anaeroben Keimen des roten Komplexes eine ideale Lebensgrundlage geschaffen wird (Takahashi und Yamada 2000). *Fusobacterium nucleatum* wiederum ist in der Lage, eine Vielzahl an Koaggregationsbrücken auszubilden und stellt damit ein zentrales Verbindungsmitglied zwischen Frühkolonisierern und Sekundärbesiedlern dar (Kolenbrander und London 1993). Der rote Komplex umfasst die gramnegativen, obligaten Anaerobier *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia* und *Treponema denticola*, die sich durch ein hohes gewebedestruierendes Potenzial auszeichnen. Socransky et al. konnten 1998 nachweisen, dass die Erreger des roten Komplexes die höchste Korrelation zu den klinischen Parodontitisparametern Sondiertiefe und -blutung aufweisen. Ähnlich wie A.a. verfügen sie über eine breite Ausstattung mit Virulenzfaktoren, wobei ihr gewebeerstörendes Potenzial vor allem auf die Produktion von Proteasen zurückzuführen ist (Holt und Ebersole 2005). So produziert *P. gingivalis* unter anderem Gingipaine, die als Cysteinproteasen die Migration des Bakteriums ins Parodontalgewebe ermöglichen, indem sie extrazelluläre Matrix-Proteine wie Laminin, Fibronectin und Typ IV Kollagen abbauen (Kadowaki et al. 2004, Andrian et al. 2004). Auch für *T. forsythia* ist ein proteolytisches Enzym bekannt, das in der Lage ist, das antimikrobielle Peptid LL-37 zu spalten (Kozziel et al. 2010). *P. gingivalis* und *A. actinomycetemcomitans* sind zudem in der Lage in gingivale Fibroblasten einzudringen (Arirachakaran et al. 2012, Irshad et al. 2012). Dieser Mechanismus dient einerseits der Abschirmung der Bakterien vor der Immunabwehr des Wirts und macht sie außerdem einer instrumentellen Parodontaltherapie schwer zugänglich. Diese muss daher meist durch eine adjuvante Antibiotikatherapie unterstützt werden.

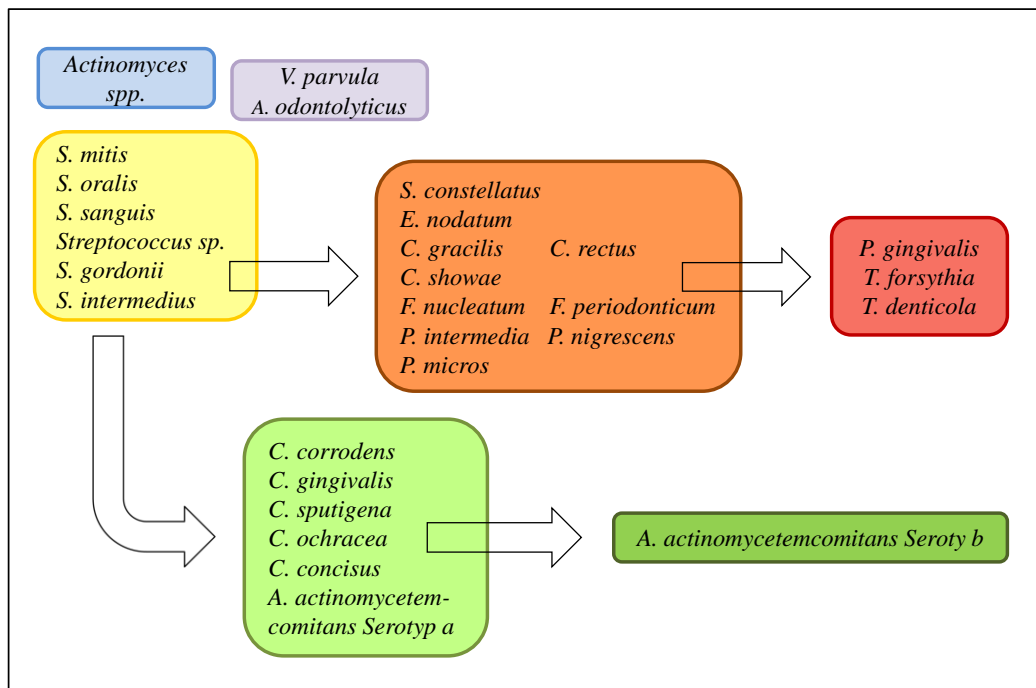


Abb 2.: Bakterienkomplexe in der Mundhöhle (modifiziert nach Socransky et al. 1998)

### 1.2.3 Pathogenese

Die Entstehung von plaquebedingten Parodontopathien wurde von Page und Schroeder in vier Stadien eingeteilt: die initiale, frühe und etablierte Läsion im Sinne einer Gingivitis und die fortgeschrittene Läsion als manifestierte Parodontitis (Page und Schroeder 1976). Dabei können alle Läsionstypen nebeneinander in einem Gebiss vorliegen. Bei ungestörter Plaqueakkumulation auf der Zahnoberfläche entwickelt sich innerhalb von vier Tagen aus gesundem Gingivalgewebe die initiale Läsion, welche vollständig reversibel ist. Der Wirt antwortet auf den mikrobiellen Angriff zunächst mit einer schnell ablaufenden unspezifischen Immunantwort. Diese wird zunächst durch die Freisetzung bakterieller Metaboliten aus der subgingivalen Plaque stimuliert, zu denen unter anderem die Butan- und Propansäure zählen, sowie die aus der äußeren Zellmembran gramnegativer Bakterien stammenden Lipopolysaccharide (LPS) (Wilson et al. 1996). Saumepithelzellen, die bei intakter gingivaler Epithelbarriere unter anderem antimikrobielle Peptide (sog. humane Beta-Defensine) produzieren (Yamamoto und Aizawa 2021), werden nun zur Sezernierung verschiedener proinflammatorischer Mediatoren, wie Interleukin-1 (IL-1), Interleukin-8 (IL-8), Prostaglandin E<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>), Matrix-Metalloproteinasen (MMPs) und Tumor-Nekrose-Faktor  $\alpha$  (TNF $\alpha$ ) angeregt (Kornman et al. 1997). Durch das entstehende chemotaktische Gefälle migrieren polymorphkernige neutrophile Granulozyten (PMNs) durch das gingivale Saumepithel in Richtung Sulkus und bilden dort einen primären Abwehrwall gegen den mikrobiellen Angriff. Dabei sorgen sogenannte Toll-like-Rezeptoren (TLRs), vor allem der TLR-4, für die Bindung der PMNs an die LPS (Zhou et al. 2005). TLRs gehören zur Gruppe der Pattern-Recognition-Rezeptoren (PRR), welche als Teil der angeborenen Immunität wiederkehrende Strukturmerkmale (sog.

*pathogen-associated molecular patterns*, PAMPs) eindringender Pathogene als körperfremd detektieren können. Gleichzeitig kommt es zu einer Aktivierung des Komplementsystems, wobei die Anaphylatoxine C3a und C5a Mastzellen zur Freisetzung vasoaktiver Amine anregen, was zu einer Erhöhung der Gefäßpermeabilität und somit zur Ödembildung führt (Smith et al. 2010). Bleibt die initiale Läsion unbeeinflusst, entwickelt sie sich nach vier bis sieben Tagen zur frühen Läsion weiter, die auf zellulärer Ebene durch eine quantitative Zunahme an Makrophagen und Lymphozyten gekennzeichnet ist. Ähnlich wie PMNs sind auch Makrophagen zur Phagozytose von Mikroorganismen befähigt. Sie reagieren auf bakterielle LPS mit einer veränderten Genexpression, was zur Sezernierung proinflammatorischer Zytokine wie IL-1, IL-6 und TNF- $\alpha$  und zudem zur direkten Freisetzung von Matrixmetalloproteinasen führt (Birkedal-Hansen 1993). Diese sind maßgeblich für die proteolytische Degradation von Komponenten der Extrazellulärmatrix, insbesondere Kollagen, Laminin und Fibronectin, verantwortlich (Sorsa et al. 2006). Gleichzeitig stellen Makrophagen ein wichtiges Bindeglied zur spezifischen Immunabwehr dar, indem sie Antigene phagozytierter Pathogene CD4<sup>+</sup>-T-Helferzellen präsentieren. Durch die Präsentation von antigenem Material in regionärem Lymphgewebe werden Lymphozyten aktiviert, wobei in dieser Phase zunächst T-Lymphozyten dominieren. Innerhalb weniger Wochen geht die frühe in eine etablierte Läsion über, die nach wie vor vollständig reversibel ist und durch ein perivaskuläres Makrophagen- und Lymphozyteninfiltrat gekennzeichnet ist. Mit Dauer der bestehenden Entzündung nimmt die Anzahl der B-Lymphozyten zu. Histologisch ist die etablierte Gingivitis durch die Entstehung einer gingivalen Tasche charakterisiert: dabei geht das biologische Attachment von Saumepithel und Zahnschmelz verloren und es entsteht ein Taschenepithel, wodurch eine mikrobielle Ausbreitung in den subgingivalen Bereich möglich wird (Müller 2012). Begünstigt durch Faktoren, die im Einzelnen aktuell noch erforscht werden, kann so die etablierte Läsion nach einem gewissen Zeitraum ins Stadium der irreversiblen fortgeschrittenen Läsion bzw. Parodontitis übergehen. Studien konnten unter anderem Plasmazellen als einen Effektor der destruktiven Prozesse des Parodonts ausmachen. Diese produzieren neben Antikörpern auch Zytokine wie TNF- $\alpha$ , das seinerseits die Expression von MMPs induziert (Berglundh et al. 2007). Plasmazellen sind der in der fortgeschrittenen Läsion dominierende Zelltyp (50 %), wohingegen der relative Anteil an T-Zellen, PMNs und Makrophagen abnimmt (Berglundh und Donati 2005). Der für das Parodontitis-Stadium charakteristische Knochenabbau wird vor allem durch den RANKL/RANK/OPG-Signalweg beeinflusst (Bartold et al. 2010).

### **1.3 Koronare Herzerkrankung**

Die Koronare Herzkrankheit wird charakterisiert durch das Auftreten stenoisierender Veränderungen an den Herzkranzarterien, die eine Minderperfusion des Herzmuskels bedingen. Ursächlich sind Ablagerungen atherosklerotischer Plaques in der Gefäßintima, die zunächst eine Versteifung und Lumeneinengung der Arterienwand bewirken und in späteren Stadien zur totalen

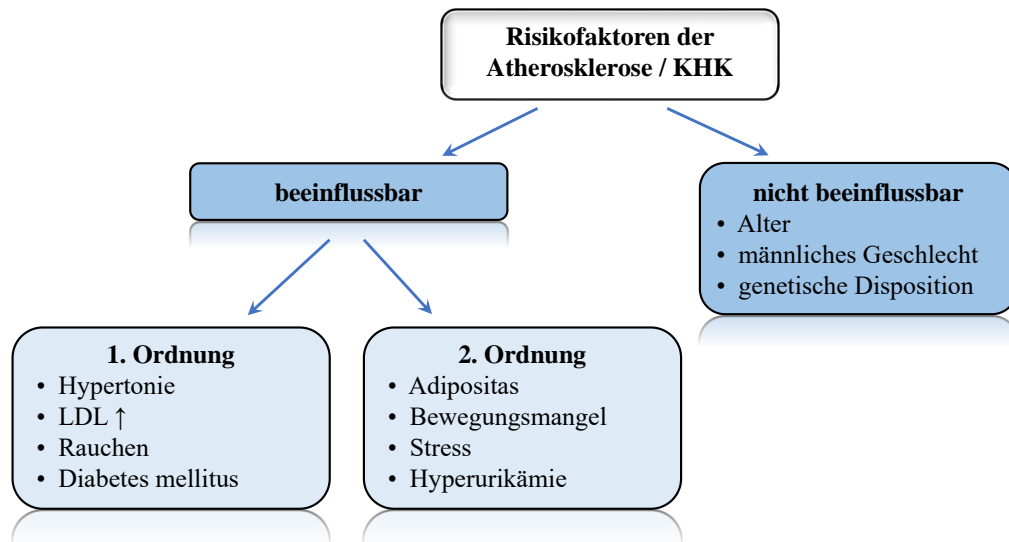


Gefäßstenose führen. Infolgedessen kommt es zu einer Diskrepanz zwischen Sauerstoffangebot und -bedarf der Kardiomyozyten, man spricht auch von einer *Koronarinsuffizienz*. Neben der Atherosklerose können sich weitere Faktoren negativ auf die Perfusion der Herzkranzarterien auswirken. Dazu gehören unter anderem Vaskulitiden, Koronarspasmen (sog. Prinzmetal-Angina) oder Myokardhypertrophien, die das Gefäßlumen zusätzlich einengen und so die Ischämie massiv verstärken (Fischer-Rasokat et al. 2018). Das Leitsymptom der KHK ist die Angina pectoris, die sich klinisch typischerweise durch retrosternale Schmerzen oder Druckgefühl manifestiert (Karges und Dahouk 2014). Ab einer Verringerung des Gefäßquerschnitts um mehr als 50 % (*signifikante Stenose*) kann es zu regionalen Perfusionsstörungen kommen, die klinisch meist unauffällig verlaufen. Bei Stenosen über 75 % (*kritischen Stenosen*) wird bei fehlenden kompensatorisch wirkenden Kollateralgefäßen die Koronarreserve aufgebraucht und es kommt zum Beschwerdebild der belastungsabhängigen Angina pectoris. In der Regel klingen die Symptome zunächst nach wenigen Minuten in Ruhe oder der Gabe von Nitroglycerin ab und man spricht von einer stabilen Angina pectoris. Diese kann mit Zunahme der Schmerzdauer und -intensität und einem verschlechterten Ansprechen des Patienten auf antianginöse Medikamente in eine instabile Angina pectoris übergehen. Vor allem bei Frauen, älteren Patienten und Diabetikern verläuft die KHK häufig fast symptomlos. Diese „stummen Ischämien“ werden bei Diabetikern vermutlich durch Nervenschädigungen infolge einer autonomen diabetischen Neuropathie ausgelöst (Agashe und Petak 2018) und können die Krankheitsprognose deutlich negativ beeinflussen. Bei ca. 50 % der Patienten tritt der Myokardinfarkt als Erstmanifestation der KHK auf (Manfroi et al. 2002). Dabei kommt es, meist infolge einer KHK, zu einer hochgradigen Stenose oder einem Kompletverschluss einer Herzkranzarterie mit einer daraus resultierenden Myokardnekrose, was für den Patienten in einem Drittel der Fälle tödlich verläuft (Gerok 2007). Die instabile Angina pectoris und der Myokardinfarkt werden auch unter dem Begriff des akuten Koronarsyndroms zusammengefasst.

### **1.3.1 Ätiologie**

Dem Chemiker Adolf Windaus gelang 1910 erstmals der Nachweis, dass große Mengen von Cholesterinestern in atherosklerotischen Plaques gespeichert werden, weshalb er schon damals einen Zusammenhang zwischen den Cholesterinspiegeln im Blut und der Atherosklerose vermutete (Windaus 1910). Wie wir heute wissen, ist die Hypercholesterinämie tatsächlich ein wichtiger Risikofaktor im multifaktoriell bedingten Entstehungsprozess der Atherosklerose und damit der KHK. Einen ersten und entscheidenden Beitrag zur Identifizierung von kardiovaskulären Risikofaktoren lieferte die Framingham Heart Study, in deren Rahmen seit 1948 5.209 Männer und Frauen zwischen 30 und 62 Jahren in Bezug auf Ursachen und Risiken der KHK untersucht wurden (Hajar 2017). Die Ergebnisse der Studie waren zum damaligen Zeitpunkt revolutionär: So wurden unter anderem arterielle Hypertonie, Dyslipidämie, Diabetes mellitus, Nikotinabusus,

Übergewicht und genetische Disposition als die Hauptverursacher der Atherosklerose entschlüsselt. Nach der heutigen Klassifikation werden beeinflussbare von unbeeinflussbaren kardiovaskulären Risikofaktoren unterschieden (Brown et al. 2020) (s. Abb. 3). Zusätzlich teilte die Weltgesundheitsorganisation (WHO) die beeinflussbaren Faktoren 1982 nach ihrer Bedeutung in zwei Ordnungsgrade ein (Busse et al. 2005).



**Abb. 3.:** Risikofaktoren der Atherosklerose / Koronaren Herzerkrankung  
LDL: Low density lipoprotein

Je mehr Risikofaktoren bei einer Person vorliegen, desto höher ist das Gesamtrisiko dieser Person an einer KHK zu erkranken. Dabei scheinen vor allem die nicht-modifizierbaren Faktoren einen erheblichen Einfluss zu nehmen. In einer 2019 veröffentlichten Studie konnte nachgewiesen werden, dass Alter, Geschlecht und ethnische Zugehörigkeit rund 63-80% des kardiovaskulären Risikoprofils ausmachen (Pencina et al. 2019). Ähnliches gilt auch für die familiäre Disposition: So zeigte sich bei der Untersuchung 8000 dänischer Zwillingspaare im Jahr 1967, dass homozygote Zwillinge eine deutlich höhere Inzidenz für KHK als ihre heterogenen Vergleichspaare aufwiesen (44% vs. 14%) (Allen et al. 1967). In verschiedenen Studien wird der Anteil der Genetik an der Entstehung der KHK auf bis zu 50 % geschätzt (Roberts 2008).

### 1.3.2 Pathogenese

Mit der Atherosklerose liegt der KHK eine inflammatorische, degenerative Erkrankung der arteriellen Intima zugrunde, die sich mittels Akkumulation von Lipiden und fibrösem Material in den Gefäßwänden manifestiert (Lusis 2000).

Ausgehend von der *Response-to-Injury*-Hypothese der Amerikaner Russel Ross und John A. Glomset wird das atherosklerotische Geschehen durch eine Denudation des arteriellen Endothels initiiert (Ross und Glomset 1973). Die Endothelverletzung kann dabei durch unterschiedliche chemische oder mechanische Faktoren verursacht werden. Infrage kommen zum Beispiel Hypertonie, Diabetes mellitus, Dyslipidämie mit erhöhtem bzw. modifiziertem Low Density

Lipoprotein (LDL), freie Radikale infolge von Nikotinabusus, Homocysteinämie, aber auch infektiöse Mikroorganismen wie *Chlamydia pneumoniae* (Ross 1999). Seit einigen Jahren wird jedoch ein Ansatz diskutiert, nach dem die Atherosklerose nicht auf Grundlage einer Endothelverletzung, sondern einer *endothelialen Dysfunktion* entsteht (Godo und Shimokawa 2017). Eine zentrale Rolle spielen hierbei erniedrigte Konzentrationen verschiedener endothelialer Vasodilatoren, von denen Stickstoffmonoxid (NO) der am besten untersuchte ist. NO spielt eine Schlüsselrolle beim Schutz der großen Koronararterien vor Vasospasmen, die die intraluminale Gerinnungsbildung begünstigen und inhibiert zudem die Aggregation von Thrombozyten sowie die Adhäsion und Penetration von Monozyten (Vanhoutte et al. 2017). Vor allem im Zuge von oxidativem Stress, Rauchen, Diabetes mellitus und Hypertonie kommt es zu einer verminderten NO-Freisetzung der Endothelzellen, wodurch Vasospasmen, Thrombose und Makrophagenpenetration zunehmen und somit der Atherogenese Vorschub geleistet wird.

Aufgrund der dysfunktionalen Endothelbarriere können sich zunächst vermehrt Lipoproteine in der arteriellen Intima akkumulieren. Oxidativ verändertes LDL ist in der Lage, über einen NF- $\kappa$ B-medierten Weg die Expression von Zelladhäsionsmolekülen wie VCAM-1 (*vascular cell adhesion molecule 1*) zu induzieren, was die Migration von Monozyten und T-Lymphozyten in die Gefäßintima ermöglicht (Libby 2006). Dort differenzieren sich die Monozyten zu Makrophagen und internalisieren über Scavenger-Rezeptoren oxidativ modifiziertes LDL, welches in Form von Cholesterolestern im Zytoplasma gespeichert wird (Hiltunen und Ylä-Herttuala 1998). Dieser Prozess dient in erster Instanz als Schutzmechanismus der Immunabwehr, indem die proinflammatorisch wirkenden oxidierten Lipoproteine neutralisiert werden (Glass und Witztum 2001), bewirkt jedoch im Weiteren die Transformation von Makrophagen zu sogenannten Schaumzellen. Wenn sich mehrere Lagen von Schaumzellen gebildet haben, sind sie mit bloßem Auge als Xanthome oder *fatty streaks* sichtbar. Fatty streaks kennzeichnen die initiale atherosklerotische Läsion und sind bei Beseitigung der auslösenden Faktoren komplett reversibel (Libby 2000). Im weiteren Verlauf induzieren Makrophagen und T-Lymphozyten mit der Ausschüttung von Zytokinen und Wachstumsfaktoren wie dem *Platelet-derived growth factor* (PDGF) die Migration und Proliferation von glatten Muskelzellen in den subendothelialen Raum (Lusis 2000). Diese synthetisieren dort u.a. Kollagen, Fibronectin und Proteoglykane, wodurch sich auf der Plaqueoberfläche eine fibröse Kappe bildet, die einem ständigen Erneuerungsprozess unterliegt. Gleichzeitig bildet sich im Inneren durch die Apoptose und Nekrose von Schaumzellen und glatten Muskelzellen ein lipidreicher flüssiger Kern (Bentzon et al. 2014), was den Übergang zu einer komplexen atherosklerotischen Läsion kennzeichnet. Bei gesteigertem Entzündungsgeschehen innerhalb der Plaque sezernieren die Immunzellen proinflammatorische Mediatoren, die zur Degradation der Extrazellulärmatrix führen. Das von T-Zellen synthetisierte Interferon- $\gamma$  hemmt beispielsweise die Kollagenproduktion (Voloshyna et al. 2014), wohingegen aus Makrophagen stammende

Matrixmetalloproteinasen (MMPs) alle Komponenten der bindegewebigen Matrix abbauen können (Davies 2000). Auf diese Weise entsteht eine *vulnerable Plaque*, deren Stabilität derart herabgesetzt sein kann, dass die Gefahr einer spontanen Ruptur besteht. Der Kontakt des hochgradig thrombogenen Lipidkerns mit den Blutbestandteilen initiiert dann die Koagulation und es kommt zur Ausbildung eines Thrombus in der Koronararterie.

### 1.3.3 Assoziation von Parodontitis und KHK

Parodontitis und KHK sind gleichermaßen entzündliche Erkrankungen multifaktorieller Genese, die mehrere gemeinsame Risikofaktoren (z.B. Alter, männliches Geschlecht, Diabetes mellitus, Nikotinabusus) aufweisen. Mehrere Studien stützen die These der Parodontitis als Risikofaktor der KHK (Mattila et al. 1989, DeStefano et al. 1993). So wiesen Khader et al. bei Parodontitis-Erkrankten ein 15% höheres Risiko für KHK nach (Khader et al. 2004). Eine 2017 veröffentlichte Meta-Analyse konnte zudem zeigen, dass bei vorliegender Parodontitis das Risiko für einen akuten Myokardinfarkt um mehr als das Zweifache erhöht war (Xu et al. 2017). Bisher konnte keine direkte Kausalität zwischen der Parodontitis und der KHK nachgewiesen werden. Vielmehr wird vermutet, dass verschiedene Pathomechanismen die Assoziation zwischen den beiden Erkrankungsbildern vermitteln. Ein Verfechter dieser Theorie war auch Roy C. Page, der 1998 in einem Artikel erläuterte, wie die Parodontitis systemische Erkrankungen auf drei Wegen beeinflusst:

- über gemeinsame Risikofaktoren
- über den subgingivalen Biofilm als Reservoir für gramnegative Erreger
- über das Parodont als Reservoir für Entzündungsmediatoren (Page 1998).

Zu den von Page identifizierten gemeinsamen Risikofaktoren gehören neben Rauchen, Stress und zunehmendem Alter auch die ethnische Zugehörigkeit und das männliche Geschlecht. Darüber hinaus ist seit längerer Zeit bekannt, dass Diabetes mellitus nicht nur die Entstehung der Parodontitis, sondern auch die der KHK begünstigt (Chait und Bornfeldt 2009). Als gemeinsame Schnittstelle werden unter anderem die bereits erwähnten Advanced glycation endproducts einschließlich ihres Rezeptors RAGE diskutiert (s. Kapitel 1.4).

Für den Einfluss gramnegativer Erreger auf den Entstehungsprozess der KHK spricht die Tatsache, dass die DNA verschiedener oralpathogener Keime in atherosklerotischen Plaques nachgewiesen werden konnte (Haraszthy et al. 2000). Ausgangspunkt ist dabei die parodontal geschädigte Tasche, die  $10^8$  bis  $10^{12}$  gramnegative Bakterien beherbergen kann (Friedewald et al. 2009). Von dort gelangen die Mikroorganismen über subepitheliale Blutgefäße des Parodonts in die systemische Zirkulation und führen so zu einer Bakteriämie. Häufig treten die Bakterien infolge einer physischen Gingivaverletzung, z.B. im Rahmen eines Scalings oder einer Extraktion aber auch nach Nahrungsverzehr oder Zähneputzen, direkt in die Blutbahn ein (Reyes et al. 2013). Beim

bisher wenig untersuchten *Trojan horse approach* vermutet man dagegen, dass die Erreger in Immunzellen eindringen und folglich indirekt die Gingivabarriere überwinden können (Carrion et al. 2012). Ob tatsächlich eine direkte Kausalität zwischen dem Vorhandensein parodontopathogener Keime und der Atherogenese vorliegt, ist derzeit umstritten. Giacona und Kollegen konnten jedoch 2004 in einer In-vitro-Studie den Nachweis erbringen, dass *P. gingivalis* die Aufnahme von LDL in humanen Makrophagen induziert und somit die Schaumzellbildung fördert (Giacona et al. 2004). Zudem können Erreger aus der Mundhöhle auch über die Aktivierung der Blutgerinnung in den Entstehungsprozess der KHK eingreifen. So induzieren beispielweise *S. sanguis* und *P. gingivalis* die Thrombozytenaggregation über das *Platelet aggregation-associated protein (PAAP)*, wodurch die intravasale Thrombusbildung begünstigt wird (Herzberg und Weyer 1998). Die von *P. gingivalis* sezernierten Gingipaine sind zudem in der Lage, die Gerinnungsfaktoren IX und X sowie Prothrombin zu aktivieren (Imamura 2003), was wiederum zur Bildung eines unlöslichen Fibringerinnsels führt und damit das Risiko eines Gefäßverschlusses erhöht.

Letztlich ist auch eine systemische Entzündung als Bindeglied zwischen Parodontalerkrankungen und Atherosklerose denkbar, die dadurch ausgelöst wird, dass proinflammatorische Mediatoren, welche lokal im entzündeten Parodontalgewebe gebildet werden, in die Blutbahn ausschwemmen. Im Rahmen einer Parodontitis kommt es vermehrt zur Bildung von Akute-Phase-Proteinen in der Leber. Ein wichtiger Entzündungsmarker ist dabei das C-reaktive-Protein (CRP). Studien konnten zeigen, dass die CRP-Level bei Parodontitis erhöht sind und zudem mit dem Ausmaß der parodontalen Destruktion korrelieren (Paraskevas et al. 2008, Loos 2005). Gleichmaßen sind erhöhte CRP-Werte ein starker Prädiktor für das Auftreten von kardiovaskulären Ereignissen wie Myokardinfarkt und Schlaganfall (Ridker et al. 2000). Eine analoge Verbindung existiert vermutlich über das proinflammatorische Zytokin Interleukin-6 (IL-6), welches in den Hepatozyten die Produktion von Akute-Phase-Proteinen wie CRP und Fibrinogen induziert und dadurch in den Entstehungsprozess der Atherosklerose eingreifen kann (Aarabi et al. 2018). Untersuchungen konnten nachweisen, dass Parodontitis-Erkrankte erhöhte IL-6-Werte aufweisen und diese zudem mit der Schwere der parodontalen Infektion assoziiert sind (Loos et al. 2000).

#### **1.4 Der Receptor for advanced glycation endproducts (RAGE)**

Der zur Superfamilie der Immunglobuline gehörige *Receptor for advanced glycation endproducts* ist ein zentraler Mediator der angeborenen Immunantwort und wird, mit Ausnahme der Lunge, unter physiologischen Bedingungen nur geringfügig im Gewebe exprimiert (Demling et al. 2006, Shirasawa et al. 2004). Bei pathologischen Zuständen, wie zum Beispiel chronischer Entzündung und Diabetes, steigt die Rezeptorkonzentration in verschiedenen Geweben jedoch drastisch an. Grund hierfür ist einerseits die Akkumulation von RAGE-Liganden, die die Expression des Rezeptors induzieren (Bierhaus und Nawroth 2009) und andererseits Transkriptionsfaktoren, vor

allem NF- $\kappa$ B, die durch RAGE aktiviert werden und dann ihrerseits die Transkription des RAGE-Gens fördern.

#### 1.4.1 Struktur

Bei humanem RAGE handelt es sich um ein membranständiges, 404 Aminosäuren (AS) langes Protein, dessen Struktur sich aus drei verschiedenen Domänen zusammensetzt (Neeper et al. 1992). Die für die Ligandenbindung verantwortliche Ektodomäne (AS 1-339) enthält eine N-terminale Signalsequenz für die Distribution des Proteins nach der Translation, gefolgt von drei Immunglobulin-ähnlichen Domänen, wobei es sich um eine V-Domäne und zwei C-Domänen (C1 und C2) handelt. Des Weiteren besitzt der Rezeptor eine hydrophobe Transmembrandomäne (AS 340-361) zur Verankerung in der Plasmamembran sowie einen intrazellulären Rest (AS 362 – 404), der für die intrazelluläre Signaltransduktion verantwortlich ist (Abb.4). Neuere Studien konnten zeigen, dass V- und C1-Domäne eine strukturelle Einheit bilden, wohingegen die C2-Domäne über eine flexible Verknüpfung mit der VC1-Einheit als vollständig unabhängige Domäne angesehen werden kann (Dattilo et al. 2007). Alle bisher bekannten Liganden binden an den VC1-Komplex, womit dieser als Hauptbindungsdomäne gilt (Kierdorf und Fritz 2013). Bei wenigen Molekülen – unter anderem S100A6, S100A13 und LPA, konnte zusätzlich eine schwache Affinität zur C2-Domäne nachgewiesen werden (Rani et al. 2014, Rai et al. 2012, Leclerc et al. 2007). Im Fall von LPA war die Bindung zur C2-Domäne jedoch um das 1000-fache schwächer als die zur V-Domäne, womit fraglich ist, ob dem C2-Komplex bei der Ligandenbindung in vivo überhaupt eine tragende Rolle zukommt.

#### 1.4.2 Ligandenbindung

RAGE ist ein Multiligandenrezeptor, erhielt seinen Namen jedoch aufgrund seiner Fähigkeit, eine spezielle Ligandengruppe, die *Advanced Glycation Endproducts* (AGEs), zu binden. Erhöhte Konzentrationen der Glykierungsendprodukte konnten zunächst in hyperglykämischem Milieu bei Diabetes mellitus nachgewiesen werden (Brownlee 2001), was durch ihren Entstehungsweg zu erklären ist. Dessen Grundlage bildet die nicht-enzymatische Glykierung von Aminosäuren, Proteinen, Lipiden und Nukleinsäuren durch reduzierende Zucker wie Fructose, Galaktose und Glucose, was landläufig auch als *Maillard-Reaktion* bekannt ist. In-vivo können AGEs außerdem durch Autooxidation von Glucose zu Sorbitol, dem sogenannten Polyol-Pathway, sowie durch die Peroxidation von Lipiden gebildet werden (Ott et al. 2014). Eine nicht unerhebliche Rolle spielen zudem AGEs, die dem Körper exogen, also über die Nahrung, zugeführt werden. Vor allem Lebensmittel, die reich an Proteinen und Fett sind und darüber hinaus gegrillt, gebraten oder geröstet wurden, liefern große Mengen an Glykierungsendprodukten (Goldberg et al. 2004). Die Pathogenität der AGEs beruht auf zwei Mechanismen: Zum Ersten induzieren sie Quervernetzungen an Proteinen und rufen somit Struktur- und Funktionsänderungen dieser hervor. Eine solche Wirkung konnte beispielsweise an Strukturproteinen der extrazellulären Matrix, wie

Kollagen, Vitronectin und Laminin festgestellt werden, wodurch die Viskoelastizität des Gewebes abnimmt und arterielle Gefäßsteifigkeit sowie Atherosklerose begünstigt werden (Del Turco und Basta 2012). Zum Zweiten aktivieren AGEs intrazelluläre Signalkaskaden durch Bindung an verschiedene Membranrezeptoren, von denen RAGE der am besten untersuchte ist. Dies führt in der Zelle zu einer erhöhten Produktion von reaktiven Sauerstoffverbindungen (ROS) mit einer Zunahme von oxidativem Stress und darüber hinaus zu einer vermehrten Ausschüttung inflammatorischer Zytokine (Uribarri et al. 2015).

Neben den Endprodukten der nicht-enzymatischen Glykierung können weitere, strukturell sehr verschiedene Liganden an RAGE binden. RAGE zählt zu den bereits erwähnten *Pattern-Recognition-Rezeptoren* (PRR) und ist damit Teil der angeborenen Immunabwehr (Teissier und Boulanger 2019). PRRs erkennen sowohl exogene *pathogen-assoziierte molekulare Muster* (PAMPs), also erregerspezifische Struktur motive von beispielsweise Bakterien und Viren, als auch endogene Moleküle, die sogenannten *damage-associated molecular patterns* (DAMPs). DAMPs oder auch *Alarmine* sind regulär intrazellulär vorkommende Proteine, welche aktiv von den Zellen sezerniert werden oder bei Gewebeschäden in die Extrazellulärmatrix gelangen, wo sie als Modulatoren der Immunantwort fungieren. Zu den Alarminen, die an RAGE binden können, gehören das DNA- und Heparin-bindende HMGB-1 (auch bekannt als Amphoterin) (Hori et al. 1995), sowie die Gruppe der Calcium-affinen S100-Proteine. Die Familie der S100-Proteine beinhaltet derzeit 24 bekannte Mitglieder (Donato et al. 2013), von denen jedoch nicht alle ein intrazelluläres Signal über RAGE auslösen können (Leclerc et al. 2009). Von besonderer physiologischer Bedeutung scheinen vor allem S100A12 (Calgranulin C), S100B sowie S100P zu sein (Leclerc und Heizmann 2011). Eine dritte Ligandengruppe, die den DAMPs zugeordnet wird, sind die Beta-Amyloid-Peptide, denen eine Rolle als pathologischer Faktor bei der Entstehung von Morbus Alzheimer zugeschrieben wird (Masters et al. 1985). RAGE ist in der Lage, Beta-Amyloid über die Blut-Hirn-Schranke zu transportieren und trägt somit zu dessen Akkumulation im Hirngewebe bei (Deane et al. 2003). Zusätzlich konnte nachgewiesen werden, dass der Rezeptor extrazelluläre DNA bindet, die unter anderem bei Gewebeverletzungen freigesetzt wird, und deren Wiederaufnahme in die Zelle fördert (Sirois et al. 2013).

### **1.4.3 Signaltransduktion**

Ein entscheidender Faktor für die Aktivierung von RAGE durch seine Bindungspartner scheint die Oligomerisation des Rezeptors zu sein (Xie et al. 2008). Untersuchungen konnten zeigen, dass RAGE vermutlich bereits in Abwesenheit von Liganden konstitutive Multimere in der Plasmamembran ausbildet, die aus mindestens 4 RAGE-Molekülen bestehen und durch das Andocken der Liganden stabilisiert werden. Dies bietet einen wichtigen Ansatzpunkt für die Rezeptorinhibition durch RAGE-Isoformen (s. 1.4.5).

Die von RAGE induzierten Signalwege sind sehr komplex, da sie nicht nur von der Art der Liganden, sondern ebenso vom Zelltyp, der Ligandenkonzentration sowie dem Vorhandensein anderer PRRs, die dieselben Liganden binden können, abhängen (Hudson und Lippman 2018). So werden durch RAGE unter anderem die *mitogenaktivierte Proteinkinase* (MAPK) – Kaskade mit ihren Untergruppen Erk1/2, p38 und SAP/JNK, sowie verschiedene Rho-GTPasen aktiviert (Lander et al. 1997, Taguchi et al. 2000). Durch sie wird wiederum die Aktivierung verschiedener Transkriptionsfaktoren induziert, die ihrerseits zur Expression einer Reihe von proinflammatorischen Genen führen. Eine besondere Rolle spielt dabei der Transkriptionsfaktor NF- $\kappa$ B. Dieser besitzt eine Schlüsselfunktion in der Immunregulation und löst durch Bindung an spezifische DNA-Abschnitte die Transkription spezieller Zielgene aus, zu deren Genprodukten Zytokine, Adhäsionsmoleküle, sowie prothrombotische als auch vasokonstriktive Mediatoren gehören. Da auch der RAGE-Promotor selbst eine Bindungsstelle für NF- $\kappa$ B besitzt, wird die RAGE-Expression im Sinne einer positiven Rückkopplung erhöht (Bierhaus et al. 2005).

Darüber hinaus konnten Studien zeigen, dass durch die Bindung von AGEs an RAGE NADPH-Oxidasen aktiviert werden, was mit einer gesteigerten Generation reaktiver Sauerstoffverbindungen (ROS) und damit erhöhtem oxidativen Stress in der Zelle einhergeht. Auch dieser Weg mündet wiederum in der Aktivierung von NF- $\kappa$ B (Yan et al. 1994, Wautier et al. 2001).

#### **1.4.4 Isoformen**

Das oben beschriebene RAGE-Protein mit Ekto-, Transmembran- und Endodomäne wird auch als full-length-RAGE (flRAGE) bezeichnet. Daneben existieren weitere Isoformen, die gegenüber der full-length-Variante entweder an ihrem N- bzw. C-Terminal eine verkürzte Proteinstruktur besitzen. Bis dato konnten 19 verschiedene humane RAGE-Unterformen nachgewiesen werden (Hudson et al. 2008), die wiederum drei Haupt-Isoform-Gruppen zugeordnet werden können (s. Abb. 4). Diese werden ihrerseits nochmals in membranständige und zirkulierende Rezeptor-Unterformen unterteilt. Dem transmembranär verankerten n-truncated-RAGE (ntRAGE) fehlt die V-Domäne, wodurch vermutlich die Ligandenbindung verhindert wird und somit keine Signale nach intrazellulär geleitet werden können (Yonekura et al. 2003). Bei der dominant-negativen Variante (dnRAGE) ist die zytosolische Domäne nicht ausgebildet, wodurch zwar die Liganden außerhalb der Zelle binden können, jedoch die Signalübertragung nach intrazellulär nicht stattfindet. Es wird vermutet, dass dnRAGE mit der full-length-Variante um Liganden konkurriert und so deren Aktivität hemmt. In Kurzzeit-Studien konnte gezeigt werden, dass die Hochregulierung von dnRAGE in-vitro mit einer verringerten flRAGE-Aktivität einhergeht (Ding und Keller 2005). Um valide Aussagen über den Zusammenhang von dnRAGE und flRAGE auf in-vivo-Ebene zu treffen, sind jedoch weitere Studien nötig.



Die wohl meistuntersuchte Isoform von RAGE ist das lösliche soluble RAGE (sRAGE), dem die Transmembran- sowie die Intrazellulärdomäne fehlen. Es sind zwei Mechanismen bekannt, über die der zirkulierende Rezeptor entsteht: Das sogenannte *endogenously-secreted* RAGE (esRAGE) wird, ebenso wie das nt- als auch dn-RAGE, durch alternatives Spleißen der RAGE-mRNA gebildet (Malherbe et al. 1999). Raucci et al. konnten jedoch demonstrieren, dass esRAGE nur etwa 20 % der gesamten sRAGE-Konzentration ausmacht (Raucci et al. 2008). Eine weitaus größere Bedeutung scheint dagegen der Entstehungsweg über proteolytische Spaltung zu haben, bei dem Metalloproteinasen den extrazellulären Teil des membranständigen flRAGE abtrennen (sog. *Ectodomain-Shedding*). Das auf diese Weise entstandene *cleaved* RAGE (cRAGE) ist mit 48 kDa kleiner als das 51 kDa schwere esRAGE. In mehreren Studien konnte die Beteiligung der Zink-abhängigen Metalloproteinasen ADAM10 (*A Disintegrin and metalloproteinase domain-containing protein 10*) und MMP9 am Ectodomain-Shedding des full-length-RAGE belegt werden (Zhang et al. 2008, Raucci et al. 2008). Die proteolytische Freisetzung von cRAGE ist induzierbar durch Zugabe seines Liganden *High-Mobility-Group-Protein B1* (HMGB1) sowie auch des Phorbol ester PMA, durch den  $Ca^{2+}$ -abhängige Proteinkinasen aktiviert werden.

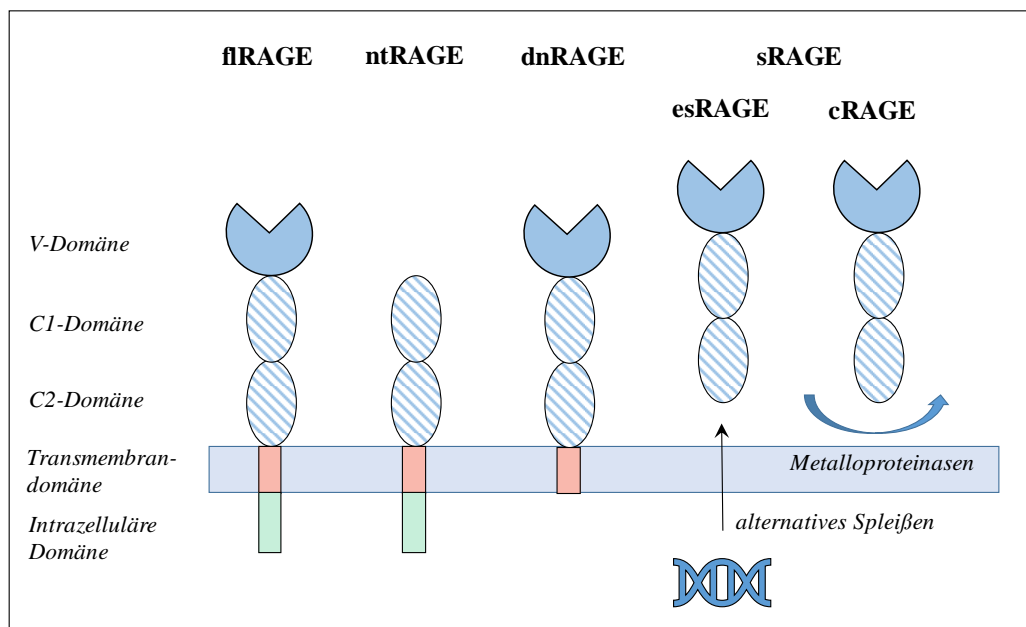
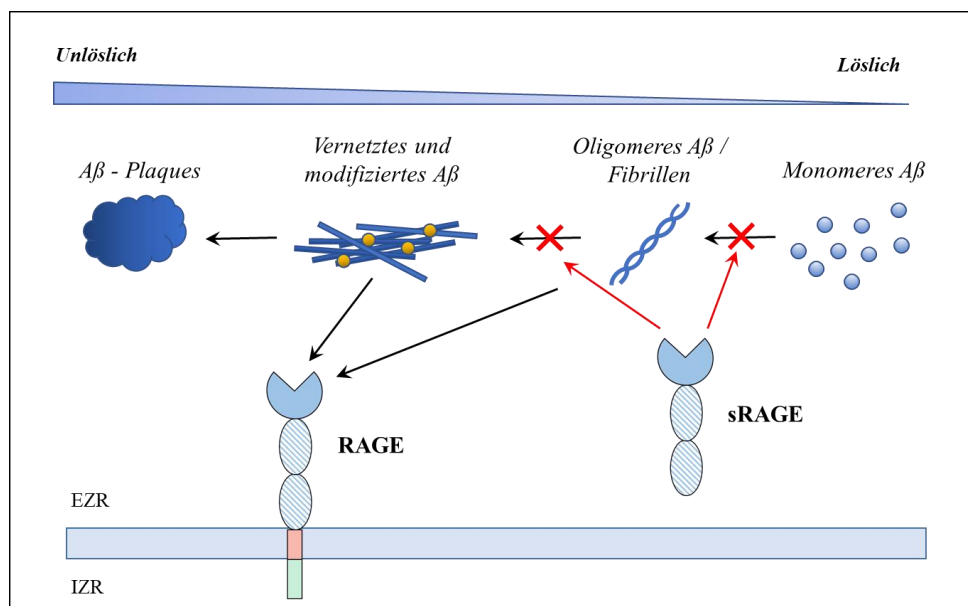


Abb. 4.: RAGE und seine Isoformen

#### 1.4.5 Assoziation von RAGE und sRAGE

Schon früh wurde vermutet, dass sRAGE als kompetitiver Inhibitor des flRAGE agiert, indem es zirkulierende RAGE-Liganden bindet und somit neutralisiert. Die ersten Beweise für diese Theorie lieferten Untersuchungen, die eine Interaktion von sRAGE und dem RAGE-Liganden AGE-BSA demonstrieren konnten, woraufhin die Aktivierung und Signalweitergabe des membranständigen RAGE ausblieb (Yonekura et al. 2003). Neben dieser Funktion als Decoy-Rezeptor gibt es

Hinweise darauf, dass sRAGE modulierend in die Bildung bzw. Reifung von RAGE-Liganden eingreift, sodass diese nicht mehr an den Membranrezeptor binden können. Ein Beispiel hierfür ist das Beta-Amyloid, das sich bei Patienten von Morbus Alzheimer in Form von Senilen Plaques im Gehirn ablagert und deshalb als eines der Hauptpathogene der Erkrankung in der Diskussion steht. Beta-Amyloid ist fähig, an RAGE zu binden und dadurch eine intrazelluläre Signalkaskade auszulösen, die, vor allem in der Anfangszeit der Demenzerkrankung, zu oxidativem Stress in den Neuronen führt (Yan et al. 1996). Dabei erfährt das Peptid eine zunehmende Aggregation vom löslichen Monomer, über das später quervernetzte Oligomer, hin zur unlöslichen senilen Plaque, wobei vermutlich nur das Oligomer an RAGE binden kann (Ding und Keller 2005). In-vitro konnte gezeigt werden, dass sRAGE die Fibrillisierung bzw. Oligomerbildung von Beta-Amyloid hemmt, womit dieses nicht die passende Proteinstruktur besitzt, um an RAGE zu binden (Chaney et al. 2005). Zusätzlich kann sRAGE ebenfalls oligomeres Beta-Amyloid binden und fungiert damit zusätzlich als kompetitiver Inhibitor zum membranständigen RAGE (s. Abb.5). Ein dritter wichtiger Ansatzpunkt für die Inhibition von RAGE ist seine Oligomerisation zu Multimeren in der Plasmamembran, die sowohl durch die Zugabe von sRAGE als auch dnRAGE unterbunden werden kann (Zong et al. 2010). In Untersuchungen bildeten sRAGE bzw. dnRAGE Heterooligomere mit flRAGE aus, wodurch die Signaltransduktion nach intrazellulär verhindert wurde (Koch et al. 2010).



**Abb. 5.:** Assoziation von RAGE/sRAGE zum Beta-Amyloid  
Aβ: Beta-Amyloid, EZR: Extrazellulärraum, IZR: Intrazellulärraum

#### 1.4.6 Assoziation von RAGE und sRAGE zu KHK

RAGE wird eine Schlüsselfunktion bei der Ausbildung von Gewebsschädigungen im Rahmen verschiedener chronischer Erkrankungen zugeschrieben, zu denen u.a. Diabetes mellitus, Atherosklerose, neurodegenerative Krankheiten sowie Tumore gehören (Hudson und Lippman 2018).

Erste Erkenntnisse zur Beteiligung des Rezeptors an der Entstehung vaskulärer Läsionen stammen aus Untersuchungen an humanen Gefäßsegmenten, welche zeigen konnten, dass bei vorliegender peripherer arterieller Verschlusskrankheit die endotheliale RAGE-Expression deutlich erhöht war (Ritthaler et al. 1995). Des Weiteren konnte ein signifikanter Anstieg von RAGE in atherosklerotischen Plaques von Diabetikern gefunden werden (Burke et al. 2004). Versuche an diabetischen RAGE-defizienten Mäusen konnten zeigen, dass diese signifikant kleinere atherosklerotische Bereiche ausbildeten als die RAGE-positiven Kontrolltiere (Soro-Paavonen et al. 2008). Überdies konnte durch die Verabreichung von sRAGE an diabetische ApoE-Knockout-Mäuse (ApoE -/-) nicht nur die Entstehung einer Atherosklerose komplett unterdrückt werden, sondern kam es auch zu einer Stabilisierung bereits etablierter atherosklerotischer Läsionen (Park et al. 1998, Bucciarelli et al. 2002).

Grundlegend kommt es im inflammatorischen Milieu der Atherosklerose zu einer verstärkten Akkumulation von RAGE-Liganden, einschließlich AGEs, S100-Proteinen und HMGB-1 (Harja et al. 2008), die durch Interaktion mit dem Membranrezeptor multiple intrazelluläre Signalwege aktivieren und damit die Gewebeentzündung vorantreiben. Infolge dieser Prozesse kommt es zur Translokation von NF- $\kappa$ B vom Zytoplasma in den Nukleus, wo der Transkriptionsfaktor die Expression verschiedener proatherogener Zielgene induziert. Dazu zählen nicht nur eine Reihe von Adhäsionsmolekülen wie VCAM-1, ICAM-1 und E-Selektin, sondern auch verschiedene proinflammatorische Zytokine wie IL-6 und TNF- $\alpha$  (Basta 2008). Ein weiterer Effekt, der durch die Bindung von AGEs an RAGE mediiert wird, ist die Inaktivierung von NO, welche zusätzlich mit einer gesteigerten Bildung von toxischem Peroxynitrit einhergeht (Kosmopoulos et al. 2019).

Die aktuelle Datenlage hinsichtlich der Assoziation von sRAGE zu KHK ist jedoch weitestgehend inkonsistent. Eine italienische Forschergruppe um Falcone veröffentlichte 2005 eine Studie an 656 nichtdiabetischen männlichen Probanden, von denen diejenigen mit einer angiografisch nachgewiesenen KHK signifikant ( $p < 0,0001$ ) niedrigere sRAGE-Level aufwiesen als die gesunde Kontrollgruppe (MD: 966  $\mu$ g/ml vs. 1335  $\mu$ g/ml) (Falcone et al. 2005). In einer späteren Veröffentlichung berichteten die Wissenschaftler außerdem, dass die sRAGE-Spiegel bei Patienten mit akutem Koronarsyndrom signifikant niedriger waren als bei stabiler Angina pectoris (Falcone et al. 2013a). Demgegenüber stehen aktuelle Studienergebnisse von Wang und Kollegen, die signifikant erhöhte sRAGE-Werte unter Patienten mit akutem Koronarsyndrom fanden (Wang et al. 2019). In eine ähnliche Richtung weisen auch Untersuchungen von Nakamura et al, die bei Typ-2-Diabetikern mit KHK signifikant höhere sRAGE-Werte feststellen konnten als bei Diabetikern ohne KHK (MD: 1680,6  $\mu$ g/ml vs. 855,2  $\mu$ g/ml,  $p < 0,001$ ) (Nakamura et al. 2007).

#### **1.4.7 Assoziation von RAGE und sRAGE zu Parodontitis**

Mittels immunhistochemischer Färbung konnte RAGE im gingivalen Gewebe von Patienten mit chronischer Parodontitis sichtbar gemacht werden und wurde dabei vor allem in Endothelzellen kleinerer Blutgefäße sowie in Epithelzellen des Stratum basale und spinosum gefunden (Katz et al. 2005). Besondere Beachtung bei der Erforschung von RAGE in Bezug auf das parodontale Kompartiment fand seit jeher die Assoziation von Parodontitis zu Diabetes mellitus. Eine Expression von AGEs, die vor allem im hyperglykämischen Milieu akkumulieren, konnte zuerst 1996 von Schmidt und Kollegen im Parodont von Diabetikern nachgewiesen werden (Schmidt et al. 1996). Durch ihre Fähigkeit die Kollagenvernetzung zu steigern wirken sich AGEs negativ auf die Kollagen-Umsatzrate aus und erschweren damit den Umbau des Parodontalgewebes (Zieman und Kass 2004). AGE-RAGE-Interaktion führte in humanen Fibroblasten über die Aktivierung von NF- $\kappa$ B zu einem Anstieg von IL-6 (Nonaka et al. 2018) und einer vermehrten Expression von MMP-1 (Yu et al. 2012). Zusätzlich war unter dem Einfluss der Glykierungsendprodukte eine gesteigerte Apoptoserate von Fibro- und Osteoblasten feststellbar (He et al. 2004, Liu et al. 2004).

In Versuchen mit diabetischen und nicht-diabetischen Mäusen, die mit dem parodontopathogenen Keim *Porphyromonas gingivalis* infiziert wurden, war in der diabetischen Gruppe ein erhöhter alveolarer Knochenabbau gepaart mit einer gesteigerten Expression von AGEs und RAGE zu verzeichnen (Lalla et al. 1998). Folgestudien konnten zeigen, dass eine Zugabe des antagonistisch wirkenden sRAGE den alveolären Knochenabbau in den infizierten Mäusen dosisabhängig verminderte und darüber hinaus mit verringerten Pegeln von TNF- $\alpha$ , IL-6 und MMPs einherging (Lalla et al. 2000). Im Rahmen einer aktuellen Studie wurden die Serumwerte von esRAGE, cRAGE sowie des gesamten sRAGE zwischen Parodontitis-Patienten und gesunden Probanden verglichen (Detzen et al. 2019). Dabei machte das cleaved RAGE mit 70 % in der Parodontitis- und 75 % in der Kontrollgruppe den Hauptanteil des Gesamt-sRAGE aus. Nach Adjustierung für parodontale Risikofaktoren zeigten sich signifikant niedrigere cRAGE-Werte bei Patienten mit Parodontitis, wohingegen die esRAGE-Spiegel in beiden Gruppen gleich hoch waren. Zusätzlich konnte für cRAGE als auch für das gesamte sRAGE eine signifikant negative Korrelation zu den parodontalen Parametern Taschentiefe, Anzahl der Blutungspunkte sowie zum BMI evaluiert werden.

## **2 Zielstellung**

### **2.1 Hauptziele**

Obwohl parodontale Erkrankungen schon seit langem als Risikofaktor für KHK diskutiert werden, sind die pathophysiologischen Hintergründe für den Zusammenhang der beiden Krankheitsbilder noch weitestgehend unbekannt. Eine mögliche Schnittstelle könnte der Receptor for

Advanced Glycation Endproducts sein, der über die Bindung seiner Liganden zu einer Zunahme an entzündlichen Prozessen führt. Ein natürlicher Inhibitor von RAGE ist der lösliche sRAGE. Aufgrund seiner vermuteten protektiven Wirkung ist dieser ein vielversprechender Biomarker für inflammatorische Prozesse und könnte zukünftig sogar im therapeutischen Bereich Anwendung finden. Da bislang keine Studien zur Interrelation von KHK und Parodontitis in Bezug auf die sRAGE-Konzentration vorliegen, könnte diese Arbeit einen entscheidenden Beitrag zur Evaluierung von sRAGE als neuen prognostischen Indikator für das kardiovaskuläre Outcome sowie den parodontalen Schweregrad unter Patienten mit KHK leisten.

Das Hauptziel dieser Arbeit war es zu untersuchen, ob und inwiefern der periphere sRAGE-Spiegel unter Patienten mit Koronarer Herzerkrankung nach drei Jahren Follow-Up zum kardiovaskulären Outcome assoziiert ist. Des Weiteren sollte überprüft werden, ob ein Zusammenhang zwischen sRAGE und der Prävalenz einer schweren Parodontitis gegeben ist.

**Hypothese 1:** Ein verringerter sRAGE-Spiegel ist mit einem erhöhten Risiko für das Eintreten des kombinierten Endpunktes assoziiert.

**Hypothese 2:** Niedrige sRAGE-Konzentrationen können einen Risikofaktor für eine schwere Parodontitis darstellen.

## 2.2 Nebenziele

Parodontopathogene Bakterien sind ein essenzieller Faktor für die Ätiologie einer Parodontitis. Aus diesem Grund wurde eine mögliche Assoziation der sRAGE-Level zur Prävalenz parodontaler Bakterien in der subgingivalen Plaque evaluiert. Daneben können sowohl Tabakkonsum als auch das Vorliegen eines Diabetes mellitus das kardiovaskuläre sowie das parodontale Risiko deutlich erhöhen. Deshalb wurde auch der Einfluss der beiden Confoundern auf das sRAGE-Niveau untersucht. Da ferner auch eine systemische Entzündung als Bindeglied zwischen Parodontitis und KHK denkbar ist, wurde zusätzlich ein möglicher Zusammenhang zwischen den CRP- und IL-6-Werten zur sRAGE-Konzentration berücksichtigt.

**Hypothese 3:** Bei verringerten sRAGE-Spiegeln steigt die Prävalenz parodontaler Bakterien in der subgingivalen Plaque.

**Hypothese 4:** Aufgrund der erhöhten systemischen Inflammation im Zuge eines Diabetes mellitus ist die sRAGE-Konzentration invers zum Vorliegen der Stoffwechselerkrankung assoziiert.

**Hypothese 5:** Tabakkonsum hat einen signifikanten Einfluss auf den sRAGE-Spiegel und führt zu einem Absinken der peripheren Rezeptorkonzentration.

**Hypothese 6:** Infolge der anti-inflammatorischen Wirkung von sRAGE gehen niedrige Konzentrationen des Rezeptors mit einer Erhöhung der Entzündungsparameter CRP und IL-6 einher.

## **3 Material und Methoden**

### **3.1 Studiendesign**

Die vorliegende Arbeit versteht sich als Subanalyse der Kohortenstudie „Parodontale Erkrankungen und ihre mikrobiologischen Erreger als Risikofaktoren für kardiovaskuläre Ereignisse bei Patienten mit koronarer Herzerkrankung“ (ClinicalTrials.gov Identifier: NCT01045070), welche durch apl. Prof. Dr. A. Schlitt (Chefarzt Kardiologie / Diabetologie, Paracelsus-Harz-Klinik Bad Suderode) initiiert und die Deutsche Herzstiftung (F/34/08) sowie die Firma Hain-Diagnostica® gefördert wurde. Die Zulassung der Studie erfolgte durch die Ethikkommission der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg.

Die Grundlage der Studie bildete ein Patientenkollektiv mit stabiler oder instabiler KHK. Voraussetzung zur Studienteilnahme war die mündliche sowie schriftliche Aufklärung jedes Patienten hinsichtlich des Studienziels und -ablaufs, der Art der Untersuchungen, möglicher Risiken sowie der Nutzung der anonymisierten Daten. Durch die schriftliche Einverständniserklärung erfolgte der Studieneinschluss. Am Tag der stationären Aufnahme der Patienten erfolgte eine angiografische Herzkatheteruntersuchung, durch welche geeignete Probanden für die Studienteilnahme selektiert wurden. Am Folgetag wurden dann zunächst die anamnestischen Patientendaten erhoben, später erfolgte eine zahnärztliche Untersuchung. Mittels zweier Nachuntersuchungen, die nach einem Jahr und erneut drei Jahre nach der stationären Erstaufnahme durchgeführt wurden, konnte der anschließende medizinische Werdegang der Probanden protokolliert werden.

### **3.2 Patientenkollektiv**

Die Erstuntersuchung umfasste 1002 Patienten, denen eine koronare Herzerkrankung diagnostiziert worden war und erfolgte beginnend im Oktober 2009 bis Februar 2011 in der Universitätsklinik und Poliklinik für Innere Medizin III der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg.

Alle Teilnehmer mussten dabei folgende Voraussetzungen erfüllen:

- mind. 50 % Stenose einer Hauptherzkranzarterie (A. coronaria dextra o. sinistra)
- mind. 4 vorhandene Zähne
- Mindestalter von 18 Jahren
- kaukasische Herkunft
- kein Verwandtschaftsverhältnis zwischen den Teilnehmern

Zum Ausschluss aus der Studie führten hingegen folgende Kriterien:

- Unfähigkeit des Patienten zur schriftlichen Einverständniserklärung
- Antibiotika-Therapie innerhalb der letzten 3 Monate
- parodontale Therapie innerhalb der letzten 6 Monate
- Einnahme von Medikamenten, die Gingivahyperplasien auslösen können (z.B. Hydan-toin, Nifedipin, Cyclosporin A)

- Schwangerschaft
- aktueller Drogen- o. Alkoholabusus

### 3.3 Anamnese

#### 3.3.1 Zahnmedizinische Anamnese

Bei der Erhebung der zahnmedizinisch-anamnestischen Daten lag das Augenmerk vornehmlich auf den Mundhygienegewohnheiten der Probanden, wobei neben der Häufigkeit der Zahnpflege sowie der Zahnarztbesuche auch nach der Interdentalhygiene gefragt wurde. Daneben sollten die Patienten Angaben über Zahnfleischbluten sowie bereits bekannte Zahnfleischerkrankungen einschließlich früherer Parodontitisbehandlungen machen. Lag ein Zahnverlust vor, wurde nach der Ursache der Zahnextraktion (Karies / Parodontitis) als auch nach einem möglichen familiären Hintergrund (Zahnverlust durch Zahnlockerung unter Verwandten 1. Grades) gefragt.

#### 3.3.2 Allgemeinmedizinische Anamnese

Von allen Patienten wurden Alter, Geschlecht, Körpergewicht, Körpergröße, sowie die aktuelle Medikation eruiert. Zudem wurden kardiovaskuläre und parodontale Risikofaktoren als auch bestehende Vorerkrankungen erfasst. Dazu zählten unter anderem Tabakkonsum, Body Mass Index (BMI) und Diabetes mellitus (Tab. 1).

**Tab. 1:** Definition anamnestisch erfasster kardiovaskulärer und parodontaler Risikofaktoren

Risikofaktor	Erläuterung
Tabakkonsum	Definition „Raucher“: <ul style="list-style-type: none"> <li>• Probanden, die zur Zeit der stationären Erstaufnahme aktiv rauchten</li> </ul> Ermittlung der Packungsjahre (20 Zigaretten = 1 Packung): $Packungsjahre = (Zigarettenpackungen / Tag) \cdot (Anzahl\ Raucherjahre)$
Body Mass Index (BMI)	$BMI = \frac{\text{Körpergewicht (kg)}}{(\text{Körpergröße (m)})^2}$ <b>Klassifikation:</b> Untergewicht: < 18,5 kg/m <sup>2</sup> Normalgewicht: 18,5 – 24,9 kg/m <sup>2</sup> Übergewicht: 25 – 29,9 kg/m <sup>2</sup> Adipositas: ≥ 30 kg/m <sup>2</sup>
Diabetes mellitus	Festlegung auf die Diagnose „Diabetes mellitus“, wenn: <ul style="list-style-type: none"> <li>• diese schon vor dem stationären Aufenthalt gestellt wurde oder</li> <li>• eine antidiabetische Therapie (Diät oder Medikation) vorlag oder</li> <li>• der gemessene Nüchternblutzucker ≥ 7 mmol/l betrug</li> </ul>

### 3.4 Klinische Untersuchung

#### 3.4.1 Zahnmedizinische Untersuchung

Die zahnmedizinische Untersuchung wurde bedside durchgeführt. Zur Untersuchung wurden ein Mundspiegel, eine zahnärztliche Sonde, sowie eine zahnärztliche Pinzette verwendet. Die Messung der Sondiertiefe und des Attachmentverlustes erfolgten mit Hilfe eines druckkalibrierten Parodontometers (Firma Aesculap, DB764R), dessen definierter Federdruck von 0,2 N Messfehler auf ein Minimum reduzieren konnte und somit standardisierte Sondierungen erlaubte. Der

Erfassung der Furkationsgrade diente eine Furkationssonde nach Nabers. Die gemessenen Werte wurden auf der entsprechenden Seite des Aufnahmebogens eingetragen und später berechnet.

- Kariologischer Befund - DMF/T Index

Es wurden alle kariösen (= decayed), fehlenden (= missing) und gefüllten (= filled) Zähne dokumentiert und deren Summe ermittelt, was den DMF/T-Index ergab. Dabei wurden überkronte Zähne als gefüllte Zähne gezählt. Die Bezugsebene stellt dabei die Gesamtanzahl der Zähne dar, die im Erwachsenen gebiss ohne Betrachtung der Weisheitszähne 28 beträgt. Der DMF/T-Index ist weltweit gebräuchlich und wird herangezogen, um die Prävalenz der Karies bzw. kariesgeschädigter Zähne zwischen verschiedenen Populationen zu vergleichen.

- Plaqueindex (PI) nach Sillness und Loe (1964)

Dieser Index dient der Bewertung des Mundhygienezustandes und der Qualität der aktuellen Mundhygiene durch visuelle Erfassung der supragingivalen Plaque. Das Vorgehen entspricht einer Vierpunktmessung an allen Zahnflächen, die mittels einer zahnärztlichen Sonde durchgeführt wird. Jeder Zahnfläche (bukkal, oral, mesial, distal) wird dabei ein Code von 0 bis 3 zugeteilt (Tab. 2).

**Tab. 2:** Einteilung des Plaqueindex nach Sillnes und Loe

Grad	Bewertung
0	Keine Plaque
1	Plaque klinisch nicht sichtbar, bleibt an Sonde kleben
2	mäßige Plaque klinisch sichtbar entlang des Gingivalsaumes, den Interdentalraum nicht ausfüllend
3	starke Plaquebesiedelung entlang des Gingivalsaumes, den Interdentalraum ausfüllend

Der Plaque-Index wird wie folgt berechnet:

$$PI = \frac{\text{Summe aller Bewertungsgrade}}{\text{Anzahl der Messflächen}}$$

- Blutungsindex nach Ainamo und Bay (1975)

Dieser auch als „Bleeding on Probing“ (BOP) bekannte Index dient der Beurteilung des Entzündungszustandes des Zahnhalteapparates und wurde bestimmt, indem mithilfe einer Parodontalsonde jeder Zahn an vier Messpunkten sondiert und nach 20-30 Sekunden eine vorhandene Blutung abgelesen wurde. Nach Dokumentation aller Blutungspunkte erfolgte die Berechnung des prozentualen Anteils der positiven Messstellen an der Gesamtheit aller gemessenen Punkte mittels folgender Formel:

$$BOP = \frac{\text{Anzahl blutender Stellen}}{\text{Anzahl der Messstellen}} * 100$$

- Sondiertiefe ST

Die Sondiertiefe stellt als Distanz zwischen Gingivalrand und sondierbarem Taschenboden ein Maß für den Entzündungsgrad des Parodonts mit einhergehendem Knochenabbau dar.



Taschentiepen größer als 3 Millimeter weisen dabei auf eine bestehende Parodontitis hin. Die Messung wurde mittels einer druckkalibrierten Parodontalsonde an jeweils 6 Messpunkten jedes Zahns (mesiovestibulär, mittig vestibulär, disto-vestibulär, distooral, mittig oral, mesiooral) durchgeführt. In die Berechnung des Mittelwertes ging jeweils nur die größte gemessene Sondiertiefe pro Zahn ein:

$$ST_{max} = \frac{\text{Summe der größten Sondiertiefen}}{\text{Zahnanzahl}}$$

- Rezessionen

Dieser als Abstand zwischen marginalem Gingivalrand und Schmelz-Zement-Grenze definierte Messwert zeigt klinisch den Knochenrückgang infolge einer bestehenden Parodontitis auf. Die Messung erfolgte wiederum an 6 Messstellen pro Zahn, wobei auch hier nur der Maximalwert pro Zahn in die Mittelwertberechnung einbezogen wurde:

$$Rez_{max} = \frac{\text{Summe der größten Rezessionen}}{\text{Zahnanzahl}}$$

- Klinischer Attachmentverlust (CAL = clinical attachment loss)

Der CAL ergibt sich aus der Distanz zwischen der Schmelz-Zement-Grenze und dem Zahnfleischtaschenfundus und lässt sich demnach aus der Summe der Sondiertiefe und der Rezession berechnen. Analog zu diesen beiden Messwerten wurde auch beim CAL der Maximalwert pro Zahn zur Mittelwertberechnung herangezogen:

$$CAL_{max} = \frac{\text{Summe der größten CAL}}{\text{Zahnanzahl}}$$

Anhand der vorliegenden Patientendaten erfolgte im nächsten Schritt die Parodontitisdiagnostik. Basierend auf 2005 von Tonetti und Claffey veröffentlichten Kriterien, wurde zunächst eine sensitive Diagnostik durchgeführt, wobei jene Patienten mit einem approximalen  $CAL \geq 3$  mm an mehr als 2 nicht benachbarten Zähnen die Diagnose „Parodontitis“ erhielten. Spezifiziert wurde das Ergebnis durch die qualitative Diagnostik, bei der das Vorliegen eines  $CAL \geq 5$  mm bei mindestens 30 % der Zähne als „schwere chronische Parodontitis“ definiert wurde.

### 3.4.2 Mikrobiologische Untersuchung

Nach der parodontologischen Befundaufnahme erfolgte die Untersuchung aller Patienten auf das Vorhandensein parodontaler Markerkeime durch die Entnahme subgingivaler Plaqueproben aus der jeweils tiefsten Zahnfleischtasche jedes Quadranten. War ein Quadrant komplett zahnlos, so erfolgte die Probenentnahme aus den verbliebenen Quadranten, sodass pro Patient je vier Proben vorlagen. Diese wurden als sogenannte „Poolprobe“ in ein gemeinsames Teströhrchen gegeben und mittels des micro-IDent plus® Tests (Hain Lifescience, Nehren) auf 11 parodontopathogene Bakterienspezies untersucht (*Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia*, *Treponema denticola*, *Prevotella intermedia*, *Parvimonas micra*, *Fusobacterium nucleatum*, *Campylobacter rectus*, *Eubacterium nodatum*, *Eikenella corrodens*

und *Capnocytophaga spec.*). Der Test basiert auf der DNA-Strip-Technologie, bei der spezielle DNA-Sequenzen der Parodontalkeime an spezifische Sonden auf einem Membranstreifen (dem DNA-Strip) binden und anschließend durch eine enzymatische Farbreaktion sichtbar gemacht werden.

### 3.4.3 Allgemeinmedizinische Untersuchung

Die medizinische Untersuchung fand unter ärztlicher Aufsicht seitens apl. Prof. Dr. A. Schlitt statt. Die Blutwerte der Nüchternblutentnahme waren von früheren Untersuchungen in den Patientenakten vermerkt und wurden aus diesen übernommen. Dazu zählten:

- INR
- PTT
- Kreatinin
- Harnstoff
- Nüchterntriglyceride
- Cholesterol
- LDL
- HDL
- CRP
- Leukozyten
- Thrombozyten
- Hämoglobin

Alle übrigen Werte wurden durch eine Blutabnahme ermittelt, die von zwei Medizinstudenten durchgeführt wurde. Sie erfolgte immer vormittags, idealerweise zwei Stunden nach dem Frühstück, damit ein Vergleich der Nüchterntriglyceride mit den Triglyceriden zwei Stunden postprandial möglich war. Dabei wurden je 15 ml Patientenblut gewonnen, welches auf EDTA- und Serummonovetten aufgeteilt wurde. Daraus wurden neben den Triglyceriden auch der Interleukin-6-Spiegel, sowie das Differenzialblutbild ermittelt. Für die sRAGE-Bestimmung wurden je 2,5 ml des venösen Patientenblutes in eine EDTA-Monovette gegeben und direkt danach zentrifugiert. Das entstandene Blutplasma wurde bei -20°C eingefroren und bis zur Messung der sRAGE-Konzentration im Februar 2016 ohne Unterbrechung der Kühlkette bei dieser Temperatur gelagert.

### 3.5 Bestimmung der sRAGE-Konzentration

Die Bestimmung der sRAGE-Konzentration erfolgte mit dem Human RAGE Quantikine ELISA kit der Firma R&D Systems (Minneapolis, USA). Der Test weist die extrazelluläre Domäne des humanen Rezeptors für fortgeschrittene Glykierungsendprodukte (RAGE) nach und basiert auf dem sogenannten Sandwich-ELISA (*Enzyme-linked Immunosorbent Assay*) - Test.

#### 3.5.1 Prinzip des Sandwich-ELISA-Tests

Eine Mikrotiterplatte ist vorbeschichtet mit einem für die extrazelluläre Domäne des RAGE-Rezeptors spezifischen monoklonalem Antikörper, dem sogenannten Capture Antibody. Die Serumprobe wird hinzugegeben und das darin enthaltene sRAGE bindet an den immobilisierten Capture-Antikörper (s. Abb. 5). Ein zweiter, polyklonaler Antikörper ist an ein Enzym, die Meerrettich-Peroxidase, gekoppelt und wird ebenfalls hinzugefügt. Dieser auch als Detection Antibody bezeichnete Antikörper bindet wiederum an sRAGE. Ein geeignetes Substrat wird zugesetzt und vom Enzym zu einem Reaktionsprodukt umgesetzt, wodurch ein blauer Farbumschlag sichtbar wird. Durch die Zugabe einer Stopplösung wird die Reaktion beendet und es erfolgt ein

Farbumschlag von blau zu gelb. Dabei ist die Farbintensität proportional zur sRAGE-Konzentration. In einem Photometer wird die optische Dichte gemessen und anhand einer Kalibrierkurve, ermittelt durch Standards bekannter Konzentration, werden die sRAGE-Niveaus bestimmt.

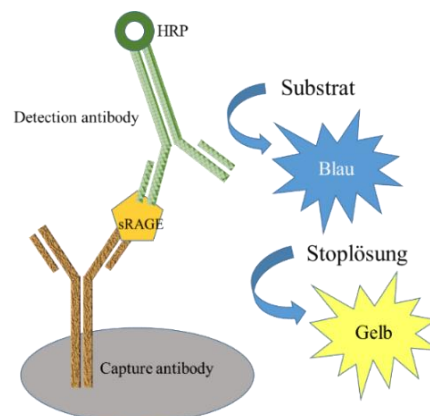


Abb. 5: Prinzip eines Sandwich-ELISA-Tests

### 3.5.2 Durchführung und Auswertung des ELISA-Tests

Folgende Materialien wurden zur Durchführung des sRAGE-ELISA-Tests benötigt:

- Mikroplatte mit 96 Wells, beschichtet mit monoklonalem Antikörper spezifisch für RAGE
- RAGE-Standardlösung
- destilliertes Wasser
- Calibrator Diluent RD 6-10
- Waschpuffer
- RAGE Konjugat
- Farbreagenz A und B
- Stopplösung

#### 1. Herstellung einer Standardverdünnungsreihe

- Die RAGE-Standardlösung wurde mit 1 ml destilliertem Wasser aufgefüllt, was die Stammlösung mit einer Konzentration von 50.000 pg/ml ergab. Diese wurde für 15 Minuten setzen gelassen und währenddessen mehrmals vorsichtig geschüttelt.
- Gleichzeitig wurden 7 Röhrchen vorbereitet. In das erste Röhrchen wurden 900 µl Calibrator Diluent RD 6-10 pipettiert, in die verbleibenden Röhrchen jeweils 500 µl (s. Abb. 6).
- Anschließend wurde entsprechend der Herstellerangabe und des Schemas mithilfe der Stammlösung eine Verdünnungsreihe hergestellt. Dabei diente der entsprechende Calibrator Diluent als Nullstandard mit einer Konzentration von 0 pg/ml.

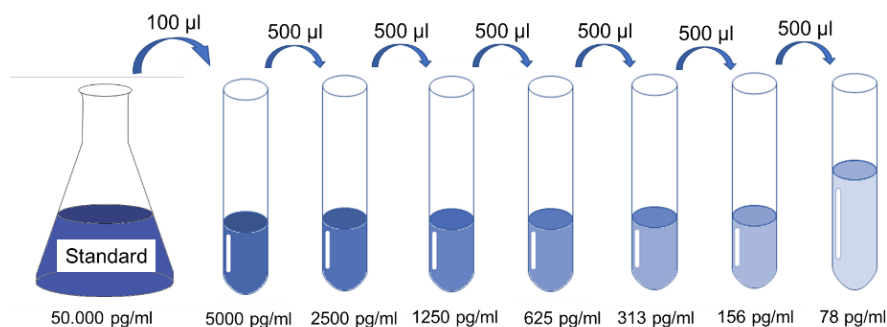


Abb. 6: Schematisierte Herstellung der Standardverdünnungsreihe

## 2. Durchführung des Assays

- Vorbereitend wurden alle Serumproben gevortext.
- In jedes Well wurde 100 µl Assay Diluent gegeben.
- Pro Well wurde je 50 µl der Standardlösung beziehungsweise der Serumprobe hinzugefügt. Die Mikroplatte wurde mit einer Klebefolie abgedeckt und inkubierte 2 Stunden bei Raumtemperatur.
- Anschließend wurden die Wells entleert und vier Mal mit jeweils 400 µl Waschpuffer gespült, um die Überschüsse zu entfernen.
- Es wurden je 200 µl RAGE Konjugat pro Well hinzugefügt. Die Mikroplatte wurde mit Klebefolie abgedeckt und inkubierte wiederum 2 Stunden bei Raumtemperatur.
- Nachfolgend wurde der Waschvorgang (s. oben) wiederholt.
- Es folgte die Vorbereitung der Substratlösung. Dazu wurden gleiche Teile der Farbreagenzien A und B gemischt. Je 200 µl der fertigen Substratlösung wurde in jedes Well gegeben, danach inkubierte die Platte 30 Minuten lichtgeschützt bei Raumtemperatur.
- Nach Ablauf der Zeit wurden 50 µl der Stopplösung pro Well hinzugegeben, was einen Farbumschlag von blau zu gelb bewirkte. Innerhalb von 30 Minuten wurde die optische Dichte bestimmt.

## 3. Photometrische Bestimmung der sRAGE-Konzentration

Die Ermittlung der optischen Dichte und damit der Konzentration der sRAGE-Proben erfolgte in einem Spektralphotometer. Zum Einsatz kam dabei der Microplate-Reader „FLUOstar OPTIMA“ der Firma BMG. Die Grundidee bei der Konzentrationsbestimmung in einem Photometer basiert auf der Tatsache, dass einfallendes monochromatisches Licht einer bestimmten Intensität  $I_0$  beim Durchlaufen einer Lösung zum Teil von den Molekülen in der Lösung absorbiert wird, wobei sich die Absorption hierbei linear proportional zur Konzentration der Moleküle verhält. Die im Spektralphotometer gemessene Größe ist die Extinktion, oft auch als optische Dichte (O.D.) bezeichnet, welche sich aus dem dekadischen Logarithmus des Verhältnisses der einfallenden ( $I_0$ ) zur durchgelassenen ( $I_1$ ) Lichtintensität ermitteln lässt. Sie kann außerdem als Produkt der Schichtdicke der Küvette, der Stoffmengenkonzentration der Lösung sowie des dekadischen Extinktionskoeffizienten berechnet werden. Dieser Zusammenhang wird auch als Lambert-Beer'sches Gesetz bezeichnet und erlaubt durch Umstellen der Gleichung die Berechnung der Konzentration in der untersuchten Lösung.

$E_\lambda$  ... Extinktion

$I_0$  ... einfallende Lichtintensität ( $W/m^2$ )

$I_1$  ... transmittierte Lichtintensität ( $W/m^2$ )

$\epsilon_\lambda$  ... dekadischer Extinktionskoeffizient ( $l/mol \times cm$ )

$d$  ... Küvettenschichtstärke (cm)

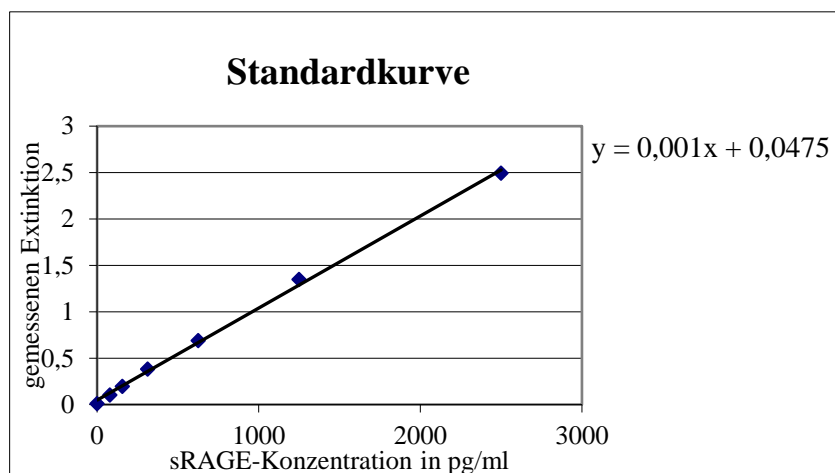
$c$  ... Stoffmengenkonzentration (mol/l)

$$E_\lambda = \log \frac{I_0}{I_1} = \epsilon_\lambda \times d \times c \quad c = \frac{E_\lambda}{\epsilon_\lambda \times d}$$

Mit Hilfe der nach  $c$  umgestellten Gleichung erfolgte die Errechnung der sRAGE-Konzentrationen. Die Küvettenschichtdicke des eingesetzten Photometers betrug 1 cm, wodurch sich die Formel vereinfachte auf:

$$c = \frac{E}{\varepsilon}$$

Zur Ermittlung des dekadischen Extinktionskoeffizienten  $\varepsilon$  mussten zunächst die gemessenen Extinktionswerte der Standardverdünnungsreihe gegen die jeweils zugehörige Konzentration aufgetragen und anschließend mittels linearer Regression eine Regressionsfunktion berechnet werden (s. Abb. 7). Aus dieser konnte so der molare Extinktionskoeffizient  $\varepsilon$  als Steigung der Geraden abgelesen werden.



*Abb. 7: Beispiel einer Standardkurve der Probennummern 208 - 249*

Die Bestimmung der Extinktion  $E$  im Photometer wurde bei zwei verschiedenen Wellenlängen durchgeführt, wobei die erste Messung am Absorptionsmaximum des gelben Farbstoffes erfolgte, das entsprechend den Herstellerangaben bei 450 nm lag. Um Messungenauigkeiten, die zum Beispiel durch Verschmutzungen der Mikrotiterplatte oder optische Unregelmäßigkeiten des Plattenmaterials entstehen können, zu reduzieren, erfolgte gemäß Herstelleranweisung eine zweite Messung bei einer Referenzwellenlänge von 540 nm. Bei dieser Wellenlänge beträgt die Absorption durch den eingesetzten Farbstoff null, wodurch nur die Absorption der umgebenden und damit „störenden“ Materialien gemessen wird. Die bei der Referenzwellenlänge gemessenen Extinktionswerte wurden von den Werten am Absorptionsmaximum subtrahiert und die somit korrigierten Werte für  $E$  in der Berechnung der sRAGE-Konzentration verwendet.

Die sRAGE-Konzentration aller Patientenproben wurde standardmäßig doppelt bestimmt und als endgültiges Ergebnis der Mittelwert der beiden ermittelten Konzentrationen angenommen. Mittels des Kalibriergeraden-Modells nach DIN 32645 (Programm Dintest, Version 2005) wurde für jede Probenreihe die Bestimmungsgrenze errechnet. Die gemittelte Bestimmungsgrenze aus allen Messreihen lag bei 10 pg/ml. Serumproben, deren Konzentration unterhalb dieser Grenze lag ( $n = 33$ ), wurden auf 0 pg/ml festgelegt und gingen dementsprechend in die Berechnung ein.

### **3.6 Follow-Up**

Die Erhebung der Follow-Up-Daten erfolgte zunächst 12 Monate nach der stationären Erstaufnahme der Patienten und erneut drei Jahre nach dem stationären Aufenthalt (November 2013 – Januar 2015). Allen Patienten wurde auf postalischem Weg ein Fragebogen zugeschickt, wobei im Bedarfsfall die aktuelle Wohnanschrift über das zuständige Einwohnermeldeamt ermittelt wurde. Nicht erreichbare Studienteilnehmer wurden telefonisch kontaktiert. Patienten aus dem Raum Halle (Saale), die weder auf die eine noch die andere Weise erreicht werden konnten, wurden zum Teil in ihrem häuslichen Umfeld besucht und befragt. Bei bereits verstorbenen Probanden wurden das Sterbedatum sowie die Todesursache durch Gesundheitsämter, Hausärzte und Angaben von Angehörigen ermittelt. Die erfragten Daten umfassten neue, also nach dem stationären Aufenthalt aufgetretene kardiovaskuläre Ereignisse. Der kombinierte Endpunkt (kEP) wurde als kardiovaskuläres Endpunktereignis definiert und galt als erreicht, wenn mindestens ein neues kardiovaskuläres Folgeereignis (erneuter Myokardinfarkt, Schlaganfall / TIA, kardialer Tod, Tod durch Schlaganfall) bei den Probanden eingetreten war.

### **3.7 Statistik**

Die Auswertung der ermittelten Daten erfolgte mit dem Programm SPSS Statistics in der Version 24 der Firma IBM Corporation (Armonk, USA, 2016).

Alle metrischen Variablen wurden zunächst mittels des Kolmogorov-Smirnov-Tests auf Normalverteilung untersucht. Da keine der stetigen Variablen der Gauß'schen Glockenkurve entsprach und diese damit als nicht normalverteilt galten, erfolgte deren weitere Auswertung mit Hilfe von nichtparametrischen Rangtests. Bivariate Vergleiche erfolgten mit dem Mann-Whitney-U-Test, multivariate Vergleiche wurden dagegen mit dem Kruskal-Wallis-H-Test durchgeführt. Kategoriale Variablen wurden in Kreuztabellen durch Chi-Quadrat-Tests nach Pearson miteinander verglichen und die p-Werte mit Hilfe der Yates-Korrektur korrigiert. Im Rahmen einer binär-logistischen Regressionsanalyse wurde der Zusammenhang mehrerer (unabhängiger) Kofaktoren und einer (abhängigen) dichotomen Variable überprüft. Handelte es sich bei der abhängigen Zielvariablen um eine Überlebenszeit, so wurde der Einfluss unabhängiger Risikofaktoren auf dieselbige mittels der Cox-Regression berechnet. Zur grafischen Darstellung von Überlebenszeiten dienten Kaplan-Meier-Überlebenszeitkurven, wobei signifikante Unterschiede zwischen den verschiedenen Überlebenszeitkurven hierbei mit Hilfe des Log-Rank-Tests berechnet wurden. Als statistisch signifikant wurden alle p-Werte  $< 0,05$  angesehen.

## 4 Ergebnisse

### 4.1 Auswertung der Querschnittsuntersuchungen in Bezug zur parodontalen Diagnose

Von den ursprünglich 1002 in die Studie aufgenommenen Patienten konnten nach dreijährigem Follow-Up von 49 Probanden keine Daten mehr erhoben werden, wodurch sich eine Drop-out-Rate von 4,89 % ergab. Weitere 16 Teilnehmer schieden aufgrund von nicht vorhandenen oder nicht ausreichenden Blutproben aus, womit sich die endgültige Probandenzahl auf 933 reduzierte.

#### 4.1.1 Demografische Parameter in Abhängigkeit der parodontalen Diagnose

In der Gesamtbetrachtung aller KHK-Patienten ließ sich bei 445 der Probanden eine schwere Parodontitis nachweisen, was einen prozentualen Anteil von 47,7 % bezogen auf alle Studienteilnehmer ausmachte (Tab. 3). Da von unseren Probanden lediglich 20 parodontal gesund waren und damit eine zu geringe statistische Aussagekraft gehabt hätten, wurden diese der Gruppe mit leichter Parodontitis zugeordnet (n = 488).

Die Studiengruppe wies im Mittel ein Alter von 66,83 Jahren auf und bestand zu fast drei Vierteln aus männlichen Probanden. Während sich das Alter und der BMI nicht signifikant in Abhängigkeit von der parodontalen Diagnose unterschieden, waren Männer und Raucher signifikant häufiger unter den Patienten mit einer schweren Parodontitis zu finden.

**Tab. 3:** Demografische Daten der Gesamtstudiengruppe in Abhängigkeit der parodontalen Diagnose

	Gesamtgruppe		N = 933	
		n	%	
keine oder milde Parodontitis		488	52,3	
schwere Parodontitis		445	47,7	
	Gesamtgruppe	keine / milde Parodontitis	schwere Parodontitis	p-Wert
Alter [Jahre] (MW ± SD)	66,83 ± 11,01	66,4 ± 11,18	67,4 ± 10,81	0,458*
♂ Geschlecht (%)	73,7	69,5	78,4	0,002**
Raucher (%)	12,4	9,0	16,2	0,001**
BMI [kg/m <sup>2</sup> ] (MW ± SD)	28,32 ± 4,43	28,36 ± 4,31	28,29 ± 4,57	0,987*

BMI: Body-Mass-Index, MW: Mittelwert, SD: Standardabweichung \*Mann-Whitney-U-Test, \*\*Chi<sup>2</sup>-Test mit Yates Korrektur

#### 4.1.3 Zahnärztlich-klinische Parameter

Die Gruppe mit schwerer Parodontitis zeigte signifikant höhere Werte für die parodontalen Parameter Plaqueindex, Blutungsindex, Sondiertiefe sowie klinischen Attachmentverlust. Patienten dieser Kohorte wiesen signifikant häufiger fehlende und kariöse Zähne auf. Die Anzahl der gefüllten Zähne fiel dagegen signifikant geringer aus. Der diese drei Werte einschließende DMF/T-Index war letztlich bei schwerer Parodontitis signifikant erhöht (Tab. 4).

**Tab. 4:** Zahnärztlich-klinische Daten der Gesamtstudiengruppe bezogen auf die parodontale Diagnose

	Gesamtgruppe (N = 933) MD (25./75. Perzentil)	keine/milde Parodontitis (n = 488) MD (25./75. Perzentil)	schwere Parodontitis (n = 445) MD (25./75. Perzentil)	p-Wert
Plaquesindex	0,8 (0,52 / 1,4)	0,7 (0,4 / 0,9)	1,2 (0,8 / 2,0)	0,000*
BOP	5,6 (1,9 / 12,5)	3,7 (0,0 / 8,2)	8,3 (3,6 / 15,0)	0,000*
ST [mm]	3,5 (2,9 / 4,1)	3,1 (2,5 / 3,5)	4,1 (3,6 / 4,6)	0,000*
CAL [mm]	4,1 (3,3 / 5,1)	3,3 (2,8 / 3,8)	5,1 (4,5 / 6,2)	0,000*
fehlende Zähne	10,0 (5,0 / 19,0)	7,0 (3,0 / 13,0)	15,0 (8,0 / 21,0)	0,000*
kariöse Zähne	0,0 (0,0 / 0,0)	0,0 (0,0 / 0,0)	0,0 (0,0 / 0,0)	0,005*
(MW ± SD)	0,3 ± 0,91	0,21 ± 0,67	0,39 ± 1,1	
gefüllte Zähne	5,0 (2,0 / 8,0)	7,0 (4,0 / 10,0)	4,0 (1,0 / 6,0)	0,000*
DMF/T-Index	18,0 (12,0 / 23,0)	16,0 (11,0 / 21,0)	21,0 (14,0 / 24,0)	0,000*

BOP: Bleeding on Probing, ST: Sondiertiefe, CAL: Clinical attachment loss, MD: Median, MW: Mittelwert, SD: Standardabweichung \*Mann-Whitney-U-Test

#### 4.1.4 Parodontopathogene Bakterien

Die Analyse der subgingivalen Plaque bezüglich parodontopathogener Markerkeime zeigte eine signifikant erhöhte Keimbelastung mit Bakterien des roten Komplexes bei Patienten mit schwerer Parodontitis. In derselben Probandengruppe konnten außerdem signifikant häufiger Erreger des orangenen und des orange-assoziierten Komplexes nachgewiesen werden, ausgenommen das Bakterium *Fusobacterium nucleatum*. Erreger des grünen Komplexes sowie das einzelständige *A.a.* waren nicht signifikant häufiger bei schwerer Parodontitis zu finden (Tab. 5).

**Tab. 5:** Prozentuales Auftreten parodontopathogener Bakterien innerhalb der Gesamtstudiengruppe und in Abhängigkeit von der parodontalen Diagnose

	Gesamtgruppe (N = 933)	keine / milde Parodontitis (n = 488)	schwere Parodontitis (n = 445)	p-Wert
<i>P. gingivalis</i> (%)	63,7	54,9	73,3	0,000**
<i>T. forsythia</i> (%)	76,7	72,5	81,3	0,001**
<i>T. denticola</i> (%)	60,2	55,7	65,2	0,003**
<i>P. intermedia</i> (%)	23,5	19,9	27,4	0,007**
<i>P. micra</i> (%)	78,5	75,2	82,0	0,011**
<i>F. nucleatum</i> (%)	97,7	97,1	98,4	0,183**
<i>C. rectus</i> (%)	62,0	57,4	67,0	0,003**
<i>E. nodatum</i> (%)	30,8	24,6	37,5	0,000**
<i>E. corrodens</i> (%)	70,3	69,1	71,1	0,380**
<i>Capnocytophaga spec.</i> (%)	69,0	69,9	68,1	0,555**
<i>A. actinomycetemcomitans</i> (%)	10,0	10,7	9,2	0,406**

\*\*Chi<sup>2</sup>-Test mit Yates Korrektur



#### 4.1.5 Anamnestisch erfasste allgemeinmedizinische Vorerkrankungen

Bei Patienten, die einen Schlaganfall bzw. eine TIA erlitten hatten, konnte signifikant häufiger eine schwere Parodontitis diagnostiziert werden ( $p = 0,045$ ). Dahingegen nahmen Hypertonie und Dyslipoproteinämie keinen Einfluss auf die parodontale Diagnose. Lediglich in der Gruppe der Diabetiker zeigte sich wiederum eine positive, wenn auch nicht signifikante ( $p = 0,066$ ) Tendenz hinsichtlich der schwer ausgeprägten Form der Zahnbetterkrankung. Bei fast  $\frac{3}{4}$  der an der Studie teilnehmenden Patienten war schon vor Studieneinschluss eine KHK diagnostiziert worden. In dieser Probandengruppe sowie bei Teilnehmern mit anamnestisch bekanntem Myokardinfarkt traten signifikant häufiger Fälle schwerer Parodontitis auf (Tab. 6). Indes waren bei familiärer KHK und bei Patienten mit peripherer arterieller Verschlusskrankheit (pAVK) keine solchen Assoziationen feststellbar.

**Tab. 6:** Anamnestisch bekannte Vorerkrankungen der Gesamtstudiengruppe in Abhängigkeit von der parodontalen Diagnose

	Gesamtgruppe (N = 933)	keine / milde Parodontitis (n = 488)	schwere Parodontitis (n = 445)	p-Wert
Diabetes mellitus (%)	33,9	31,1	36,9	0,066**
Hypertonie (%)	87,6	88,1	87,0	0,595**
Dyslipoproteinämie (%)	58,6	60,9	56,2	0,147**
TIA / Schlaganfall (%)	13,0	10,9	15,3	0,045**
Myokardinfarkt (%)	38,4	34,6	42,5	0,014**
KHK - anamnestisch bekannt (%)	74,3	71,7	77,8	0,020**
- Familienanamnese (%)	40,2	42,8	37,3	0,086**
pAVK (%)	9,0	8,8	9,2	0,830**

TIA: Transitorisch ischämische Attacke, KHK: Koronare Herzerkrankung, pAVK: periphere arterielle Verschlusskrankheit, \*\*Chi<sup>2</sup>-Test mit Yates Korrektur

#### 4.1.6 Biochemisch-serologische Parameter

Bei der Auswertung der Patientenblutwerte fiel auf, dass bei Probanden mit einer diagnostizierten schweren Parodontitis signifikant häufiger die beiden Entzündungsmarker CRP und IL-6 erhöht waren. In derselben Patientengruppe konnten zudem signifikant erhöhte Kreatinin-Werte gemessen werden. Bei den übrigen Laborparametern ließ sich zwischen beiden Gruppen kein signifikanter Unterschied feststellen.

Die in Tabelle 7 angegebenen Referenzwerte wurden vom Zentrallabor der Medizinischen Fakultät der Martin-Luther-Universität publiziert (Stand 21.11.2018).

**Tab. 7:** Serologische Daten der Gesamtstudiengruppe in Abhängigkeit der parodontalen Diagnose

	Gesamtgruppe (N = 933) Median (25./75. Perzentil)	keine / milde Parodontitis (n = 488) Median (25./75. Perzentil)	schwere Parodontitis (n = 445) Median (25./75. Perzentil)	p-Wert
<b>C-reaktives Protein [mg/l]</b> (Ref. < 5mg/l)	9,0 (3,7 / 33,1)	7,4 (3,1 / 27,5)	10,2 (5,0 / 38,1)	0,006*
<b>Leukozyten [Gpt/l]</b> (Ref. ♂: 3,7-9,9 ♀: 3,9-10,4)	7,9 (6,4 / 9,7)	7,7 (6,4 / 9,7)	8,0 (6,5 / 9,7)	0,506*
<b>Interleukin 6 [pg/ml]</b> (Ref. < 7 pg/ml)	7,4 (3,7 / 15,7)	6,7 (3,4 / 13,8)	8,2 (4,2 / 18,0)	0,002*
<b>Kreatinin [µmol/l]</b> (Ref. ♂: 62-106 ♀: 44-80)	86,0 (72,0 / 107,0)	85,0 (72,0 / 104,0)	88,0 (73,0 / 112,0)	0,039*
<b>Total-Cholesterin [mmol/l]</b> (Ref. < 5,2 mmol/l)	4,3 (3,7 / 5,3)	4,4 (3,7 / 5,3)	4,3 (3,7 / 5,3)	0,330*
<b>HDL-Cholesterin [mmol/l]</b> (Ref. niedriges-mäßiges Risiko: ♂: > 0,9 ♀: > 1,15)	1,0 (0,8 / 1,2)	1,0 (0,8 / 1,2)	1,0 (0,8 / 1,2)	0,518*
<b>LDL-Cholesterin [mmol/l]</b> (Ref. < 2,59 mmol/l)	2,6 (2,0 / 3,3)	2,6 (2,1 / 3,4)	2,6 (2,0 / 3,3)	0,454*
<b>Triglyzeride [mmol/l]</b> (Ref. < 1,7 mmol/l)	1,4 (1,0 / 1,9)	1,3 (0,9 / 1,9)	1,4 (1, / 1,9)	0,149*

HDL: High density lipoprotein, LDL: Low density lipoprotein, \*Mann-Whitney-U-Test

#### 4.2 Auswertung der Querschnittsuntersuchung in Bezug zur sRAGE-Konzentration

Auf Grundlage aller 933 Patienten-Plasmaproben konnte eine durchschnittliche sRAGE-Konzentration von 705,98 pg/ml ermittelt werden, von welcher die Standardabweichung 783,2 pg/ml betrug (Tab. 8). Der Median lag mit 561,4 pg/ml deutlich niedriger als der ermittelte Mittelwert. Da sich die Variable „Plasmakonzentration von sRAGE“ in der Grundgesamtheit als nicht normalverteilt darstellte (Shapiro-Wilk-Test:  $p < 0,0001$ ), wurden zur weiteren Auswertung bevorzugt die Perzentile herangezogen.

**Tab. 8:** Mittelwert, Extremwerte und Quartile der sRAGE-Konzentration aller Studienteilnehmer in pg/ml

Mittelwert (± SD)	Minimum / Maximum	Median (25./75. Perzentil)
705,98 ± 783,2	< 10 / 10.407,6	561,4 (367,8 / 842,4)

SD: Standardabweichung

#### 4.2.1 sRAGE und Assoziation zum Geschlecht

Zunächst wurde die sRAGE-Plasmakonzentration in Bezug auf Unterschiede zwischen dem weiblichen und dem männlichen Geschlecht untersucht. Dabei waren fast  $\frac{3}{4}$  aller in die Studie eingeschlossenen Patienten Männer. Diese wiesen, wie in Tabelle 9 ersichtlich, im Vergleich zur kleineren weiblichen Studienkohorte leicht erniedrigte sRAGE-Werte (MD 539,2 vs. 606,7 pg/ml) auf. Der Mann-Whitney-U-Test ergab für die Unterschiede zwischen den beiden Gruppen bezüglich der sRAGE-Konzentration eine leichte Signifikanz ( $p = 0,046$ ).

**Tab. 9:** sRAGE in Abhängigkeit vom Geschlecht

	weibliches Geschlecht (n = 245)	männliches Geschlecht (n = 688)
Median (25./75. Perzentil)	606,7 (397,8 / 880,6) pg/ml	539,2 (362,5 / 830,2) pg/ml ↓
Signifikanz	$p = 0,046^*$	

\*Mann-Whitney-U-Test

#### 4.2.2 sRAGE in Assoziation zur parodontalen Diagnose

Bei der statistischen Auswertung der sRAGE-Plasmakonzentration in Bezug zur Schwere der Parodontitis zeigte sich, dass Probanden mit einer schweren Parodontitis tendenziell geringere sRAGE-Spiegel aufwiesen als Patienten mit keiner oder leichter Parodontitis (Tab. 10). Der Unterschied war jedoch nicht signifikant ( $p = 0,125$ ).

**Tab. 10:** sRAGE in Abhängigkeit von der parodontalen Diagnose

	keine / leichte Parodontitis (n = 488)	schwere Parodontitis (n = 445)
Median (25./75. Perzentil)	576,2 (387,7 / 854,8) pg/ml	533,5 (347,5 / 824,6) pg/ml ↓
Signifikanz	$p = 0,125^*$	

\*Mann-Whitney-U-Test

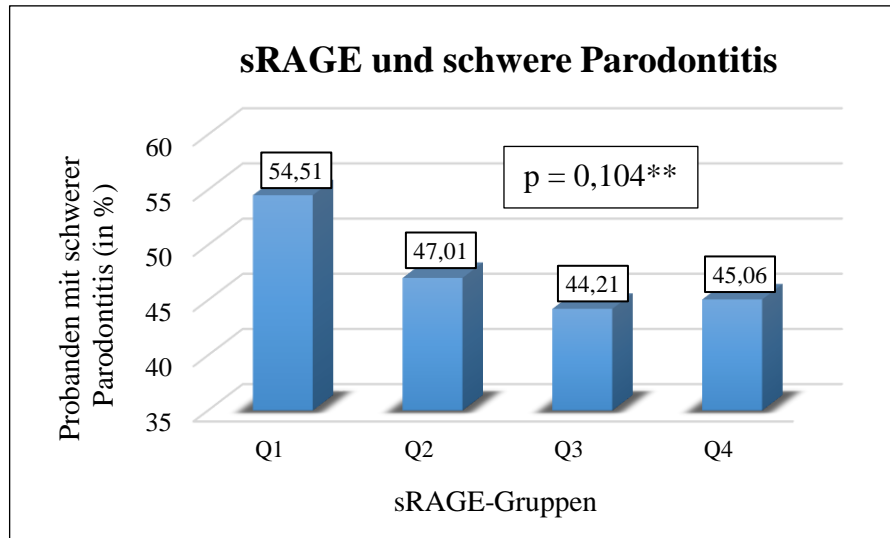
Um dieses Ergebnis zu präzisieren, wurde die Studienkohorte den sRAGE-Quartilen entsprechend in vier gleich große Gruppen (Q1 – Q4) unterteilt (Tab. 11).

**Tab. 11:** Unterteilung der Gesamtstudiengruppe anhand der sRAGE-Quartile

sRAGE-Gruppe	sRAGE-Wertebereich (in pg/ml)	n Probanden	Fälle schwerer Parodontitis	
			n	%
Q1	< 367,8	233	127	54,51
Q2	367,8 – 561,39	234	110	47,01
Q3	561,4 – 842,39	233	103	44,21
Q4	> 842,39	233	105	45,06

Q: Quartil

Nun wurde für jede der Quartilsgruppen die Anzahl der Probanden mit einer schwer ausgeprägten Form der Parodontitis ermittelt (s. Abb. 8). Auch hier ließ sich die Assoziation zwischen niedrigen sRAGE-Spiegeln und der schweren Parodontitis bestätigen (54,51 % in Q1 vs. 45,06 % in Q4), wobei wiederum keine Signifikanz erreicht wurde ( $p = 0,104$ ).



**Abb. 8:** Prozentualer Anteil schwerer Fälle der Parodontitis innerhalb der sRAGE-Gruppen Q1-Q4, Q: Quartil, \*\*Chi<sup>2</sup>-Test mit Yates Korrektur

Nach binärer logistischer Regression unter Einbeziehung etablierter Kofaktoren für Parodontitis zeigte sich bei höheren sRAGE-Konzentrationen (Quartil 4) eine signifikant verminderte adjustierte Odds Ratio für schwere Parodontitis ( $p = 0,002$ ; Tab. 12).

**Tab. 12:** Binär-logistische Regression für schwere Parodontitis adjustiert für die etablierten Risikofaktoren der Parodontitis Alter, männliches Geschlecht, Rauchen, Diabetes mellitus und Plaqueindex

Kovariaten	Odds Ratio	95 % Konfidenzintervall		p
		Unterer Wert	Oberer Wert	
Alter	1,02	1,00	1,03	0,044
männl. Geschlecht	1,25	0,89	1,74	0,192
Raucher (aktuell)	1,73	1,05	2,84	0,030
Diabetes mellitus	1,08	0,79	1,47	0,628
Plaqueindex	3,59	2,84	4,53	0,000
<b>sRAGE-Plasmalevel</b>				
Q1	-	-	-	-
Q2	0,69	0,46	1,04	0,073
Q3	0,67	0,45	1,00	0,050
Q4	0,53	0,35	0,79	0,002

BMI: Body Mass Index, Q: Quartil

Für die Quartile Q2 und Q3 war ebenfalls eine verringerte Odds Ratio zu verzeichnen, diese erreichte jedoch nicht das Signifikanzniveau. Das Rauchen als bekannter Risikofaktor für Parodontitis wies eine 1,73-fach erhöhte Odds Ratio für die schwere Zahnbettterkrankung auf ( $p = 0,030$ ). Als größter Einflussfaktor für das Auftreten einer schweren Form der Zahnbettterkrankung erwies sich jedoch der Plaqueindex (Odds Ratio 3,59;  $p < 0,0001$ ). Auch die Kovariablen männliches Geschlecht und Diabetes mellitus gingen mit einem leicht erhöhten Risiko für schwere Parodontitis einher, diese Assoziation zeigte jedoch keine Signifikanz.

#### 4.2.3 sRAGE in Assoziation zu parodontopathogenen Bakterien

Im Spezielleren wurde nun die Korrelation von sRAGE zum positiven Nachweis von 11 parodontalen Leitbakterien untersucht (Tab. 13).

Tab. 13: sRAGE in Abhängigkeit parodontaler Markerkeime

Bakterienspezies	Bakteriennachweis positiv		Bakteriennachweis negativ		p
	n	Median (25./75. Perzentil) [pg/ml]	n	Median (25./75. Perzentil) [pg/ml]	
<u>Roter Komplex</u>					
<i>P. gingivalis</i>	339	600,6 (389,2 / 848,1)	594	535,0 (354,1 / 821,1)	0,041*
<i>T. forsythia</i>	217	607,3 (393,5 / 884,5)	716	541,8 (355,1 / 805,1)	0,030*
<i>T. denticola</i>	371	594,0 (393,8 / 855,0)	562	527,5 (350,6 / 807,9)	0,013*
<u>Oranger Komplex</u>					
<i>P. intermedia</i>	714	560,1 (372,6 / 821,1)	219	563,5 (335,3 / 973,4)	0,692*
<i>P. micra</i>	201	589,5 (374,3 / 887,6)	732	554,3 (360,1 / 822,9)	0,228*
<i>F. nucleatum</i>	21	570,0 (284,4 / 878,7)	912	561,2 (368,3 / 840,1)	0,911*
<u>Orange-assoziiertes Komplex</u>					
<i>C. rectus</i>	355	580,0 (381,7 / 863,7)	578	542,1 (356,1 / 817,1)	0,182*
<i>E. nodatum</i>	646	565,5 (368,2 / 845,1)	287	540,2 (362,3 / 807,6)	0,695*
<u>Grüner Komplex</u>					
<i>E. corrodens</i>	277	618,3 (382,0 / 874,3)	656	545,3 (357,4 / 808,2)	0,027*
<i>C. spp.</i>	289	508,9 (330,3 / 779,9)	644	577,8 (385,1 / 858,6)	0,003*
<i>A. actinomycetem.</i>	840	565,5 (364,8 / 845,8)	93	497,7 (381,4 / 762,2)	0,433*

\*Mann-Whitney-U-Test

Beim Auftreten der Vertreter des roten Komplexes (*P. gingivalis*, *T. forsythia*, *T. denticola*) sowie des Bakteriums *Eikenella corrodens* aus dem grünen Komplex fanden sich signifikant häufiger erniedrigte sRAGE-Level, wohingegen bei Anwesenheit von *Capnocytophaga species* (*C. spp.*), welche ebenfalls dem grünen Komplex angehören, der Plasmaspiegel signifikant erhöht war. Die Mitglieder des orangenen und des orange-assoziierten Komplexes sowie *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* zeigten keinerlei signifikante Assoziation hinsichtlich des Rezeptors.

#### 4.2.4 sRAGE in Assoziation zum kombinierten Endpunkt

Im Nachfolgenden wurde der Zusammenhang der sRAGE-Spiegel zum kardiovaskulären Outcome unter den KHK-Patienten statistisch untersucht. Die Grundlage des kardiovaskulären Outcomes stellte der kombinierte Endpunkt dar.

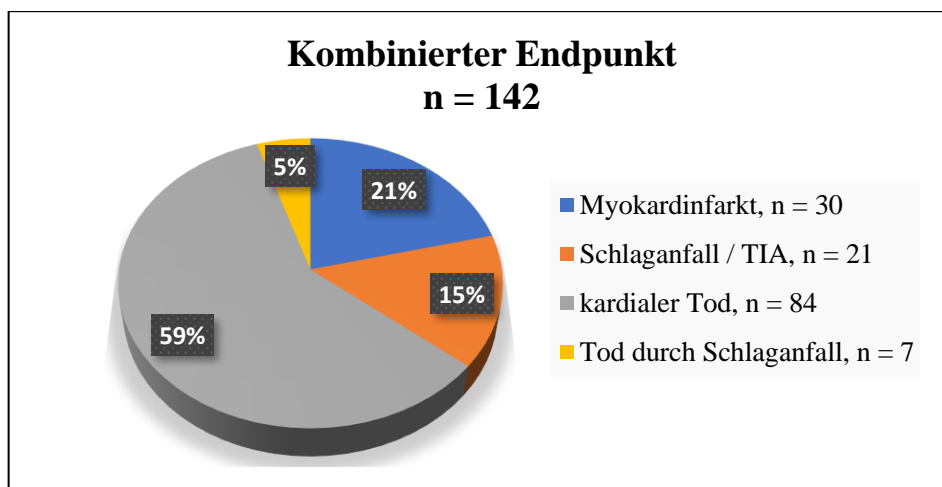
##### Kombinierter Endpunkt nach drei Jahren Follow-Up

Aus der Gesamtheit aller 933 Probanden konnten von insgesamt 47 Patienten keine 3-Jahres-Follow-Up-Daten ermittelt werden (Drop-out-Rate = 5,04 %), womit sich die Anzahl der für den kombinierten Endpunkt statistisch auswertbaren Patienten auf 886 verringerte (s. Abb. 9).



*Abb. 9: Inzidenz des Kombinierten Endpunkts innerhalb der Gesamtkohorte*

Bei 142 (16,03 %) der verbliebenen Probanden konnte innerhalb des 36-monatigen Follow-Up-Zeitraumes ein kardiovaskuläres Folgeereignis dokumentiert werden, wohingegen 744 Patienten den kombinierten Endpunkt nicht erreichten. Die Verteilung der Einzelereignisse stellte sich folgendermaßen dar:



*Abb. 10: Auftreten der kardiovaskulären Einzelereignisse innerhalb des kombinierten Endpunktes*

##### Kombinierter Endpunkt und Assoziation zur Höhe des sRAGE-Spiegels

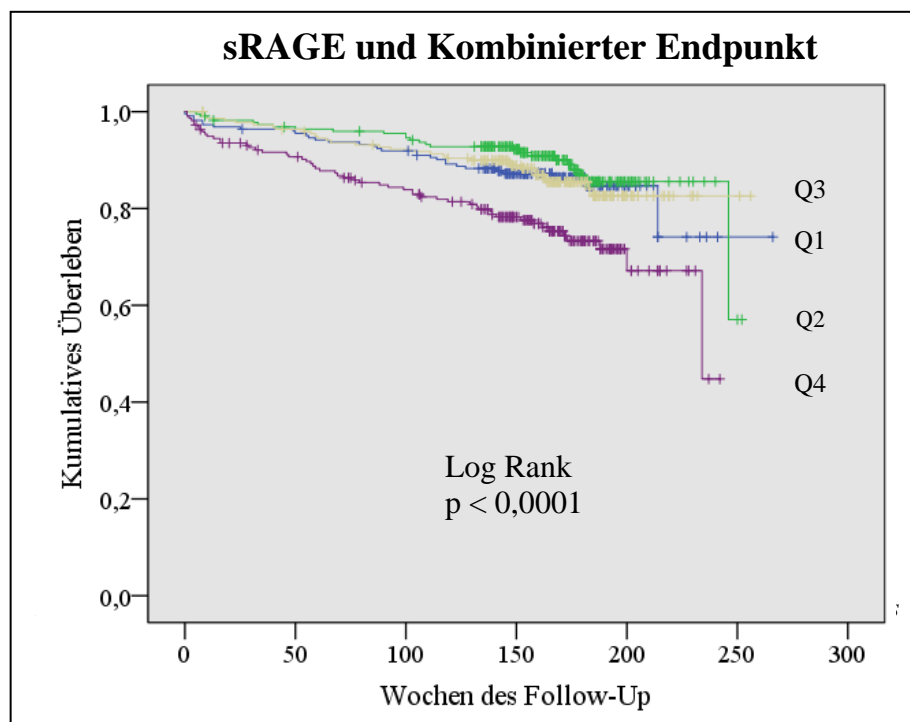
Es folgte nun die Untersuchung der Frage, inwieweit sich ein Zusammenhang zwischen dem Eintreten des kombinierten Endpunktes und der sRAGE-Konzentration nachweisen ließe. Der Vergleich der Studienkohorte der Patienten, die den kombinierten Endpunkt erreicht hatten, mit jenen Probanden ohne Folgeereignis ergab, dass Patienten mit kEP einen signifikant höheren Median für sRAGE aufwiesen als Patienten ohne kEP (Tab. 14).

**Tab. 14:** sRAGE in Abhängigkeit des kombinierten Endpunktes

	kEP nach 3 Jahren Follow-up nicht erreicht (n = 744)	kEP nach 3 Jahren Follow-up erreicht (n = 142)
Median (25./75. Perzentil)	539,8 (362,8 / 794,1) pg/ml	641,2 (392,4 / 1008,4) pg/ml ↑
Signifikanz	$p < 0,0001^*$	

kEP: kombinierter Endpunkt, \*Mann-Whitney-U-Test

Anschließend wurden die Ergebnisse der univariaten Überlebenszeitanalyse grafisch in Form von Kaplan-Meier Überlebenszeitkurven dargestellt. Hierbei zeigte sich, dass Studienteilnehmer der Gruppe Q4 eine im Vergleich zu den restlichen drei Quartilsgruppen signifikant (Log Rank  $p < 0,0001$ ) verringerte Überlebensrate aufwiesen (s. Abb. 11). Insgesamt lässt sich somit vereinfacht resümieren, dass ein hoher sRAGE-Spiegel mit einem erhöhten Risiko für die Inzidenz des kombinierten Endpunktes assoziiert war.



**Abb. 11:** Kaplan-Meier-Überlebenszeitkurven zur Inzidenz des kombinierten Endpunktes in Abhängigkeit der sRAGE-Plasmakonzentration, Q: Quartil

Um den Einfluss verschiedener Kofaktoren auf die Inzidenz des kombinierten Endpunktes zu verdeutlichen, wurde im Anschluss eine multivariate Überlebenszeitanalyse im Sinne einer Cox-Regression durchgeführt. Entsprechend den Quartilen des sRAGE-Plasmaspiegels wurde die Studienkohorte zunächst in vier Gruppen (Q1 - Q4, Tab. 15) gesplittet und mithilfe des Cox-Modells für jede Gruppe (Q1 diente dabei als Vergleichsgruppe) die Hazard Ratio für ein erneutes Ereignis innerhalb des Nachbetreuungszeitraumes errechnet. Andere kardiovaskuläre Risikofaktoren wurden dabei vorerst nicht in der Berechnung berücksichtigt. Es zeigte sich, dass das Risiko für das Eintreten des kombinierten Endpunktes mit dem Level des sRAGE-Spiegels anstieg. Während

Patienten der Gruppe Q2 eine tendenziell geringere Wahrscheinlichkeit für ein Folgeereignis aufwiesen (HR: 0,77), war das Risiko bei Patienten der Gruppe Q4 um 97 % signifikant erhöht.

**Tab. 15:** Cox-Regression für die Inzidenz des kombinierten Endpunkts innerhalb der sRAGE-Gruppen Q1-Q4 ohne Berücksichtigung von kardiovaskulären Risikofaktoren

sRAGE-Plasmalevel [pg/ml]	kEP erreicht n (%)	Hazard Ratio	95 % Konfidenzintervall		p
			Unterer Wert	Oberer Wert	
Q1 < 367,8	31 (21,8)				
Q2 367,8 – 561,39	26 (18,3)	0,77	0,45	1,30	0,325
Q3 561,4 – 842,39	31 (21,8)	0,98	0,6	1,62	0,941
Q4 > 842,39	54 (38,0)	1,97	1,27	3,07	0,003

kEP: kombinierter Endpunkt, Q: Quartil

Dieselbe statistische Analyse wurde erneut durchgeführt, nun aber unter Berücksichtigung von verschiedenen, für KHK etablierten Risikofaktoren (Tab. 16).

**Tab. 16:** Cox-Regression für die Inzidenz des kombinierten Endpunktes innerhalb der sRAGE-Gruppen Q1-Q4 unter Einbeziehung von etablierten Kofaktoren für KHK

Kovariaten	Hazard Ratio	95 % Konfidenzintervall		p
		Unterer Wert	Oberer Wert	
Alter > 65 Jahre	1,29	0,86	1,93	0,212
männl. Geschlecht	1,31	0,86	2,00	0,217
BMI > 25	0,69	0,45	1,04	0,075
Raucher (aktuell)	0,60	0,30	1,19	0,142
Diabetes mellitus	1,75	1,22	2,51	0,002
Hypertonie	0,92	0,52	1,62	0,772
Dyslipoproteinämie	1,05	0,73	1,50	0,810
pAVK	2,70	1,74	4,17	0,000
schwere Parodontitis	1,32	0,93	1,87	0,120
CRP > 10 mg/l	1,62	1,10	2,39	0,015
IL-6 > 10 pg/ml	1,35	0,92	1,97	0,120
<b>sRAGE-Plasmalevel</b>				
Q1	-	-	-	-
Q2	0,77	0,45	1,34	0,353
Q3	0,96	0,60	1,62	0,896
Q4	1,67	1,05	2,66	0,031

BMI: Body Mass Index, pAVK: periphere arterielle Verschlusskrankheit, CRP: C-reaktives Protein, IL-6: Interleukin-6, Q: Quartil

Erhöhte, aber nicht signifikante Hazard Ratios ließen sich bei Probanden über 65 Jahren und männlichen Geschlechts, bei Patienten mit schwerer Parodontitis wie auch bei erhöhten IL-6-Spiegeln feststellen. Ein signifikant erhöhtes Risiko für ein neues Ereignis innerhalb des



dreijährigen Beobachtungszeitraumes zeigte sich bei Diabetikern und Studienteilnehmern mit erhöhten CRP-Werten sowie vor allem Patienten mit pAVK (HR: 2,7:  $p < 0,0001$ ). Die Ergebnisse für Raucher und Patienten mit erhöhten BMI-Werten wiesen überraschenderweise in die gegen- teilige Richtung: Hier ergaben sich erniedrigte Hazard Ratios (nicht signifikant) für das Eintreten des kombinierten Endpunktes. Unter Einbeziehung aller in Tabelle 16 aufgeführten kardialen Kofaktoren wurde nun erneut das Risiko für die sRAGE-Gruppen Q2 bis Q4 bestimmt. Die Aus- wertung der adjustierten Hazard Ratios konnte die Tendenz der unadjustierten Risiken aus Tabelle 16 weitgehend bestätigen, denn auch hier stieg das Risiko für das Eintreten eines Folgeereignisses mit höherer Konzentration des Rezeptors an. Signifikanz erreichten wiederum nur Patienten mit Plasmawerten über der 75er-Perzentil-Marke ( $p = 0,031$  in Q4).

#### 4.2.5 sRAGE in Assoziation zu bekannten Confoundern der KHK / Parodontitis

Im Folgenden wurden gemeinsame Risikofaktoren der KHK und Parodontitis im Zusammenhang zur sRAGE-Konzentration untersucht. Berücksichtigung fanden dabei sowohl Erkrankungen (Di- abetes mellitus) als auch Lifestyle-Faktoren (Rauchen) der Studienteilnehmer. Zusätzlich wurde eine mögliche Assoziation von sRAGE zu den serologischen Entzündungsmarkern CRP und IL- 6 exploriert.

##### 4.2.5.1 sRAGE in Assoziation zu Diabetes mellitus

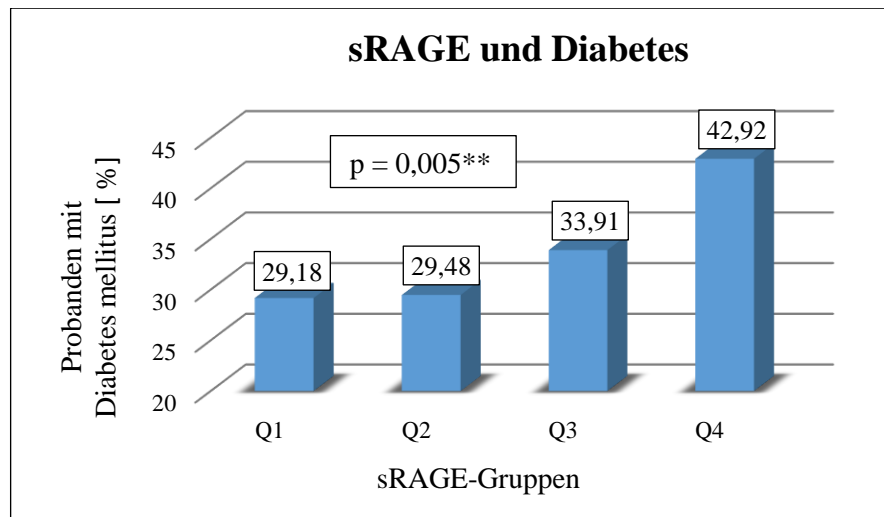
Von allen in die Studie aufgenommenen Patienten gaben 316 (33,9 %) in der Anamnese an, an einem diagnostizierten Diabetes mellitus zu leiden. Bei der statistischen Auswertung der sRAGE- Spiegel im Zusammenhang zum Diabetes zeigte sich, dass Probanden unter Einfluss der Stoff- wechselekrankung erhöhte sRAGE-Spiegel aufwiesen (MD: 601,1 vs. 527,6 pg/ml, Tab. 17). Der Unterschied zu den Nichtdiabetikern erwies sich als hoch signifikant ( $p = 0,001$ ).

*Tab. 17: sRAGE und Assoziation zum Diabetes mellitus*

	kein Diabetes mellitus n = 617	Diabetes mellitus n = 316
Median (25./75. Perzentil)	527,6 (355,9 / 781,6) pg/ml	601,1 (389,3 / 923,9) pg/ml ↑
Signifikanz	$p = 0,001^*$	

*\*Mann-Whitney-U-Test*

Ähnliches zeichnete sich bei der Auswertung der Anzahl der Diabetiker innerhalb der sRAGE- Quartile ab: Die Anzahl der Erkrankten nahm mit steigendem Plasmalevel des Rezeptors zu und erreichte in der Gruppe Q4 mit 42,92 % ihr Maximum (Abb. 12). Der Unterschied zwischen den vier Gruppen erwies sich auch in diesem Fall wieder als hoch signifikant ( $p = 0,005$ ).



**Abb. 12:** Prozentualer Anteil an Patienten mit Diabetes mellitus innerhalb der sRAGE-Gruppen Q1-Q4, Q: Quartil, \*\*Chi<sup>2</sup>-Test mit Yates Korrektur

#### 4.2.6.1 sRAGE in Assoziation zum Rauchen

Unter den Studienteilnehmern gaben 116 (12,43 %) im Aufnahmebogen an, aktuell Raucher zu sein. Daneben wurde ebenfalls abgefragt, wie viele Zigaretten pro Tag und wie viele Jahre die Patienten schon rauchten. Vier der rauchenden Studienteilnehmer machten hierzu keine Angaben, womit sich die Anzahl der in die statistischen Berechnungen eingeschlossenen Raucher auf 112 verringerte. Im Mittel konsumierten diese Patienten 15,34 Zigaretten pro Tag (SD: 8,55) und das seit gemittelt 33,11 (SD: 9,69) Jahren. Mithilfe dieser beiden Parameter konnte anschließend ein Mittelwert von 25,40 Packungsjahren ermittelt werden (s. 3.5.2).

Bei der Betrachtung der sRAGE-Werte in Bezug auf das Rauchen fiel auf, dass innerhalb der Gruppe der Raucher niedrigere Werte auftraten als in der Gruppe der Nichtraucher (Tab. 18). Der Unterschied zwischen den beiden Patientenkohorten erwies sich dabei als leicht signifikant ( $p = 0,045$ ).

**Tab. 18:** sRAGE in Abhängigkeit vom Rauchen

	Nichtraucher (n = 817)	Raucher (n = 116)
Median (25./75. Perzentil)	567,6 (369,9 / 847,8) pg/ml	524,9 (342,2 / 696,3) pg/ml ↓
Signifikanz	$p = 0,045^*$	

\*Mann-Whitney-U-Test

#### 4.2.7.1 sRAGE in Assoziation zum C-reaktiven Protein

Bei der Auswertung der mittleren CRP-Konzentration fiel auf, dass diese mit 26,6 mg/l (SD: 48,9 mg/l) um ein Vielfaches höher lag als der für Erwachsene geltende Grenzwert von 5 mg/l (Tab. 19). Der Effekt konnte bei Betrachtung des Medians zwar etwas relativiert werden, dieser lag mit 9,0 mg/l aber immer noch deutlich über dem Grenzwert. ¼ der Patienten wies CRP-Werte größer

als 33,1 mg/l und damit einen mindestens 6,62-fach erhöhten Spiegel des besagten Entzündungsmarkers auf.

**Tab. 19:** Mittelwert und Perzentile für das C-reaktive Protein innerhalb der Studienkohorte

MW ( $\pm$ SD)	26,6 ( $\pm$ 48,9) mg/l
Median (25./75. Perzentil)	9,0 (3,7 / 33,1) mg/l

MW: Mittelwert, SD: Standardabweichung

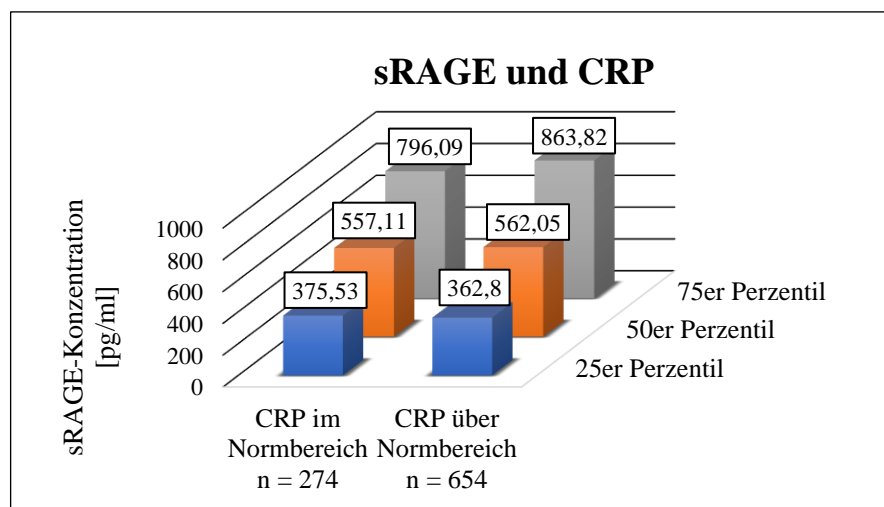
Um eine mögliche Korrelation zum sRAGE zu untersuchen, wurde zunächst eine bivariate Korrelationsanalyse der beiden Variablen durchgeführt (Tab. 20). Da es sich bei den Variablen „sRAGE-Konzentration“ und „CRP“ um metrische Variablen handelte, wurde der Korrelationskoeffizient nach Pearson verwendet. Es zeigte sich dabei kein signifikanter Zusammenhang zwischen den beiden Parametern.

**Tab. 20:** Bivariate Korrelationsanalyse hinsichtlich der sRAGE-Konzentration und des CRP-Spiegels

		CRP [mg/l]	sRAGE [pg/ml]
CRP [mg/l]	Korrelation nach Pearson	1	-0,014
	Signifikanz (2-seitig)		0,674
sRAGE [pg/ml]	Korrelation nach Pearson	-0,014	1
	Signifikanz (2-seitig)	0,674	

CRP: C-reaktives Protein

Zur weiteren Datenverarbeitung musste die metrische Variable „CRP“ in eine kategoriale überführt werden. Die Einteilung erfolgte in die Kategorien „CRP im Normwertbereich“ und „CRP über Normwertbereich“, anhand derer untersucht werden konnte, ob ein Zusammenhang zur sRAGE-Plasmakonzentration bestand. Der durchgeführte Mann-Whitney-U-Test ergab einen p-Wert von 0,554, es zeigte sich also auch hier kein signifikantes Verhältnis zwischen den beiden Variablen (s. Abb. 13).



**Abb. 13:** sRAGE in Abhängigkeit vom CRP, „CRP im Normbereich“:  $\leq 5$  mg/l; „CRP über Normbereich“:  $> 5$  mg/l  
Signifikanz: Mann-Whitney-U-Test,  $p = 0,554$

#### 4.2.7.2 sRAGE in Assoziation zu Interleukin-6

Die Messung des IL-6-Spiegels gelang bei 929 Probanden, wodurch sich die Dropout-Rate bezogen auf alle Teilnehmer auf 0,43 % belief. Im Zuge der statistischen Auswertung ließ sich analog zum CRP auch beim IL-6 eine deutliche Erhöhung der Werte innerhalb der Studiengruppe feststellen. So war der Mittelwert in der Studienkohorte mit 14,8 ( $\pm$  25,1) pg/ml fast doppelt so hoch wie der für Erwachsene angegebene Grenzwert von 7 pg/ml (Tab. 21). Die Betrachtung des Medians (7,4 pg/ml) zeigte jedoch, dass 50 % der untersuchten Patienten normale bis leicht erhöhte IL-6-Werte aufwiesen. Bei einem Viertel aller Untersuchten lag der Wert über 15,7 pg/ml, womit diese einen mindestens 2,2-fach erhöhten Interleukin-6-Spiegel aufwiesen. Der durchschnittliche Mittelwert näherte sich eher dem 75er-Perzentil (15,7 pg/ml) als dem Median an, was darauf schließen lässt, dass sich, wiederum analog zum CRP, der hohe Mittelwert dadurch ergab, dass innerhalb der Patientenkohorte einige wenige große Ausreißerwerte auftraten.

**Tab. 21:** Mittelwert und Perzentile für Interleukin-6 innerhalb der Gesamtstudienkohorte

MW ( $\pm$ SD)	14,8 ( $\pm$ 25,1) pg/ml
Median (25./75. Perzentil)	7,4 (3,7 / 15,7) pg/ml

MW: Mittelwert, SD: Standardabweichung

Bei der Untersuchung der Korrelation des IL-6 zum sRAGE mittels des Korrelationskoeffizienten nach Pearson war keine signifikante Assoziation zwischen den beiden Parametern erkennbar (Tab. 22).

**Tab. 22:** Bivariate Korrelationsanalyse hinsichtlich der sRAGE-Konzentration und des IL-6-Spiegels

		CRP [mg/l]	sRAGE [pg/ml]
IL-6 [pg/l]	Korrelation nach Pearson Signifikanz (2-seitig)	1 0,928	-0,003 0,928
sRAGE [pg/ml]	Korrelation nach Pearson Signifikanz (2-seitig)	-0,003 0,928	1

IL-6: Interleukin-6

Des Weiteren erfolgte auch hier die Überführung in eine kategoriale Variable mit der bivariaten Ausprägung „IL-6 im Normbereich“ und „IL-6 über dem Normbereich“. Hinsichtlich der sRAGE-Konzentration zeigten beide Kategorien keinen signifikanten Unterschied (Tab. 23).

**Tab. 23:** sRAGE in Abhängigkeit vom IL-6-Spiegel

	n	sRAGE-Konzentration [pg/ml] Median (25./75. Perzentil)
IL-6 im Normbereich	447	559,8 (381,3 / 799,6)
IL-6 über dem Normbereich	482	565,3 (351,1 / 883,5)

IL-6: Interleukin-6; „im Normbereich“:  $\leq$  7 pg/ml, „über Normbereich“:  $>$  7 pg/ml  
Signifikanz: Mann-Whitney-U-Test,  $p = 0,896$

### 4.3 Zusammenfassung der Ergebnisse

**H1:** Es zeigten sich signifikant ( $p < 0,0001$ ) höhere sRAGE-Werte bei Patienten, die den kombinierten Endpunkt innerhalb des Nachbetreuungszeitraumes erreicht hatten. Diese Tendenz bestätigte sich auch in der multivariaten Überlebenszeitanalyse unter Berücksichtigung von anderen kardiovaskulären Risikofaktoren. Hier stieg das Risiko des Auftretens eines Folgeereignisses mit höherer Rezeptorkonzentration an, wobei nur die Probanden über dem 75. sRAGE-Perzentil das Signifikanzniveau erreichten ( $p = 0,031$ ). Ähnliches zeichnete sich in der Kaplan-Meier-Überlebenskurve ab, wo wiederum Studienteilnehmer über der 75. Perzentil-Marke eine signifikant verringerte Überlebensrate aufwiesen (Log Rank  $p < 0,0001$ ).

**H2:** Probanden mit einer schwer ausgeprägten Parodontitis wiesen tendenziell geringere sRAGE-Werte auf (MD 533,5 vs. 576,2 pg/ml), jedoch war der Unterschied zur Vergleichsgruppe nicht signifikant ( $p = 0,125$ ). Nach binärer logistischer Regression unter Einbeziehung etablierter Kofaktoren für Parodontitis waren höhere sRAGE-Konzentrationen mit einer verminderten adjustierten Odds Ratio für schwere Parodontitis assoziiert, wobei jedoch nur Patienten des 4. Quartils das Signifikanzniveau erreichten.

**H3:** Bei allen Vertretern des roten Komplexes, sowie dem Bakterium *Eikenella corrodens* des grünen Komplexes traten signifikant niedrigere sRAGE-Werte auf. Nur in Anwesenheit von *Capnocytophaga species* (grüner Komplex) ließen sich signifikant höhere Rezeptorkonzentrationen messen. Die übrigen Bakterienspezies waren nicht signifikant mit sRAGE assoziiert.

**H4:** In der Studienkohorte der Diabetiker konnten signifikant höhere sRAGE-Konzentrationen nachgewiesen werden ( $p = 0,001$ ). Dies bestätigte sich auch nach Aufteilung der Patienten in sRAGE-Quartile: Hier nahm die Anzahl der an Diabetes erkrankten Probanden mit steigendem sRAGE-Spiegel signifikant zu ( $p = 0,005$ ) und erreichte ihren Höchstwert in der Gruppe Q4 (42,92 %).

**H5:** 116 Probanden gaben in der Anamnese an, aktuelle Raucher zu sein. Für 112 von Ihnen ergab sich ein Mittelwert von 25,40 Packungsjahren. Tabakkonsum ging mit signifikant niedrigeren sRAGE-Leveln einher ( $p = 0,045$ ).

**H6:** Innerhalb der Gesamtstudiengruppe traten im Mittel erhöhte CRP- und IL-6-Werte auf (MD: 9,0 mg/l bzw. 7,4 pg/ml). Sowohl in der bivariaten Korrelationsanalyse unter Anwendung des Korrelationskoeffizienten nach Pearson als auch im Mann-Whitney-U-Test bezogen auf die Normbereiche der beiden Entzündungsparameter ließ sich kein signifikanter Zusammenhang zu den sRAGE-Spiegeln nachweisen.

## 5 Diskussion

### 5.1 Diskussion der Methode

#### 5.1.1 Diskussion des Studiendesigns

Die vorliegende Studie umfasste 1.002 Patienten mit angiografisch nachgewiesener KHK, die von Oktober 2009 bis Februar 2011 stationär in der Klinik der Inneren Medizin III der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg behandelt wurden.

Die Grundlage einer validen Datenerhebung ist eine optimale Stichprobengröße. Da mit zunehmender Fallzahl die Effektstärke bzw. statistische Aussagekraft einer Studie ansteigt, ist es von grundlegender Bedeutung, eine ausreichend große Patientenzahl zu untersuchen. Von einer zu großen Studienpopulation sollte hingegen aus ethischen (evtl. unnötiger Aufwand für den Patienten) und ökonomischen Gesichtspunkten (vermeidbare Kosten) abgesehen werden. Nach Ausschluss von Probanden mit fehlenden Follow-Up-Daten und nicht vorhandenen sRAGE-Werten ergab sich für unsere Arbeit eine Studienpopulation von 933 Probanden. Frühere Longitudinalstudien, die die Assoziation von sRAGE und KHK untersuchten, wiesen ähnlich große Fallzahlen auf (Selvin et al. 2013, Arsenault et al. 2014). Analysen zur Beziehung von sRAGE und Parodontitis arbeiteten dagegen mit deutlich kleineren Patientenkohorten (Singhal et al. 2016, Detzen et al. 2019).

Der Patienteneinschluss erfolgte auf Basis einer von medizinischem Fachpersonal durchgeführten koronarangiografischen Untersuchung und war damit unabhängig von möglichen Falschangaben durch die Patienten. Auch die Diagnosestellung einer bestehenden Parodontitis erfolgte im Zuge einer klinischen Untersuchung durch zwei approbierte Zahnärzte. Kardiovaskuläre bzw. parodontale Risikofaktoren sowie Vorerkrankungen konnten dagegen teils nur mittels eines Patientenfragebogens evaluiert werden, wodurch die Gefahr eines *Response-Bias*, also einer Verzerrung der Ergebnisse durch fehlerhafte Angaben der Studienteilnehmer, besteht.

Zur Sicherstellung unverfälschter Messwerte im Zuge der parodontologischen Befunderhebung und mikrobiologischen Analyse wurden Patienten, die in den letzten drei Monaten eine antibiotische Therapie bekommen hatten, aus der Studie exkludiert. Da neben Antibiotika auch eine Parodontaltherapie mit einer Verminderung der Bakterienanzahl und Veränderung der klinischen Parameter (Sondiertiefe ↓, Sondierblutung ↓) einhergeht, führte eine in den letzten 6 Monaten durchgeführte subgingivale Zahnfleischbehandlung ebenfalls zum Studienausschluss. Gleiches galt für Probanden mit Einnahme von Medikamenten, die eine Gingivahyperplasie induzieren können (Hydantoin, Nifedipin, und Cyclosporin A), da diese durch die Bildung von Pseudotaschen eine Überschätzung der Sondiertiefe zur Folge haben können. Darüber hinaus zählte auch eine Schwangerschaft als Ausschlusskriterium, weil im Zuge der Hormonumstellung die Anfälligkeit für Gingivitiden deutlich ansteigt (Wu et al. 2015a). Über Östrogen- und Progesteron-

sensitive Rezeptoren in der Gingiva steigt die Konzentration der beiden Sexualhormone im Parodontalgewebe bis zu einem Peak im dritten Trimester kontinuierlich an (Amar und Chung 1994). Infolgedessen nehmen Gefäßpermeabilität und -proliferation zu und begünstigen so die gingivale Inflammation (Lindhe und Brånemark 1967). Zudem scheinen auch Veränderungen der mikrobiellen Flora eine Rolle zu spielen. So beschrieben Kornmann und Loesche eine Verschiebung des Keimspektrums zugunsten der anaeroben Erreger zwischen der 13. und 16. Schwangerschaftswoche (Kornman und Loesche 1980). Diese Veränderungen im Parodontalgewebe manifestieren sich schließlich klinisch mit erhöhten Parametern wie Sondiertiefe, BOP und Sulkusfließrate (Wu et al. 2015a).

Eine Limitation der vorliegenden Arbeit ergibt sich aus dem Fakt, dass ausschließlich Probanden kaukasischer Herkunft in die Untersuchung einbezogen wurden. Tatsächlich konnten frühere Studien eine Abhängigkeit der sRAGE-Konzentration von der untersuchten Ethnie nachweisen. So zeigten Afroamerikaner und Personen hispanischer Herkunft signifikant niedrigere sRAGE-Spiegel (Selvin et al. 2013, Brinkley et al. 2017, Hudson et al. 2011), was zu der Annahme führte, dass genetische Faktoren einen entscheidenden Einfluss auf die Höhe der Rezeptorkonzentration haben könnten. Maruthur et al. konnten in ihrer Studie dagegen keine genetische Determinante für den Unterschied zwischen dunkelhäutigen und weißen Probanden identifizieren und machten vielmehr Umwelteinflüsse für die unterschiedlich hohen sRAGE-Werte verantwortlich (Maruthur et al. 2015). Aufgrund der beschriebenen Unterschiede lassen sich unsere Ergebnisse nur eingeschränkt auf andere ethnische Gruppen übertragen.

### **5.1.2 Diskussion der Untersuchungsmethode**

Die Probandenauswahl unserer Studie erfolgte anhand einer koronarangiografischen Linksherzkatheteruntersuchung, die als Goldstandard bei der Diagnostik der KHK gilt. Das invasive Vorgehen der Methode erlaubt eine genaue Lokalisation der Koronarstenose sowie eine gleichzeitige therapeutische Intervention mittels einer PCI (= *perkutane koronare Intervention*), meist in Kombination mit einer Stentimplantation. Aus diesen Gründen kommt die Katheteruntersuchung häufig in Koronarstudien zum Einsatz, so auch in Vergleichsarbeiten zur Assoziation von sRAGE und KHK (Falcone et al. 2005, McNair et al. 2009). Ein Nachteil der Koronarangiografie ergibt sich daraus, dass sie keine Aussage zur Zusammensetzung der Plaque (kalzifiziert vs. nicht kalzifiziert) zulässt. Studien ergaben, dass nicht-kalzifizierte, lipidreichere Plaques (sog. „Low-Attenuation-Plaques“) mit einem deutlich höheren Rupturrisiko und damit einer erhöhten Gefahr für akute Myokardinfarkte einhergehen (Williams et al. 2020). Die Plaquequalität ließe sich beispielsweise mit der in der Publikation von Basta et al. angewendeten CT-Angiografie nachweisen (Basta et al. 2012). Dieses Verfahren weist im Vergleich zur Koronarangiografie jedoch schlechtere Werte für Sensitivität und Spezifität bei der Detektion einer KHK auf (Li et al. 2013).

Die zahnärztliche Untersuchung der Patienten erfolgte am Krankenbett, wodurch auch bewegungseingeschränkte Probanden in der Lage waren, an der Studie teilzunehmen und auf einen kostenintensiven Transport der Patienten in die Zahnklinik verzichtet werden konnte. Der geringere logistische Aufwand wirkte sich zudem positiv auf die Patientencompliance aus. Schwierigkeiten stellten dagegen die suboptimale Patientenlagerung und -ausleuchtung aufgrund einer fehlenden zahnärztlichen Behandlungseinheit dar.

Trotz dessen konnten alle klinisch relevanten Parameter zur Diagnostik der Parodontitis erhoben werden. Die Dokumentation der Mundhygiene erfolgte anhand eines 1964 von Silness und Loe vorgeschlagenen Plaqueindex (Silness und Loe 1964), der sowohl die Lokalisation der Plaque als auch die Plaquemenge berücksichtigt. Die Bestimmung des Index funktioniert ohne besondere Hilfsmittel (bspw. Anfärben) und erlaubt durch die Einbeziehung von vier Messstellen pro Zahn (bukkal, oral, mesial, distal) eine ausreichend genaue Abschätzung des Mundhygienegrades. Als nachteilig könnte dagegen angesehen werden, dass einerseits die koronale Ausbreitung der Plaque unberücksichtigt bleibt und andererseits die Beurteilung der Plaquedicke von der subjektiven Bewertung des Untersuchers abhängt, was gerade in Studien mit mehreren Untersuchenden problematisch sein kann (Fischman 1986). Harrap kritisierte zudem das geringe Unterscheidungsvermögen des Index, insbesondere bei kleinen Plaquemengen (Harrap 1974).

Die diagnostische Einteilung unserer Studienteilnehmer hinsichtlich ihres parodontalen Schweregrades erfolgte auf Basis einer 2005 von Tonetti und Claffey erarbeiteten zweistufigen Parodontitis-Fall-Definition zur Identifizierung parodontaler Risikofaktoren (Tonetti und Claffey 2005). Da hier lediglich die Approximalflächen in die Bewertung der Parodontitis eingehen, können bukkale bzw. linguale Attachmentverluste, die nicht durch eine parodontale Infektion, sondern beispielsweise durch Kieferorthopädie oder falsche Zahnputztechnik entstehen, ausgeschlossen werden. Parodontale Indices, die sich ausschließlich auf den Attachmentverlust stützen, bergen jedoch immer die Gefahr einer Überschätzung des parodontalen Schweregrades, da der Attachmentverlust aufgrund persistierender Rezessionen meist auch nach einer erfolgreich abgeschlossenen Parodontaltherapie bestehen bleibt (Page und Eke 2007). Eine Alternative wäre daher ein Index, der zusätzlich zum CAL die Sondiertiefe berücksichtigt, wie zum Beispiel das Indexsystem der CDC/AAP (*Centers for Disease Control and Prevention / American Academy of Periodontology*), das ursprünglich von Page und Eke entwickelt wurde (Eke et al. 2012). In einem direkten Vergleich der Klassifikationen von Tonetti / Claffey und Page / Eke an ein und derselben Studienpopulation zeigte sich jedoch, dass beide Indices ähnliche Ergebnisse bei der Identifikation von Parodontitis-Fällen erbrachten (Baelum und López 2012). Trotz der Nichtbeachtung der Sondiertiefe scheint die Parodontitis-Fall-Definition nach Tonetti / Claffey also zuverlässige Aussagen hinsichtlich einer vorliegenden Parodontitis zu liefern.



### 5.1.3 Diskussion der sRAGE-Messung

Zur Bestimmung der sRAGE-Konzentration wurde ein kommerziell erhältlicher enzymgekoppelter Immunadsorptionstest der Firma R&D Systems verwendet, der auch in Vergleichsstudien häufig zur sRAGE-Messung herangezogen wurde (Falcone et al. 2013b, Park et al. 2011, Nakamura et al. 2007). Der Test weist die extrazelluläre RAGE-Domäne nach, was bedeutet, dass in Plasmaproben alle löslichen Isoformen von RAGE, unabhängig ihres Entstehungsweges (totales sRAGE), erfasst werden. Er liefert hingegen keine Informationen über das Konzentrationsverhältnis vom endogen sezernierten esRAGE zum abgespaltenen cRAGE. Da jedoch beide Unterformen die gleiche Anschlussgeometrie für RAGE-Liganden besitzen und somit als Decoy-Rezeptor zu flRAGE agieren (Raucci et al. 2008), wurde auf eine zusätzliche Messung der esRAGE- bzw. cRAGE-Werte verzichtet.

In Studien hinsichtlich der methodischen und präanalytischen Evaluation des oben genannten Immunoassays zeigten die sRAGE-Level in Serum- und Plasmaproben auch bei ungünstigen präanalytischen Bedingungen (verzögerte Zentrifugation, erhöhte Lagertemperatur vor und nach Zentrifugation, wiederholte Einfrier- und Auftauzyklen) nur eine geringe Schwankungsbreite (Brown und Fraser 2008, Wittwer et al. 2012). Da im vorliegenden Fall die Kühlkette bei  $-20^{\circ}\text{C}$  nie unterbrochen war, sollte die längere Lagerungszeit der Proben vor der sRAGE-Analyse von 5 – 7 Jahren keinen bedeutenden Einfluss auf die Ergebnisse haben.

Die Resultate aktueller Studien legen die Vermutung nahe, dass der sRAGE-Spiegel durch die Stoffwechsellage beeinflusst werden kann. So zeigten Fuller und Kollegen 2018, dass sowohl totales sRAGE, esRAGE sowie cRAGE vier Stunden postprandial signifikant niedriger waren als vor der Nahrungszufuhr (Fuller et al. 2018). Darüber hinaus stellten Miranda et al. 2019 fest, dass sowohl totales sRAGE, esRAGE und cRAGE nach einer 10-stündigen Nahrungskarenz signifikant anstiegen (Miranda et al. 2019). Für die Zunahme von sRAGE sind vermutlich zwei Mechanismen verantwortlich: Zum einen konnte nachgewiesen werden, dass Perioden der Kalorienrestriktion die Transkription von esRAGE erhöhen (Roggerio et al. 2018). Zum anderen spielt vermutlich Glucagon eine entscheidende Rolle, das im Zuge geringer Blutglukosespiegel (z.B. bei Nahrungskarenz) freigesetzt wird und die Aktivität der Metalloproteinase ADAM10 stimuliert, welche wiederum an der proteolytischen Abspaltung von cRAGE beteiligt ist (Metz et al. 2012). Um trotz der beschriebenen Effekte eine Vergleichbarkeit der sRAGE-Spiegel zwischen den Probanden unserer Studie zu gewährleisten, erfolgte die Blutabnahme immer zum gleichen Zeitpunkt, und zwar vormittags, idealerweise zwei Stunden nach dem Frühstück. Ungeachtet dessen lässt sich eine geringfügige Beeinflussung der gemessenen sRAGE-Werte durch die individuelle Stoffwechsellage nicht mit Sicherheit ausschließen. Aufgrund dieser Erkenntnisse stellt sich die Frage, ob eine Einzelmessung von sRAGE überhaupt ausreicht, um als Schätzwert für den gewöhnlichen Plasmaspiegel in epidemiologischen Studien zu dienen. Eine Antwort darauf liefert eine Studie von Bower et al., die bei der Messung von sRAGE-Spiegeln im Abstand von drei

Jahren demonstrieren konnten, dass die Rezeptorkonzentration über den genannten Zeitraum stabil bleibt (Bower et al. 2014). Ähnliche Ergebnisse lieferte auch eine Publikation von Wu und Kollegen (Wu et al. 2018).

## **5.2 Diskussion der Ergebnisse in Bezug zur parodontalen Diagnose**

### **5.2.1 Assoziation demografischer Parameter zur parodontalen Diagnose**

Von unseren Koronarpatienten mit einem Altersdurchschnitt von 66,83 Jahren litten 47,7 % an einer schweren Parodontitis. Damit liegt die Prävalenz der schweren Parodontitis in unserem Studienkollektiv deutlich über dem in der 5. Deutschen Mundgesundheitsstudie angegebenen Wert von 19,8 % für die Altersgruppe der jüngeren Senioren (65 – 74 Jahre) (Jordan und Micheelis 2016). Dies würde auf den ersten Blick die These der Parodontitis als Risikofaktor für Koronare Herzerkrankung untermauern. Wahrscheinlicher ist jedoch, dass das Missverhältnis der Werte auf Unterschiede in der Methodik zurückzuführen ist. So wurde in unserer Arbeit eine schwere Parodontitis nach den Kriterien von Tonetti und Claffey als das Vorliegen eines approximalen CAL  $\geq 5$  mm bei mindestens 30 % der Zähne definiert (Tonetti und Claffey 2005). Die Klassifizierung der Parodontitis in der Mundgesundheitsstudie erfolgte dagegen anhand des Indexsystems der CDC/AAP, bei dem zusätzlich zum Attachmentverlust auch die Sondierungstiefe berücksichtigt wird. Im Gegensatz zu Tonetti und Claffey existiert bei der CDC/AAP-Klassifikation außerdem die zusätzliche Kategorie „moderate Parodontitis“, was dazu führt, dass weniger Patienten die Diagnose „schwere Parodontitis“ erhalten. Auf dieser Basis ist der Vergleich der Prävalenzwerte deutlich erschwert.

Unter unseren Patienten mit schwerer Parodontitis waren signifikant häufiger Männer ( $p = 0,002$ ) und aktive Raucher ( $p = 0,001$ ) zu finden. Nikotinabusus ist schon seit langer Zeit als Risikofaktor für die Entstehung einer Parodontitis bekannt (Arno et al. 1958). Für Raucher wird ein um 2,05 bis 4,75-fach erhöhtes Risiko für die Entstehung der Zahnbetterkrankung beschrieben (Grossi et al. 1994). Zusätzlich sprechen Tabakkonsumenten deutlich schlechter auf parodontale Therapiemaßnahmen an (Kaldahl et al. 1996). Die parodontale Destruktion wird dabei unter anderem durch die Suppression der Osteoblastenproliferation und Stimulation der Osteoklastenaktivität vorangetrieben (Fang et al. 1991). Zusätzlich führt der Nikotinkonsum zu einer veränderten Fibroblastenfunktion und einer Verringerung der IgG<sub>2</sub> (*Immunglobulin G2*)-Serumspiegel (Tipton und Dabbous 1995, Quinn et al. 1998). IgG<sub>2</sub> ist ein Antikörper, der besondere Bedeutung in der Abwehr gramnegativer Bakterien wie *A. actinomycetemcomitans* und *P. gingivalis* hat (Tangada et al. 1997).

Neben dem Rauchen konnten mehrere Studien auch das männliche Geschlecht als parodontalen Risikofaktor identifizieren. Dies könnte einerseits dadurch erklärt werden, dass Männer häufig schlechtere oralhygienische Parameter aufweisen als Frauen. So zeigten unsere männlichen Studienteilnehmer einen signifikant höheren Plaqueindex als unsere weiblichen Probandinnen (MW

1,12 vs. 0,86,  $p < 0,001$  im Mann-Whitney-U-Test). Zudem fanden sich unter den Männern tendenziell häufiger aktive Raucher (13,0 % vs. 8,8 %,  $p = 0,075$  nach Chi-Quadrat-Test mit Yates-Korrektur). Ein weiterer Aspekt, der in diesem Zusammenhang diskutiert wird, ist die Einwirkung von Sexualhormonen. In der dritten *National Health and Nutrition Examination Survey* (NHANES III) korrelierten erhöhte Testosteron-Spiegel bei Männern sowohl mit der Prävalenz als auch der Schwere der Parodontitis (Steffens et al. 2015). Andere Studien zeigten dagegen keinen Zusammenhang zwischen dem Steroidhormon und der Ausprägung der Zahnbetterkrankung (Orwoll et al. 2009).

Es ist darüber hinaus schon seit langem bekannt, dass das Risiko für eine parodontale Erkrankung mit zunehmendem Alter ansteigt (Schei et al. 1959, Abdellatif und Burt 1987). Dies ist vermutlich eher auf die kumulative Gewebedestruktion über viele Lebensjahre und weniger auf intrinsische Defizite des Organismus zurückzuführen (Timmerman und van der Weijden 2006). Interessanterweise ließ sich in unserer Studienpopulation keine Altersabhängigkeit bei der Ausprägung der Parodontitis nachweisen ( $p = 0,458$ ). Eine Erklärung hierfür könnte der hohe Altersmedian unserer Probanden sein, durch den kein Vergleich mit jüngeren Altersgruppen möglich war.

### **5.2.2 Assoziation zahnärztlich-klinischer Parameter zur parodontalen Diagnose**

Der primäre ätiologische Faktor für die Entstehung und Progression der Parodontitis ist die Besiedelung der Zahnoberfläche mit bakterieller Plaque, weshalb eine suffiziente orale Hygiene essenziell ist, um einer parodontalen Erkrankung vorzubeugen (Axelsson et al. 2004). Die Auswirkungen einer insuffizienten Mundhygiene spiegelte sich in den Plaque- und Blutungsindices unserer Probanden wider, welche in der Patientengruppe mit schwerer Parodontitis signifikant erhöht waren (jeweils  $p < 0,0001$ ). Die Sondierblutung ist dabei Gradmesser der parodontalen Entzündungsreaktion, die durch eine dentale Plaqueakkumulation ausgelöst wird. Auch Lang und Kollegen identifizierten in ihrer Publikation den BOP als sinnvollen prognostischen Indikator für die Progression der Parodontitis, da dieser mit dem Ausmaß der parodontalen Destruktion korreliert (Lang et al. 1986). Die entzündliche Erkrankung des Zahnhalteapparates führt über die Abnahme des parodontalen Attachments zunächst zu Zahnlockerung und endet häufig im Zahnverlust. Die bei unseren Parodontitis-Patienten signifikant erhöhten Werte für den Attachmentverlust und die Anzahl der fehlenden Zähne (jeweils  $p < 0,0001$ ) sind kongruent zu den Ergebnissen einer Studie von Gilbert et al., in welcher ebenfalls dargelegt werden konnte, dass eine Abnahme des klinischen Attachmentlevels mit einem gesteigerten Risiko für Zahnverlust einhergeht (Gilbert et al. 2002).

Probanden mit schwerer parodontaler Symptomatik wiesen zudem einen deutlich geringeren zahnärztlichen Sanierungsgrad in Form von signifikant mehr kariösen Zähnen ( $p = 0,005$ ) sowie signifikant weniger gefüllten Zähnen ( $p < 0,0001$ ) auf, was für ein vermindertes Mundgesundheitsbewusstsein in der Gruppe der Parodontitispatienten spricht.

### **5.2.3 Assoziation anamnestisch bekannter Vorerkrankungen zur parodontalen Diagnose**

Neben der bakteriellen Besiedelung haben auch systemische Erkrankungen einen großen Einfluss auf den parodontalen Gesundheitszustand. So wird seit Jahren vor allem die bidirektionale Beziehung von Parodontitis und Diabetes mellitus erforscht. Die diabetische Stoffwechsellage führt dabei nicht nur zu einem 2-3-fach erhöhten Risiko, an Parodontitis zu erkranken, sondern auch zu einem deutlich schlechteren Ansprechen der Patienten auf parodontale Therapiemaßnahmen (Emrich et al. 1991, Sanz et al. 2018). Die Hyperglykämie bedingt unter anderem eine gesteigerte Akkumulation von AGEs im Parodontalgewebe. Wie bereits in Kapitel 1.4.7 erläutert, lösen AGEs durch die Bindung an ihren Rezeptor RAGE eine lokale Immunantwort aus, die in der Freisetzung von inflammatorischen Zytokinen resultiert. Zudem greifen die Glykierungsendprodukte auch direkt in die alveoläre Knochenhomöostase ein, indem sie über den MAP-Kinase-Weg die Osteoblasten-Apoptose fördern (Alikhani et al. 2007). Diese Faktoren führen zu einer verstärkten parodontalen Gewebedestruktion und Exazerbation der Parodontitis. Umgekehrt werden lokale Entzündungsmediatoren aus der infizierten Parodontaltasche in den Blutkreislauf ausgeschwemmt und tragen somit zur systemischen Inflammation bei. Die Zirkulation von IL-6 und TNF- $\alpha$  bewirkt hierbei, unter anderem über die Inhibition der Gentranskription des Glukosetransporters GLUT-4, eine Abnahme der Glukoseaufnahme in Muskel- und Fettzellen und führt so zu einer erhöhten Insulinresistenz (Rotter et al. 2003). Die Diabetiker in unserer Studiengruppe wiesen zwar tendenziell häufiger schwere parodontale Symptome auf, überraschenderweise blieb der Zusammenhang jedoch insignifikant (36,9 % vs. 31,1 %,  $p = 0,066$ ). Bei näherer Betrachtung litten insulinpflichtige Patienten signifikant häufiger an einer schweren Parodontitis als Nichtdiabetiker und nicht-insulinpflichtige Diabetiker (56,5 % vs. 45,5 % vs. 47,1 %,  $p = 0,045$ ). Dies könnte durch den Umstand erklärt werden, dass insulinpflichtige Diabetiker meist einen schwereren Erkrankungsgrad und damit auch eine schlechtere Einstellung der Blutglukose aufweisen (Bashan et al. 2015). Das Parodontitisrisiko steigt dabei umso mehr, je schlechter die Blutzuckerwerte eingestellt sind (Tsai et al. 2002).

Neben der Interaktion untereinander verursachen Diabetes als auch Parodontitis einen chronisch-systemischen Entzündungszustand, welcher wiederum die Entstehung der Atherosklerose begünstigt (Khumaedi et al. 2019). Auch hier sind AGEs in den pathomechanischen Erkrankungsprozess involviert (Del Turco und Basta 2012), wodurch sich ein Schnittpunkt zwischen den drei Erkrankungsbildern ergibt. Im Rahmen der anamnestischen Datenerhebung gaben 74,3 % unserer Patienten an, an einer KHK zu leiden, wobei Probanden mit schwerer Parodontitis signifikant häufiger betroffen waren ( $p = 0,02$ ). Die Teilnehmer mit schwerer Parodontalsymptomatik hatten zudem signifikant häufiger einen Myokardinfarkt bzw. einen Schlaganfall / TIA erlitten. Diese Ergebnisse stehen in Einklang mit den in Kapitel 1.3.5 beschriebenen Pathomechanismen für den

Zusammenhang zwischen Parodontitis und KHK. Verschiedene Studien konnten belegen, dass die Parodontopathie mit einem erhöhten kardiovaskulären Risiko einhergeht (s. Kapitel 1.3.4).

#### **5.2.4 Assoziation biochemisch-serologische Parameter zur parodontalen Diagnose**

Die Auswertung der serologischen Untersuchung ergab eine deutliche Erhöhung der CRP- und IL-6-Werte in der Gesamtstudiengruppe bezogen auf die Normwerte. Interleukin-6 gehört zur Familie der proinflammatorischen Zytokine und wird im Zuge der angeborenen unspezifischen Immunantwort unter anderem von Monozyten und Makrophagen synthetisiert. Da die IL-6-Konzentration innerhalb weniger Stunden nach Aktivierung der Zellen extrem ansteigen kann, dient sie der Akutdiagnostik entzündlicher oder ischämischer Prozesse. IL-6 induziert in Hepatozyten wiederum die Bildung des zu den Akute-Phase-Proteinen gehörigen C-reaktiven Proteins (Hurlimann et al. 1966). Sowohl IL-6 als auch das CRP können im Zuge der Koronaren Herzerkrankung erhöhte Werte annehmen (Noto et al. 2007, Tajfard et al. 2019). Da alle Teilnehmer unserer Studie mit KHK vorbelastet waren, erklärt dies die Erhöhung der beiden Entzündungsparameter. Hohe CRP- und IL-6-Serumkonzentrationen waren zudem signifikant mit dem Auftreten einer schweren Parodontitis assoziiert. Dies bestätigt den in verschiedenen Studien belegten Zusammenhang zwischen den CRP- und IL-6-Leveln und dem Schweregrad der Parodontitis (Ebersole et al. 1997, Loos et al. 2000, Paraskevas et al. 2008). Ursächlich dafür ist die Infektion der parodontalen Tasche mit parodontopathogenen Erregern, die eine Stimulation von Makrophagen, Fibroblasten und Endothelzellen zur Folge hat. Diese resultiert wiederum in der Freisetzung von proinflammatorischen Zytokinen wie IL-6 und führt in der Folge zu erhöhten CRP-Konzentrationen (Archana et al. 2015). Letztlich kann durch die verstärkte Sekretion der beiden Entzündungsmarker die proinflammatorische Aktivität in atherosklerotischen Läsionen zunehmen, wodurch das kardiovaskuläre Risiko ansteigt (Loos et al. 2000). Aus diesem Grund stützen unsere Ergebnisse die These der systemischen Entzündung als Bindeglied zwischen einer parodontalen Infektion und der Atherosklerose (s. Kapitel 1.3.5).

### **5.3 Diskussion der Ergebnisse in Bezug zur sRAGE-Konzentration**

#### **5.3.1 sRAGE in Assoziation zum Geschlecht**

In unserer Studienkohorte zeigten sich deutliche geschlechterspezifische Unterschiede hinsichtlich der sRAGE-Niveaus. Die zahlenmäßig dominierende Gruppe der männlichen Probanden wies hierbei erniedrigte Rezeptorkonzentrationen auf (MD 539,2 vs. 606,7 pg/ml). Im Vergleich zu den weiblichen Probandinnen ergab sich eine leichte Signifikanz ( $p = 0,046$ ). Ähnliche Resultate erbrachte eine Sub-Analyse der *Atherosclerosis Risk In Communities* (ARIC)-Studie, bei der 1.201 Teilnehmer, davon 41,8% männlichen Geschlechts, über einen Zeitraum von rund 18 Jahren beobachtet wurden (Selvin et al. 2013). Anhand der sRAGE-Ausgangswerte erfolgte die Einteilung der Probanden in Quartile, wobei der prozentuale Anteil der Männer im Quartil mit der niedrigsten sRAGE-Konzentration am höchsten (48,7%) und im Quartil mit der höchsten

Rezeptorkonzentration am niedrigsten (30,9%) war. Die Assoziation von niedrigen sRAGE-Leveln zum männlichen Geschlecht konnten auch Nakashima und Kollegen in ihrer Publikation bestätigen (Nakashima et al. 2010).

### **5.3.2 sRAGE in Assoziation zu Parodontitis**

Was unsere Studie von allen vorherigen unterscheidet, ist der Umstand, dass ergänzend zu bekannten Confoundern der KHK auch der parodontale Status aller Probanden evaluiert wurde, da Parodontitis schon seit einiger Zeit als Risikofaktor für die Entstehung kardiovaskulärer Erkrankungen diskutiert wird.

Generell ist die Datenlage hinsichtlich der Assoziation von Parodontitis zur Konzentration der zirkulierenden RAGE-Variante noch relativ übersichtlich. Erste Forschung zu dieser Thematik betrieben Wu und Kollegen an Taiwanesischen Patienten mit und ohne Diabetes mellitus. Dabei zeigten Patienten mit chronischer Parodontitis leicht niedrigere sRAGE-Spiegel, jedoch blieben die Werte im Vergleich zu den parodontal Gesunden insignifikant (Wu et al. 2015b). Dies ist kongruent zu den Ergebnissen unserer Studie, in der Patienten mit schwerer Parodontitis tendenziell niedrigere sRAGE-Niveaus aufwiesen ( $p = 0,125$ ). Nach binärer logistischer Regression unter Einbeziehung etablierter Kofaktoren für Parodontitis zeigten die Patienten im 4. Quartil eine signifikant erniedrigte Odds Ratio ( $p = 0,002$ ) für das Auftreten einer schweren Parodontitis. Interessanterweise konnte die von uns beobachtete inverse Assoziation von schweren parodontalen Verlaufsfällen zu niedrigen sRAGE-Konzentrationen auch in zwei weiteren Humanstudien festgestellt werden. So verglichen Singhal et al. Spiegel des löslichen Rezeptors in Abhängigkeit der parodontalen Diagnose bei Patienten mit und ohne Diabetes. Dabei zeigten sowohl innerhalb der Gruppe der Diabetiker als auch der Nichtdiabetiker die parodontal erkrankten Probanden signifikant niedrigere sRAGE-Level (Singhal et al. 2016). Ähnliche Daten sind der bereits in Kapitel 1.4.7 erörterten Publikation von Detzen et al. zu entnehmen (Detzen et al. 2019). Hier wurden zum ersten Mal auch die esRAGE- und cRAGE-Werte als Anteile der totalen sRAGE-Konzentration erfasst und ihr Einfluss auf den Schweregrad der Parodontitis evaluiert. Während bei Probanden mit Parodontitis signifikant niedrigere cRAGE-Spiegel auftraten, war für esRAGE keine signifikante Assoziation zur Parodontitis erkennbar.

Zusammenfassend ließ sich in allen Studien eine inverse Assoziation von sRAGE zu Parodontitis beobachten. Limitierend muss jedoch angemerkt werden, dass die Veröffentlichungen von Singhal und Detzen auf kleinen Studienpopulationen basieren, wodurch sich deren statistische Effektstärke verringert. Zudem traten Differenzen bei der methodischen Vorgehensweise zutage. So lag allen Studien eine uneinheitliche Klassifikation der Parodontitis zugrunde. Während in unserer Arbeit das Vorliegen eines  $CAL \geq 5$  mm bei mindestens 30 % der Zähne als „schwere chronische Parodontitis“ definiert wurde, stuften Singhal et al. schon Patienten mit einem  $CAL \geq 3$  mm und einer Taschentiefe  $\geq 5$  mm als chronisch parodontal erkrankt ein. Wu und Kollegen legten

ihren Untersuchungen dagegen den sogenannten „*Community Periodontal Index (CPI)*“ zugrunde, der 1982 von Ainamo et al. in Zusammenarbeit mit der Weltgesundheitsorganisation (WHO) entwickelt wurde (Ainamo et al. 1982). Die Messung der Sondierungstiefe erfolgt hier sextantenweise mit einer speziell entwickelten WHO-Sonde. Der maximale in einem Sextanten gefundene Wert bestimmt hier die Codierung des gesamten Sextanten, wobei der höchste CPI-Score aller Sextanten wiederum die Gesamtbewertung des Patienten definiert. In der Summe birgt die Anwendung des CPI die Gefahr der Überschätzung des parodontalen Krankheitsgrades, da schon eine einzelne erkrankte Zahnfleischtasche ausreicht, um den entsprechenden Probanden in die Kategorie „Parodontitis“ einzuordnen. Diskutabel ist darüber hinaus auch die Auswahl der Probanden. So wiesen alle Teilnehmer unserer Studie aufgrund ihrer kardialen Vorbelastung und anderer Grunderkrankungen wie Diabetes mellitus eine deutliche basale Inflammation auf. Da die sRAGE-Konzentration unter anderem durch KHK und Diabetes beeinflusst werden kann, ist es denkbar, dass diese Einflussfaktoren den Wirkungseffekt der Parodontitis auf den Rezeptorspiegel zumindest teilweise maskiert haben.

Durch die erläuterten Unterschiede in der Methodik ist die statistische Vergleichbarkeit der dargestellten Studienergebnisse eingeschränkt. Trotzdem lässt sich resümieren, dass, unserer Hypothese entsprechend, niedrige sRAGE-Niveaus einen Risikofaktor für schwere parodontale Verlaufsfälle darstellen könnten. Hohe sRAGE-Konzentrationen scheinen dagegen die Interaktion von RAGE mit seinen Liganden und damit auch die nachgeschaltete Entzündungsreaktion zu hemmen. Dabei scheint vor allem dem cleaved RAGE eine bedeutende protektive Rolle zuzukommen.

### **5.3.3 sRAGE in Assoziation zu parodontopathogenen Bakterien**

Der unabdingbare Faktor für die Entstehung einer marginalen Parodontitis ist die Akkumulation pathogener Bakterien im subgingivalen Raum. Aus diesem Grund ist es sinnvoll zu diskutieren, ob zusätzlich zur Assoziation von sRAGE zu Parodontitis auch ein Zusammenhang zwischen der Rezeptorkonzentration und der Anzahl parodontopathogener Keime besteht. Zu diesem Zweck wurden allen Probanden unserer Studie subgingivale Plaqueproben entnommen und diese auf das Vorliegen von 11 parodontalen Markerkeimen untersucht. Interessanterweise zeigten sich bei Patienten mit positivem Nachweis der Vertreter des roten Komplexes (*P.gingivalis*, *T. forsythia*, *T. denticola*) sowie des Bakteriums *Eikenella corrodens* aus dem grünen Komplex signifikant niedrigere sRAGE-Niveaus. Da das Auftreten des roten Komplexes das finale Stadium der Parodontitis markiert (Socransky et al. 1998), stützen diese Ergebnisse die These von niedrigen sRAGE-Konzentrationen als Risikofaktor für das Auftreten schwerer Parodontitiden.

Inwiefern Bakterien die sRAGE-Konzentration auf molekularer Ebene beeinflussen können, konnten Antonelli und Kollegen in einer Studie an Mäusen zeigen, welche an einer akuten, durch

*Pseudomonas aeruginosa* hervorgerufenen Lungenentzündung litten (Antonelli et al. 2017). Eine Infektion mit dem gramnegativen Stäbchen induzierte dabei die Reduktion der aktiven Form von ADAM10, was zu einer Verringerung des Ectodomain-Sheddings von flRAGE und somit zur Abnahme der pulmonalen cRAGE-Konzentration führte, die von einem massiven Leukozyteninfiltrat und der Freisetzung proinflammatorischer Zytokine begleitet wurde. Ein ähnlicher Mechanismus wäre auch für die pathogenen Vertreter des roten Komplexes und *E. corrodens* denkbar. Da mit der Abnahme der cRAGE-Werte auch die Konzentration des gesamten sRAGE sinkt, ließen sich auf diese Weise die niedrigen Rezeptorniveaus im Zusammenhang mit den vier Parodontalkeimen erklären. Zur Überprüfung dieser These müssten jedoch weitere Versuche durchgeführt werden.

#### **5.3.4 sRAGE in Assoziation zum kombinierten Endpunkt**

Das System aus AGEs und ihrem Rezeptor RAGE spielt eine bedeutende Rolle im Entstehungsprozess der Atherosklerose (Del Turco und Basta 2012). In diesem Zusammenhang wird vermutet, dass sRAGE im Sinne eines Decoy-Rezeptors die Interaktion zwischen Liganden und RAGE kompetitiv inhibiert und folglich eine protektive Wirkung gegenüber atherogenen Einflüssen besitzt (Lindsey et al. 2009a). Die Annahme des antiatherogenen Potentials von sRAGE gründete zunächst vor allem auf experimentellen Untersuchungen in Tiermodellen, in denen die exogene Administration von sRAGE sowohl die Entstehung als auch Progression der Atherosklerose verzögerte (Park et al. 1998, Bucciarelli et al. 2002). Trotzdem ist die aktuelle Datenlage aus Humanstudien weitestgehend divergent. So wurden teils erhöhte aber auch niedrigere sRAGE-Konzentrationen im Zusammenhang mit KHK ermittelt.

In der vorliegenden Studie untersuchten wir stationäre Patienten mit KHK hinsichtlich ihrer kardiovaskulären Prognose. Da die sRAGE-Level in Studien nicht nur mit KHK assoziiert waren, sondern sich auch ein Zusammenhang mit zerebrovaskulären Ereignissen zeigte (Hudson et al. 2011, Tang et al. 2013), wurde vor Studienbeginn ein kombinierter Endpunkt definiert, bestehend sowohl aus kardiovaskulären (erneuter Myokardinfarkt / kardialer Tod) als auch zerebrovaskulären (Schlaganfall oder TIA / Tod durch Schlaganfall) Einzelereignissen. Die Auswahl der Endpunktevents gründete auf einer Empfehlung der *Standardized Data Collection for Cardiovascular Trials Initiative* (SCTI) und der *US Food and Drug Administration* (FDA) zur Definierung von kardio- und zerebrovaskulären Endpunktereignissen in klinischen Studien (Hicks et al. 2018). Auch in Referenzstudien wurde der kombinierte Endpunkt ähnlich definiert (Fujisawa et al. 2013, Chiang et al. 2009).

In unseren Untersuchungen konnten wir nachweisen, dass eine erhöhte periphere sRAGE-Konzentration (> 842,39 pg/ml im vierten Quartil) das Risiko für ein neues kardiovaskuläres Ereignis fast verdoppelte. Unter Einbeziehung verschiedener etablierter Kofaktoren für KHK wurde der Effekt zwar abgeschwächt, das Ergebnis blieb jedoch weiterhin signifikant. Daraus schlussfolgern



wir, dass hohe sRAGE-Spiegel ein potenzieller, unabhängiger Risikoindikator für das kardiovaskuläre Outcome unter Patienten mit KHK-Vorbelastung sein können. Diese These lässt sich durch mehrere Studien untermauern. So konnten zwei Longitudinalstudien an Patienten mit Diabetes mellitus Typ 1 zeigen, dass erhöhte sRAGE-Plasmakonzentrationen unabhängig von traditionellen KHK-Risikofaktoren signifikant mit neuen kardiovaskulären Events, der kardiovaskulären Mortalität sowie der Gesamtsterblichkeit assoziiert waren (Nin et al. 2010, Thomas et al. 2011). Gleiches ließ sich in prospektiven Studien für Diabetes mellitus Typ 2 nachweisen (Colhoun et al. 2011, Fujisawa et al. 2013). Daneben konnten auch bei kardiovaskulär vorbelasteten Patienten hohe sRAGE-Level als Risikoindikator für KHK ausgemacht werden. Arsenault und Kollegen (2014) untersuchten in einer Sub-Analyse der *Treating to New Targets* (TNT)-Studie die Assoziation verschiedener Biomarker zur kardiovaskulären Prognose bei KHK-Patienten unter Statin-Therapie. Die Biomarker-Konzentration wurde dabei zunächst zum Zeitpunkt der Randomisierung (nach einer achtwöchigen Anlaufphase unter 10 mg Atorvastatin) und erneut nach einer Beobachtungszeit von 12 Monaten bestimmt. Während zum Zeitpunkt der Erstuntersuchung eine Verdopplung der sRAGE-Konzentration mit einer 1,5fachen Hazard ratio ( $p = 0,0005$ ) für ein neues kardiovaskuläres Event einherging, konnte nach einem Jahr kein signifikanter Zusammenhang mehr festgestellt werden (Arsenault et al. 2014). Der Unterschied zu unseren Ergebnissen könnte sich in diesem Fall dadurch erklären lassen, dass, anders als unsere Probanden, alle Teilnehmer eine stabile KHK vorwiesen. Diese wurde darüber hinaus über die gesamte Betreuungszeit mit einer hohen (80 mg) oder niedrigen (10 mg) Dosis an Atorvastatin behandelt, was möglicherweise einen Einfluss auf die Höhe der sRAGE-Konzentration gehabt haben könnte.

Aufgrund unserer Ergebnisse und der vorliegenden Studien hypothesieren wir, dass im Zuge der ablaufenden atherogenen inflammatorischen Reaktion die sRAGE-Synthese kompensatorisch vom Körper erhöht wird. Untermauert wird diese Theorie durch eine 2010 von Donners et al. veröffentlichte Studie, welche erstmals zeigen konnte, dass die Expression von ADAM10 in fortgeschrittenen und rupturierten atherosklerotischen Plaques gegenüber gesundem Gewebe signifikant erhöht ist (Donners et al. 2010). ADAMs (*A Disintegrin and Metalloproteases*) sind Zelloberflächenproteine mit Sheddase-Aktivität, deren Funktion darin besteht, verschiedene membranständige Moleküle, darunter Adhäsionsmoleküle, Zytokine und Chemokine, von der Zelloberfläche abzuspalten, was in der Folge zur Freisetzung löslicher Proteine führt. Im Fall von RAGE ist ADAM10 eine der Proteasen, die für die proteolytische Abspaltung der Ektodomäne verantwortlich sind (Raucci et al. 2008). Da das dabei entstehende cRAGE quantitativ den Hauptteil des flottierenden sRAGE ausmacht (cRAGE : esRAGE  $\approx 5 : 1$ ), würde eine durch Atherosklerose bedingte Erhöhung von ADAM10 die erhöhten sRAGE-Werte in unserer Studie erklären.

Wie bereits erwähnt, wiesen die Ergebnisse anderer Studien aber auch in die entgegengesetzte Richtung und zeigten eine Assoziation von niedrigen sRAGE-Levels zu koronarer

Atherosklerose. Die Inhomogenität der Studienergebnisse kann dabei auf verschiedene Faktoren zurückgeführt werden. Die Unterschiede fangen schon bei der Auswahl der Studienteilnehmer an. So wurden für die in Kapitel 1.4.6 beschriebene Studie von Falcone et al. (2005) ausschließlich männliche, nichtdiabetische Italiener mittleren Alters eingeschlossen, wohingegen bei akuten ischämischen Syndromen oder Einnahme lipidsenkender Medikamente der Studienausschluss erfolgte. Dadurch limitiert sich die Aussagekraft der Untersuchung auf eine relativ kleine und homogene Population und besitzt nur begrenzte Gültigkeit für die multiethnische Gesamtbevölkerung. Im Gegensatz dazu war unsere Studienkohorte heterogener zusammengesetzt. So befanden sich unter den Untersuchten sowohl männliche als auch weibliche Probanden, die einerseits verschiedene Vorerkrankungen (u.a. Diabetes mellitus) aufwiesen und zudem unterschiedliche medikamentöse Therapie erhielten (u.a. Antidiabetika, Statine). Hierdurch erweitert sich der Gültigkeitsbereich unserer Studienergebnisse auf eine größere Grundgesamtheit und lässt darüber hinaus auch Subgruppenanalysen zu.

Neben der Probandenauswahl spielt auch der Studientyp eine grundlegende Rolle, wenn es um die Identifikation eines prognostischen Biomarkers geht. Der Großteil der Studien, die niedrige sRAGE-Level mit Atherosklerose assoziiert fanden, waren Querschnittsstudien (Falcone et al. 2005, McNair et al. 2009, Lindsey et al. 2009b, Basta et al. 2012). Dieser Studientypus ist jedoch in der Regel nicht geeignet, einen neuen prognostischen Biomarker zu validieren, da ihm die zeitliche Komponente fehlt. Aussagekräftiger sind in diesem Fall Longitudinalstudien, die durch die Erfassung neu aufgetretener kardiovaskulärer Ereignisse eine Evaluation von sRAGE als Prädiktor für KHK ermöglichen. Vor Veröffentlichung unserer Untersuchungsergebnisse waren nur wenige Längsschnittstudien zu dieser Fragestellung durchgeführt worden. Neben der bereits oben erwähnten Arbeit von Arsenault und Kollegen beschäftigte sich eine Sub-Analyse der ARIC-Studie mit dem Thema (Selvin et al. 2013). Die Untersuchung von 1.201 zu Studienbeginn gewonnenen Plasmaproben zeigte nach 18-jähriger Nachbeobachtungszeit, dass niedrige sRAGE-Konzentrationen signifikant mit einem höheren Risiko für KHK assoziiert waren. Dieses Ergebnis ist mit unserem jedoch nur schwer vergleichbar, da alle Patienten bei Studieneinschluss kardiovaskulär gesund waren und keine Anzeichen einer KHK aufwiesen. Darüber hinaus zeigten sich auch ethnische Differenzen zwischen den Studienkohorten. Während in unserer Arbeit ausschließlich Kaukasier untersucht wurden, waren in der ARIC-Studie 21,7 % der Probanden afroamerikanischer Abstammung. Wie bereits erläutert, weisen diese niedrigere sRAGE-Level auf, was ebenfalls die Abweichungen zu unseren Resultaten erklären könnte.

### **5.3.5 sRAGE in Assoziation zu bekannten Confoundern**

#### **5.3.5.1 sRAGE in Assoziation zu Diabetes mellitus**

Diabetes mellitus ist eine metabolische Erkrankung, die auf Insulinmangel oder einer Insulinresistenz beruht und somit zu chronisch erhöhten Blutglukose-Konzentrationen führt. Die

Hyperglykämie wird dabei als Hauptursache diabetischer Folgekomplikationen angesehen, was nicht zuletzt auf die Entstehung fortgeschrittener Glykierungsendprodukte (AGEs) zurückzuführen ist. Die endogene Bildung von AGEs schreitet bei Normoglykämie, beginnend in der frühen Embryonalphase, konstant aber langsam voran, sodass es über die Zeit zu einer Akkumulation der Makromoleküle im Körper kommt (Peppas et al. 2003). Aufgrund der erhöhten Verfügbarkeit von Glukose wird dieser Prozess bei Diabetes deutlich beschleunigt. Sowohl bei Patienten mit Typ 1 (Berg et al. 1997) als auch Typ 2 Diabetes mellitus (Kilhovd et al. 1999) konnte eine deutliche Erhöhung der AGEs festgestellt werden. Ausgelöst durch die Akkumulation der fortgeschrittenen Glykierungsendprodukte ist die Expression von RAGE bei Diabetes mellitus erhöht (Goldin et al. 2006).

Aufgrund der in der Literatur verbreiteten Meinung, dass sRAGE als Decoy-Rezeptor zu flRAGE eine protektive anti-inflammatorische Rolle zukommt, stellten wir die Hypothese auf, dass verringerte sRAGE-Spiegel mit einem erhöhten Risiko für Diabetes mellitus einhergehen. Nach der statistischen Auswertung unserer Untersuchungsergebnisse ließ sich diese Aussage jedoch nicht bestätigen. Vielmehr wiesen die Diabetiker unter unseren Studienteilnehmern signifikant höhere Werte des Rezeptors auf als die stoffwechselgesunde Kontrollgruppe ( $p = 0,001$ ). Diese Daten stimmen mit Ergebnissen vorangegangener Studien überein, welche eine sRAGE-Erhöhung sowohl bei Diabetes mellitus Typ 1 (Challier et al. 2005, Dettoraki et al. 2009) als auch Typ 2 (Tan et al. 2006, Nakamura et al. 2007) feststellen konnten. Der Anstieg des Rezeptors lässt sich auch auf molekularer Ebene nachvollziehen. So konnten verschiedene Untersuchungen zeigen, dass AGEs die Expression und Produktion verschiedener Metalloproteinasen induzieren, darunter auch die am flRAGE-Shedding beteiligten Enzyme MMP-9 und ADAM10 (Zhang et al. 2011, Weng et al. 2021). Das dadurch vermehrt entstehende *cleaved* RAGE führt somit zu einem Anstieg des gesamten sRAGE. Ein anderer Mechanismus der MMP-Aktivierung führt über die Entstehung reaktiver Sauerstoffspezies (ROS), die in gesteigertem Maße durch die Interaktion von AGEs und RAGE gebildet werden und ihrerseits die Expression und Aktivität von Metalloproteinasen hochregulieren (Rajagopalan et al. 1996, Siwik et al. 2001). Insofern wirken sich die fortgeschrittenen Glykierungsendprodukte sowohl direkt als auch indirekt über ihren Rezeptor RAGE auf die Höhe der sRAGE-Konzentration aus.

#### **5.3.5.2 sRAGE in Assoziation zum Rauchen**

Nikotinabusus ist schon lange als ein Hauptrisikofaktor für kardiovaskuläre Erkrankungen bekannt (Price 1999). Umso überraschender waren die Ergebnisse unserer multivariaten Überlebenszeitanalyse zur Identifikation kardiovaskulärer Risikofaktoren, die für aktuelle Raucher eine tendenziell erniedrigte Hazard Ratio für das Eintreten des kombinierten Endpunktes ergab (HR 0,60; 95 % KI: 0,30 – 1,19;  $p = 0,142$ ).

Der membranständige RAGE wird stark im pulmonalen Epithel exprimiert (Brett et al. 1993). Das Lungengewebe ist dem Zigarettenrauch direkt ausgesetzt und es konnte gezeigt werden, dass Zigarettenrauch die Expression von RAGE sowohl in-vitro als auch im Lungengewebe von Tieren erhöht (Reynolds et al. 2008). Raucher weisen zudem sowohl im Serum als auch im Gewebe erhöhte Konzentrationen fortgeschrittener Glykierungsendprodukte auf (Nicholl et al. 1998). Dies könnte den Forschern zufolge das erhöhte Atheroskleroserisiko bei Rauchern erklären. Da AGEs über die Aktivierung von Metalloproteinasen die Entstehung von sRAGE induzieren können, wären somit erhöhte Konzentrationen des löslichen Rezeptors zu erwarten. In diesem Sinne wiesen Biswas et al. signifikant erhöhte sRAGE-Spiegel ( $p = 0,002$ ) bei männlichen Rauchern im Vergleich zu alters- und geschlechtsgleichen Nichtraucherern nach (Biswas et al. 2013). Da die Studienpopulation mit 98 Probanden recht klein war, ist die Aussagekraft der Publikation jedoch als eher gering einzuschätzen.

In unserer Studie traten in der Gruppe der Raucher signifikant niedrigere sRAGE-Werte auf ( $p = 0,045$ ). Dieses Phänomen zeigte sich auch in anderen Veröffentlichungen (Gopal et al. 2014, Iwamoto et al. 2014). Interessante Ergebnisse lieferte eine niederländische Studie, die den akuten Effekt von Zigarettenrauchen auf die sRAGE-Konzentration untersuchte (Pouwels et al. 2018, Pouwels et al. 2019). Dabei stellte man fest, dass die Rezeptorwerte zwei Stunden nach dem Zigarettenkonsum signifikant um 15-25% sanken. Als mögliche Erklärung für dieses Phänomen gaben Pouwels und Kollegen die Bindung von sRAGE an zirkulierende Leukozyten an, die bei der Isolation von Blutserum aus der Vollblutprobe entfernt werden. Aus diesen Studienergebnissen lässt sich ableiten, dass Zigarettenkonsum wahrscheinlich weniger einen chronischen, sondern vielmehr einen Soforteffekt auf die sRAGE-Konzentration hat. Aus diesem Grund kann es sinnvoll sein, das Rauchverhalten vor der Blutabnahme zu überwachen, um Schwankungen bei der sRAGE-Bestimmung zu reduzieren.

### **5.3.5.3 sRAGE in Assoziation zum CRP und IL-6**

Die Bindung von Advanced Glycation Endproducts an ihren Rezeptor RAGE induziert die Aktivierung des Transkriptionsfaktors NF- $\kappa$ B, welcher seinerseits die Expression von proinflammatorischen Zytokinen, darunter IL-6, auslöst (Neumann et al. 1999). Da sRAGE in seiner Funktion als Decoy-Rezeptor diese Ligandenbindung vermutlich hemmt, erwarteten wir bei niedrigen sRAGE-Konzentrationen eine Erhöhung der IL-6- und damit auch der CRP-Level. Dieser Zusammenhang konnte in unserem Studienkollektiv jedoch nicht nachgewiesen werden. So zeigte sich bei unseren Koronarpatienten keine signifikante Korrelation zwischen den IL-6-Spiegeln und der sRAGE-Konzentration. Bisher existieren nur wenige Vergleichsstudien, die sich mit dem Thema befassen haben. Diese deuten allerdings darauf hin, dass sRAGE und IL-6 nicht, wie von uns vermutet, invers, sondern vielmehr positiv miteinander korreliert sind (Matsumoto et al. 2015, Zhou et al. 2020). Obwohl diese Ergebnisse unserer aufgestellten Hypothese widersprechen,

lassen sie sich dennoch auf molekularer Ebene begründen. Die Aktivierung von NF- $\kappa$ B induziert nämlich nicht nur die Expression von IL-6, sondern auch die Transkription des RAGE-Gens im Sinne einer positiven Rückkopplung. Dies führt zu einer Erhöhung der esRAGE- (durch alternatives Spleißen der RAGE-mRNA) als auch der cRAGE-Konzentration und könnte somit die positive Korrelation von sRAGE und IL-6 erklären. Auch die CRP-Werte waren in unserer Studie nicht signifikant mit der sRAGE-Konzentration korreliert. Dieses Ergebnis zeigt Parallelen zur Arbeit von Falcone et al., die bei 399 hypertensiven Patienten ebenfalls keine Assoziation zwischen den sRAGE- und CRP-Spiegeln feststellen konnten (Falcone et al. 2013c). Ähnlich wie unsere Patienten wiesen die in der Studie untersuchten Probanden ein erhöhtes kardiovaskuläres Risikoprofil auf, wodurch sich eine gute Vergleichbarkeit der Ergebnisse ergibt. Es ist jedoch nicht auszuschließen, dass durch die kardiovaskulären Vorerkrankungen ein möglicher Effekt von sRAGE auf die CRP-Konzentration maskiert wurde. Dies würde erklären, warum Selvin und Kollegen im Zuge der ARIC-Studie bei kardiovaskulär unbelasteten Patienten eine inverse Assoziation von sRAGE und CRP feststellen konnten, die auch nach Adjustierung für bekannte kardiale Risikofaktoren das Signifikanzniveau erreichte (Selvin et al. 2013). In einer Publikation von McNair et al. zeigte sich die negative Korrelation von sRAGE zu CRP dagegen sowohl bei Patienten mit durchgemachtem Myokardinfarkt als auch bei gesunden Probanden (McNair et al. 2010).

Zusammenfassend lässt sich die gedachte inverse Assoziation von sRAGE zu IL-6 als auch zum CRP nicht zweifelsfrei durch die bisher durchgeführten Studien belegen und erfordert weitere Untersuchungen.

#### **5.4 Schlussfolgerung und Ausblick**

Das Hauptergebnis der vorliegenden Studie stellt die kontroverse Beziehung der sRAGE-Konzentration zum Schweregrad der Parodontitis einerseits und zur Inzidenz neuer kardiovaskulärer Ereignisse andererseits dar. So zeigte sich eine inverse Assoziation von sRAGE zur Prävalenz einer gleichzeitig bestehenden schweren Parodontitis unter Patienten mit KHK. Im Gegensatz dazu war sRAGE signifikant-positiv mit dem Auftreten rekurrierender kardiovaskulärer Events verbunden. Dieser Zusammenhang blieb auch im multivariaten Vergleich unter Berücksichtigung verschiedener kardiovaskulärer Risikofaktoren bestehen.

Verschiedene pathophysiologische Konzepte könnten Hintergrund dieser kontroversen Beobachtung sein. Das Ergebnis in Bezug auf Parodontitis unterstützt die Hypothese, dass sRAGE zirkulierende RAGE-Liganden detektieren und eliminieren kann, und somit die AGE-RAGE-Interaktion mitsamt der nachgeschalteten Entzündungsreaktion hemmt. Die positive Assoziation von sRAGE und neuen kardiovaskulären Events untermauert dagegen die Theorie, dass sRAGE eine Überstimulation von fRAGE reflektiert. Hohe sRAGE-Level würden dann nicht etwa einen gesunden, sondern vielmehr einen chronisch-inflammatorischen Zustand widerspiegeln. Für diese

Hypothese sprechen auch die signifikant erhöhten sRAGE-Level, die wir bei unseren Patienten mit Diabetes mellitus feststellen konnten. Vermutlich sind die hohen sRAGE-Spiegel sowohl bei KHK als auch bei Diabetes mellitus auf eine gesteigerte Aktivität von Metalloproteinasen wie ADAM10 und MMP-9 zurückzuführen (Zhang et al. 2011, Donners et al. 2010). Ein anderer Erklärungsansatz wäre, dass sRAGE im Zuge der ablaufenden atherogenen inflammatorischen Reaktion kompensatorisch vom Körper erhöht wird. Die Menge an zirkulierendem sRAGE könnte jedoch gerade in Situationen, in denen flRAGE selbst hochreguliert ist, nicht ausreichend sein, um RAGE-Liganden effektiv zu neutralisieren (Kierdorf und Fritz 2013).

Zusammenfassend lassen die Ergebnisse der vorliegenden Studie den Schluss zu, dass niedrige sRAGE-Konzentrationen ein Risikoindikator für schwere Parodontitis sein können, wohingegen hohe sRAGE-Spiegel ein möglicher Biomarker für zukünftige kardiovaskuläre Ereignisse sein können. Bevor sRAGE auch in der klinischen Routine als Biomarker eingesetzt werden kann, müssen jedoch noch einige offene Fragen geklärt werden. Zum einen kann sRAGE auf zwei Wegen, nämlich über den Weg des alternativen Spleißens (esRAGE) und über proteolytische Spaltung (cRAGE), entstehen. Indess wird in der überwiegenden Mehrheit der Studien, wie auch in der vorliegenden Arbeit, nur das gesamte sRAGE berücksichtigt. Es ist jedoch denkbar, dass sich verschiedene pathologische Zustände unterschiedlich auf die beiden Isoformen auswirken können. So konnten Detzen et al. in ihrer Publikation zeigen, dass sich beim Vorliegen einer Parodontitis nur die cRAGE-Konzentration verringerte, wohingegen esRAGE nicht beeinflusst wurde (Detzen et al. 2019). Zum Verständnis der genauen pathobiologischen Zusammenhänge, auch in Bezug auf mögliche genetische Einflüsse auf die cRAGE- und esRAGE-Spiegel, sind deshalb weiterführende Studien nötig. Zum anderen gibt es für die sRAGE-Konzentration bislang keinen Normwert, sodass „niedrige“ und „hohe“ sRAGE-Werte in jeder Studie anders definiert werden. Die Schwankungsbreite hinsichtlich der sRAGE-Mediane bzw. Mittelwerte ist dabei sehr groß und reicht von ca. 500 pg/ml bis weit über 1000 pg/ml (Singhal et al. 2016, Falcone et al. 2005). Ursächlich dafür ist eine Beeinflussung von sRAGE durch multiple Faktoren wie die Ethnie, Geschlecht, Stoffwechsellage, sowie Vorerkrankungen wie Diabetes mellitus und Niereninsuffizienz, sowie verschiedene Medikamente wie Antidiabetika, ACE-Hemmer und Calciumkanalblocker (Schmidt 2015). In unseren Untersuchungen stellten sich Diabetes mellitus als auch das Rauchen als signifikante Einflussfaktoren für die Höhe des Rezeptors dar. So ergibt sich im Moment ein gemischtes Bild hinsichtlich der Effekte verschiedener Kofaktoren auf die sRAGE-Level. Um den Rezeptor in seiner Funktion als Biomarker zu evaluieren, ist deshalb zukünftig eine noch grundlegendere Forschung nötig. Diese sollte insbesondere auf die Entstehung und physiologische Funktion von sRAGE abzielen, sowie den Einfluss verschiedener metabolischer bzw. inflammatorischer Krankheiten und auch die Auswirkungen therapeutischer Interventionen berücksichtigen.

## 6 Zusammenfassung

Sowohl die Parodontitis als auch die KHK gehören zum Formenkreis der chronisch-inflammatorischen Krankheiten, die aufgrund des westlichen Lebensstils besonders in den Industrienationen eine hohe Prävalenz und Inzidenz aufweisen. Aufgrund gemeinsamer Risikofaktoren und Ähnlichkeiten in der Pathogenese wird seit längerer Zeit ein Zusammenhang zwischen den Erkrankungen vermutet. Als mögliche Schnittstelle kommt der entzündungsfördernde Rezeptor für fortgeschrittene Glykierungsendprodukte RAGE in Betracht. Da seiner löslichen Isoform sRAGE ein anti-inflammatorisches Potenzial zugeschrieben wird, war das Hauptziel dieser Arbeit, die Assoziation von sRAGE zum kardiovaskulären Outcome sowie zur Schwere der Parodontitis unter stationären Patienten mit KHK zu evaluieren. Dieser Zusammenhang ist bislang in keiner anderen Studie beschrieben worden.

In der vorliegenden Arbeit wurden zwischen 2009 und 2011 insgesamt 933 stationäre Patienten mit einer angiografisch gesicherten KHK sowohl dental als auch internistisch untersucht. Die sRAGE-Konzentration der Probanden wurde mittels eines ELISA-Tests (R&D Systems, Minneapolis, USA) bestimmt. Basierend auf den Kriterien von Tonetti und Claffey wiesen 445 Teilnehmer (47,7 %) eine schwere Parodontitis auf. Nach drei Jahren erfolgte ein Follow-Up, um die Inzidenz neu aufgetretener kardiovaskulärer Ereignisse (kEP: Herzinfarkt, kardialer Tod, Schlaganfall/TIA, Tod infolge Schlaganfalls) zu ermitteln. Innerhalb des Beobachtungszeitraumes trat bei 142 Studienteilnehmern (16,03 %) ein solches Folgeereignis ein.

Insgesamt wiesen Probanden mit einer schweren Parodontitis tendenziell geringere sRAGE-Spiegel auf als Patienten mit keiner oder leichter Parodontitis (MD 533,5 vs. 576,2 pg/ml,  $p = 0,125$ ). Nach binärer logistischer Regression unter Einbeziehung etablierter Kofaktoren für Parodontitis waren erhöhte sRAGE-Konzentrationen (4. Quartil) mit einer signifikant verminderten adjustierten Odds Ratio (Quartil 4: OR = 0,53) für schwere Parodontitis assoziiert. Die wenigen bislang zu dieser Thematik veröffentlichten Studien zeigten ähnliche Resultate, lassen sich jedoch aufgrund von Unterschieden in der Methodik nur bedingt mit unseren Ergebnissen vergleichen (Detzen et al. 2019, Singhal et al. 2016). Demgegenüber zeigte sich eine direkte Assoziation von sRAGE zur Inzidenz neuer kardiovaskulärer Ereignisse. So konnten bei Patienten, die den kEP erreicht hatten, signifikant höhere sRAGE-Werte nachgewiesen werden (641,2 vs. 539,8 pg/ml,  $p < 0,0001$ ). Nach Cox-Regression war ein hoher sRAGE-Spiegel (Quartil 4 entsprach  $> 842,39$  pg/ml) unter Einbeziehung weiterer kardialer Risikofaktoren mit einer signifikant erhöhten Hazard Ratio für die Inzidenz neuer kardiovaskulärer Ereignisse verbunden (HR = 1,67). Die Studienlage hinsichtlich der Assoziation von KHK und sRAGE ist noch weitestgehend inkonsistent. So gibt es mehrere Publikationen, die unsere Resultate unterstützen (Nin et al. 2010, Thomas et al. 2011, Fujisawa et al. 2013, Colhoun et al. 2011), andere Arbeiten zeigten dagegen eine inverse Beziehung zwischen sRAGE und KHK (Falcone et al. 2005, McNair et al. 2009, Lindsey et al.

2009b, Basta et al. 2012). Der Großteil der vorliegenden Veröffentlichungen basiert auf Querschnittsuntersuchungen. Longitudinalstudien mit vergleichbaren Voraussetzungen wie in unserer Arbeit liegen derzeit noch nicht vor.

Neben der signifikanten Assoziation zum kardiovaskulären Outcome stellten sich auch Diabetes mellitus und Tabakkonsum als signifikante Einflussfaktoren auf die sRAGE-Konzentration dar. So zeigten sich in der Gruppe der Diabetiker erhöhte sRAGE-Spiegel (MD: 601,1 vs. 527,6 pg/ml). Dies ist kongruent zu vorangegangenen Studien (Challier et al. 2005, Dettoraki et al. 2009, Nakamura et al. 2007). Ursächlich könnte eine verstärkte Akkumulation von AGEs im hyperglykämischen Milieu sein, die eine verstärkte Expression von Metalloproteinasen bewirkt und damit das Ectodomain-Shedding von flRAGE begünstigt. Raucher wiesen dagegen erniedrigte Niveaus des löslichen Rezeptors auf (MD: 524,9 vs. 567,6 pg/ml).

Resümierend konnte in der vorliegenden Arbeit gezeigt werden, dass niedrige sRAGE-Konzentrationen ein Risikoindikator für schwere Parodontitis sein können. Dagegen widersprechen unsere Resultate jedoch der Theorie, dass hohen sRAGE-Spiegeln eine protektive Rolle bei kardiovaskulären Erkrankungen zukommt. Im Gegenteil stellen erhöhte sRAGE-Konzentrationen einen unabhängigen Risikoindikator für rekurrende kardiovaskuläre Events unter Patienten mit KHK dar. Um die genauen pathophysiologischen Vorgänge hinter diesen kontroversen Ergebnissen zu verstehen und um weitere mögliche Einflussfaktoren auf die sRAGE-Konzentration zu identifizieren, müssen weitergehende Studien durchgeführt werden. Die gedachte Verbindung von Parodontitis und KHK über den Mediator sRAGE konnte in dieser Arbeit nicht bestätigt werden.



## 7 Literaturverzeichnis

- Aarabi G, Heydecke G und Seedorf U (2018). Roles of Oral Infections in the Pathomechanism of Atherosclerosis. *Int J Mol Sci* 19
- Abdellatif HM und Burt BA (1987). An epidemiological investigation into the relative importance of age and oral hygiene status as determinants of periodontitis. *J Dent Res* 66: 13–18
- Åberg CH, Kelk P und Johansson A (2015). *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*: virulence of its leukotoxin and association with aggressive periodontitis. *Virulence* 6: 188–195
- Agashe S und Petak S (2018). Cardiac Autonomic Neuropathy in Diabetes Mellitus. *Methodist DeBakey cardiovascular journal* 14: 251–256
- Ainamo J, Barmes D, Beagrie G, Cutress T, Martin J und Sardo-Infirri J (1982). Development of the World Health Organization (WHO) community periodontal index of treatment needs (CPITN). *Int Dent J* 32: 281–291
- Alikhani M, Alikhani Z, Boyd C, MacLellan CM, Raptis M, Liu R, Pischon N, Trackman PC, Gerstenfeld L und Graves DT (2007). Advanced glycation end products stimulate osteoblast apoptosis via the MAP kinase and cytosolic apoptotic pathways. *Bone* 40: 345–353
- Allen G, Harvald B und Shields J (1967). Measures of twin concordance. *Acta genetica et statistica medica* 17: 475–481
- Amar S und Chung KM (1994). Influence of hormonal variation on the periodontium in women. *Periodontol 2000* 6: 79–87
- Andrian E, Grenier D und Rouabhia M (2004). In vitro models of tissue penetration and destruction by *Porphyromonas gingivalis*. *Infect Immun* 72: 4689–4698
- Antonelli A, Di Maggio S, Rejman J, Sanvito F, Rossi A, Catucci A, Gorzanelli A, Bragonzi A, Bianchi ME und Rauti A (2017). The shedding-derived soluble receptor for advanced glycation endproducts sustains inflammation during acute *Pseudomonas aeruginosa* lung infection. *Biochim Biophys Acta Gen Subj* 1861: 354–364
- Archana V, Ambili R, Nisha KJ, Seba A und Preeja C (2015). Acute-phase reactants in periodontal disease: current concepts and future implications. *J Investig Clin Dent* 6: 108–117
- Arirachakaran P, Apinhasmit W, Paungmalit P, Jeramethakul P, Rerkyen P und Mahanonda R (2012). Infection of human gingival fibroblasts with *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*: An in vitro study. *Archives of Oral Biology* 57: 964–972
- Arno A, Warhaug J, Lovdal A und Schei O (1958). Incidence of gingivitis as related to sex, occupation, tobacco consumption, toothbrushing, and age. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 11: 587–595
- Arsenault BJ, Barter P, DeMicco DA, Bao W, Preston GM, LaRosa JC, Grundy SM, Deedwania P, Greten H, Wenger NK, Shepherd J, Waters DD und Kastelein JJP (2014). Prediction of cardiovascular events in statin-treated stable coronary patients of the treating to new targets randomized controlled trial by lipid and non-lipid biomarkers. *PLoS One* 9: e114519
- Aruni AW, Dou Y, Mishra A und Fletcher HM (2015). The Biofilm Community-Rebels with a Cause. *Curr Oral Health Rep* 2: 48–56
- Arweiler NB und Netuschil L (2016). The Oral Microbiota. *Adv Exp Med Biol* 902: 45–60
- Axelsson P, Nyström B und Lindhe J (2004). The long-term effect of a plaque control program on tooth mortality, caries and periodontal disease in adults. Results after 30 years of maintenance. *J Clin Periodontol* 31: 749–757
- Baelum V und López R (2012). Defining a periodontitis case: analysis of a never-treated adult population. *J Clin Periodontol* 39: 10–19

- Bartold PM, Cantley MD und Haynes DR (2010). Mechanisms and control of pathologic bone loss in periodontitis. *Periodontol* 2000 53: 55–69
- Bashan E, Harper R, Bi Y und Hodish I (2015). A novel approach to optimise glycaemic control in insulin users. *BMJ Case Rep* 2015
- Basta G (2008). Receptor for advanced glycation endproducts and atherosclerosis: From basic mechanisms to clinical implications. *Atherosclerosis* 196: 9–21
- Basta G, Del Turco S, Navarra T, Mazzarisi A, Cocci F, Coceani M, Bianchi M, Schlueter M und Marraccini P (2012). Inverse association between circulating levels of soluble receptor for advanced glycation end-products and coronary plaque burden. *J Atheroscler Thromb* 19: 941–948
- Bentzon JF, Otsuka F, Virmani R und Falk E (2014). Mechanisms of plaque formation and rupture. *Circ Res* 114: 1852–1866
- Berg TJ, Dahl-Jorgensen K, Torjesen PA und Hanssen KF (1997). Increased Serum Levels of Advanced Glycation End Products (AGEs) in Children and Adolescents With IDDM. *Diabetes Care* 20: 1006–1008
- Berglundh T und Donati M (2005). Aspects of adaptive host response in periodontitis. *J Clin Periodontol* 32 Suppl 6: 87–107
- Berglundh T, Donati M und Zitzmann N (2007). B cells in periodontitis: friends or enemies? *Periodontol* 2000 45: 51–66
- Bierhaus A, Humpert PM, Morcos M, Wendt T, Chavakis T, Arnold B, Stern DM und Nawroth PP (2005). Understanding RAGE, the receptor for advanced glycation end products. *J Mol Med* 83: 876–886
- Bierhaus A und Nawroth PP (2009). Multiple levels of regulation determine the role of the receptor for AGE (RAGE) as common soil in inflammation, immune responses and diabetes mellitus and its complications. *Diabetologia* 52: 2251–2263
- Birkedal-Hansen H (1993). Role of cytokines and inflammatory mediators in tissue destruction. *J Periodontal Res* 28: 500–510
- Biswas SK, Mudi SR, Mollah FH, Bierhaus A und Arslan MI (2013). Serum soluble receptor for advanced glycation end products (sRAGE) is independently associated with cigarette smoking in non-diabetic healthy subjects. *Diabetes and Vascular Disease Research* 10: 380–382
- Bower JK, Pankow JS, Lazo M, Christenson E, Hoogeveen RC, Ballantyne CM, Halushka MK, Astor BC und Selvin E (2014). Three-Year Variability in Plasma Concentrations of the Soluble Receptor for Advanced Glycation End Products (sRAGE). *Clin Biochem* 47: 132–134
- Brett J, Schmidt AM, Yan SD, Zou YS, Weidman E, Pinsky D, Nowygrod R, Neeper M, Przy-siecki C und Shaw A (1993). Survey of the distribution of a newly characterized receptor for advanced glycation end products in tissues. *The American Journal of Pathology* 143: 1699–1712
- Brinkley TE, Leng X, Nicklas BJ, Kritchevsky SB, Ding J, Kitzman DW und Hundley WG (2017). Racial differences in circulating levels of the soluble receptor for advanced glycation endproducts in middle-aged and older adults. *Metabolism* 70: 98–106
- Brown JC, Gerhardt TE und Kwon E (2020). *StatPearls: Risk Factors For Coronary Artery Disease*. Treasure Island (FL)
- Brown LF und Fraser CG (2008). Assay validation and biological variation of serum receptor for advanced glycation end-products. *Ann Clin Biochem* 45: 518–519
- Brownlee M (2001). Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications. *Nature* 414: 813–820

- Bucciarelli LG, Wendt T, Qu W, Lu Y, Lalla E, Rong LL, Goova MT, Moser B, Kislinger T, Lee DC, Kashyap Y, Stern DM und Am Schmidt (2002). RAGE blockade stabilizes established atherosclerosis in diabetic apolipoprotein E-null mice. *Circulation* 106
- Burke AP, Kolodgie FD, Zieske A, Fowler DR, Weber DK, Varghese PJ, Farb A und Virmani R (2004). Morphologic findings of coronary atherosclerotic plaques in diabetics: a postmortem study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 24: 1266–1271
- Busse, Dorfeld, Schulze, Tegtbur und Thomas (2005). Risikofaktoren der KHK und Arteriosklerose: Beachtung im Rahmen der ambulanten ärztlichen Versorgung: Risk factors for CHD and arteriosclerosis: Attention in the outpatient medical care. *Klinische Sportmedizin / Clinical Sports Medicine Germany* 6: 1–8
- Carrion J, Scisci E, Miles B, Sabino GJ, Zeituni AE, Gu Y, Bear A, Genco CA, Brown DL und Cutler CW (2012). Microbial Carriage State of Peripheral Blood Dendritic cells (DCs) in Chronic Periodontitis Influences DC Differentiation, Atherogenic Potential†. *J Immunol* 189: 3178–3187
- Chait A und Bornfeldt KE (2009). Diabetes and atherosclerosis: is there a role for hyperglycemia? *J Lipid Res* 50 Suppl: S335-9
- Challier M, Jacqueminet S, Benabdesselam O, Grimaldi A und Beaudeau J-L (2005). Increased Serum Concentrations of Soluble Receptor for Advanced Glycation Endproducts in Patients with Type 1 Diabetes. *Clin Chem* 51: 1749–1750
- Chaney MO, Stine WB, Kokjohn TA, Kuo Y-M, Esh C, Rahman A, Luehrs DC, Schmidt AM, Stern D, Du Yan S und Roher AE (2005). RAGE and amyloid beta interactions: atomic force microscopy and molecular modeling. *Biochim Biophys Acta* 1741: 199–205
- Chiang K-H, Huang P-H, Huang S-S, Wu T-C, Chen J-W und Lin S-J (2009). Plasma levels of soluble receptor for advanced glycation end products are associated with endothelial function and predict cardiovascular events in nondiabetic patients. *Coron Artery Dis* 20: 267–273
- Colhoun HM, Betteridge DJ, Durrington P, Hitman G, Neil A, Livingstone S, Charlton-Menys V, Bao W, DeMicco DA, Preston GM, Deshmukh H, Tan K und Fuller JH (2011). Total soluble and endogenous secretory receptor for advanced glycation end products as predictive biomarkers of coronary heart disease risk in patients with type 2 diabetes: an analysis from the CARDS trial. *Diabetes* 60: 2379–2385
- Dattilo BM, Fritz G, Leclerc E, Kooi CWV, Heizmann CW und Chazin WJ (2007). The extracellular region of the receptor for advanced glycation end products is composed of two independent structural units. *Biochemistry* 46: 6957–6970
- Davies MJ (2000). The pathophysiology of acute coronary syndromes. *Heart* 83: 361–366
- Deane R, Du Yan S, Subramanyam RK, LaRue B, Jovanovic S, Hogg E, Welch D, Manness L, Lin C, Yu J, Zhu H, Ghiso J, Frangione B, Stern A, Schmidt AM, Armstrong DL, Arnold B, Liliensiek B, Nawroth P, Hofman F, Kindy M, Stern D und Zlokovic B (2003). RAGE mediates amyloid-beta peptide transport across the blood-brain barrier and accumulation in brain. *Nat Med* 9: 907–913
- Del Turco S und Basta G (2012). An update on advanced glycation endproducts and atherosclerosis. *Biofactors* 38: 266–274
- Demling N, Ehrhardt C, Kasper M, Laue M, Knels L und Rieber EP (2006). Promotion of cell adherence and spreading: a novel function of RAGE, the highly selective differentiation marker of human alveolar epithelial type I cells. *Cell Tissue Res* 323: 475–488
- DeStefano F, Anda RF, Kahn HS, Williamson DF und Russell CM (1993). Dental disease and risk of coronary heart disease and mortality. *BMJ* 306: 688–691
- Detoraki A, Rojas Gil AP und Spiliotis BE (2009). Association Between Serum Levels of the Soluble Receptor (sRAGE) for Advanced Glycation Endproducts (AGEs) and their Receptor

- (RAGE) in Peripheral Blood Mononuclear Cells of Children with Type 1 Diabetes Mellitus. *Journal of Pediatric Endocrinology and Metabolism* 22
- Detzen L, Cheng B, Chen C-Y, Papapanou PN und Lalla E (2019). Soluble Forms of the Receptor for Advanced Glycation Endproducts (RAGE) in Periodontitis. *Sci Rep* 9
- Deutsche Herzstiftung e.V. (2021). *Deutscher Herzbericht 2020* 32: 28–29
- Ding Q und Keller JN (2005). Evaluation of rage isoforms, ligands, and signaling in the brain. *Biochim Biophys Acta* 1746: 18–27
- Donato R, Cannon BR, Sorci G, Riuzzi F, Hsu K, Weber DJ und Geczy CL (2013). Functions of S100 Proteins. *Curr Mol Med* 13: 24–57
- Donners MMPC, Wolfs IMJ, Olieslagers S, Mohammadi-Motahhari Z, Tchaikovski V, Heeneman S, van Buul JD, Caolo V, Molin DGM, Post MJ und Waltenberger J (2010). A disintegrin and metalloprotease 10 is a novel mediator of vascular endothelial growth factor-induced endothelial cell function in angiogenesis and is associated with atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*: 2188–2195
- Ebersole JL, Machen RL, Steffen MJ und Willmann DE (1997). Systemic acute-phase reactants, C-reactive protein and haptoglobin, in adult periodontitis. *Clin Exp Immunol* 107: 347–352
- Eke PI, Page RC, Wei L, Thornton-Evans G und Genco RJ (2012). Update of the case definitions for population-based surveillance of periodontitis. *J Periodontol* 83: 1449–1454
- Emrich LJ, Shlossman M und Genco RJ (1991). Periodontal disease in non-insulin-dependent diabetes mellitus. *J Periodontol* 62: 123–131
- Falcone C, Bozzini S, D'Angelo A, Matrone B, Colonna A, Benzi A, Paganini EM, Falcone R und Pelissero G (2013a). Plasma Levels of Soluble Receptor for Advanced Glycation End Products and Coronary Atherosclerosis: Possible Correlation with Clinical Presentation. *Dis Markers* 35: 135–140
- Falcone C, Bozzini S, Guasti L, D'Angelo A, Capettini AC, Paganini EM, Falcone R, Moia R, Gazzaruso C und Pelissero G (2013b). Soluble RAGE Plasma Levels in Patients with Coronary Artery Disease and Peripheral Artery Disease. *ScientificWorldJournal* 2013
- Falcone C, Buzzi MP, Bozzini S, Boiocchi C, D'Angelo A, Schirinzi S, Choi J, Ochan Kilama M, Esposito C, Torreggiani M, Mancina G und Investigators T (2013c). Relationship between sRAGE and eotaxin-3 with CRP in hypertensive patients at high cardiovascular risk. *JN* 26: 144–151
- Falcone C, Emanuele E, D'Angelo A, Buzzi MP, Belvito C, Cuccia M und Geroldi D (2005). Plasma levels of soluble receptor for advanced glycation end products and coronary artery disease in nondiabetic men. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 25: 1032–1037
- Fang MA, Frost PJ, Iida-Klein A und Hahn TJ (1991). Effects of nicotine on cellular function in UMR 106-01 osteoblast-like cells. *Bone* 12
- Fischer-Rasokat, Dill und Hamm (2018). *Innere Medizin*. Stuttgart, New York, Stuttgart: Georg Thieme Verlag; Thieme
- Fischman SL (1986). Current status of indices of plaque. *J Clin Periodontol* 13: 371-4, 379-80
- Fives-Taylor PM, Meyer DH, Mintz KP und Brissette C (1999). Virulence factors of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. *Periodontol* 2000 20
- Friedewald VE, Kornman KS, Beck JD, Genco R, Goldfine A, Libby P, Offenbacher S, Ridker PM, van Dyke TE und Roberts WC (2009). The American Journal of Cardiology and Journal of Periodontology editors' consensus: periodontitis and atherosclerotic cardiovascular disease. *J Periodontol* 80: 1021–1032

- Fujisawa K, Katakami N, Kaneto H, Naka T, Takahara M, Sakamoto F, Irie Y, Miyashita K, Kubo F, Yasuda T, Matsuoka T-A und Shimomura I (2013). Circulating soluble RAGE as a predictive biomarker of cardiovascular event risk in patients with type 2 diabetes. *Atherosclerosis* 227: 425–428
- Fuller KNZ, Valentine RJ, Miranda ER, Kumar P, Prabhakar BS und Haus JM (2018). A single high-fat meal alters human soluble RAGE profiles and PBMC RAGE expression with no effect of prior aerobic exercise. *Physiol Rep* 6: e13811
- Gerok W (2007). *Die innere Medizin*. s.l.: Schattauer GmbH Verlag für Medizin und Naturwissenschaften
- Giacona MB, Papapanou PN, Lamster IB, Rong LL, D'Agati VD, Schmidt AM und Lalla E (2004). *Porphyromonas gingivalis* induces its uptake by human macrophages and promotes foam cell formation in vitro. *FEMS Microbiol Lett* 241: 95–101
- Gilbert GH, Shelton BJ, Chavers LS und Bradford EH (2002). Predicting tooth loss during a population-based study: role of attachment level in the presence of other dental conditions. *J Periodontol* 73: 1427–1436
- Glass CK und Witztum JL (2001). *Atherosclerosis: The Road Ahead*. *Cell* 104: 503–516
- Godo S und Shimokawa H (2017). Endothelial Functions. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 37: e108-e114
- Goldberg T, Cai W, Peppas M, Dardaine V, Baliga BS, Uribarri J und Vlassara H (2004). Advanced glycoxidation end products in commonly consumed foods. *J Am Diet Assoc* 104: 1287–1291
- Goldin A, Beckman JA, Schmidt AM und Creager MA (2006). Advanced glycation end products: sparking the development of diabetic vascular injury. *Circulation* 114: 597–605
- Gopal P, Reynaert NL, Scheijen JLJM, Schalkwijk CG, Franssen FME, Wouters EFM und Rutten EPA (2014). Association of plasma sRAGE, but not esRAGE with lung function impairment in COPD. *Respir Res* 15
- Grossi SG, Zambon JJ, Ho AW, Koch G, Dunford RG, Machtei EE, Norderyd OM und Genco RJ (1994). Assessment of Risk for Periodontal Disease. I. Risk Indicators for Attachment Loss. *J Periodontol* 65: 260–267
- Haffajee AD, Japlit M, Bogren A, Kent RL, Goodson JM und Socransky SS (2005). Differences in the subgingival microbiota of Swedish and USA subjects who were periodontally healthy or exhibited minimal periodontal disease. *J Clin Periodontol* 32: 33–39
- Hajar R (2017). Risk Factors for Coronary Artery Disease: Historical Perspectives. *Heart views : the official journal of the Gulf Heart Association* 18: 109–114
- Hajishengallis G (2014). Aging and its Impact on Innate Immunity and Inflammation: Implications for Periodontitis. *J Oral Biosci* 56: 30–37
- Haraszthy VI, Zambon JJ, Trevisan M, Zeid M und Genco RJ (2000). Identification of periodontal pathogens in atheromatous plaques. *J Periodontol* 71: 1554–1560
- Harja E, Bu D-x, Hudson BI, Chang JS, Shen X, Hallam K, Kalea AZ, Lu Y, Rosario RH, Oruganti S, Nikolla Z, Belov D, Lalla E, Ramasamy R, Yan SF und Schmidt AM (2008). Vascular and inflammatory stresses mediate atherosclerosis via RAGE and its ligands in apoE<sup>-/-</sup> mice. *J Clin Invest* 118: 183–194
- Harrap GJ (1974). Assessment of the effect of dentifrices on the growth of dental plaque. *J Clin Periodontol* 1: 166–174
- He H, Liu R, Desta T, Leone C, Gerstenfeld LC und Graves DT (2004). Diabetes causes decreased osteoclastogenesis, reduced bone formation, and enhanced apoptosis of osteoblastic cells in bacteria stimulated bone loss. *Endocrinology* 145: 447–452

- Herzberg MC und Weyer MW (1998). Dental plaque, platelets, and cardiovascular diseases. *Annals of periodontology* 3: 151–160
- Hicks KA, Mahaffey KW, Mehran R, Nissen SE, Wiviott SD, Dunn B, Solomon SD, Marler JR, Teerlink JR, Farb A, Morrow DA, Targum SL, Sila CA, Hai MTT, Jaff MR, Joffe HV, Cutlip DE, Desai AS, Lewis EF, Gibson CM, Landray MJ, Lincoff AM, White CJ, Brooks SS, Rosenfield K, Domanski MJ, Lansky AJ, McMurray JJV, Tcheng JE, Steinhubl SR, Burton P, Mauri L, O'Connor CM, Pfeffer MA, Hung HMJ, Stockbridge NL, Chaitman BR und Temple RJ (2018). 2017 Cardiovascular and Stroke Endpoint Definitions for Clinical Trials. *Circulation* 137: 961–972
- Hiltunen TP und Ylä-Herttuala S (1998). Expression of lipoprotein receptors in atherosclerotic lesions. *Atherosclerosis* 137 Suppl: S81-8
- Holt SC und Ebersole JL (2005). *Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola*, and *Tannerella forsythia*: the "red complex", a prototype polybacterial pathogenic consortium in periodontitis. *Periodontol* 2000 38: 72–122
- Hori O, Brett J, Slattery T, Cao R, Zhang J, Chen JX, Nagashima M, Lundh ER, Vijay S und Nitecki D (1995). The receptor for advanced glycation end products (RAGE) is a cellular binding site for amphoterin. Mediation of neurite outgrowth and co-expression of rage and amphoterin in the developing nervous system. *J Biol Chem* 270: 25752–25761
- Hudson BI, Carter AM, Harja E, Kalea AZ, Arriero M, Yang H, Grant PJ und Schmidt AM (2008). Identification, classification, and expression of RAGE gene splice variants. *FASEB J* 22: 1572–1580
- Hudson BI und Lippman ME (2018). Targeting RAGE Signaling in Inflammatory Disease. *Annu Rev Med* 69: 349–364
- Hudson BI, Moon YP, Kalea AZ, Khatri M, Marquez C, Schmidt AM, Paik MC, Yoshita M, Sacco RL, DeCarli C, Wright CB und Elkind MSV (2011). Association of serum soluble receptor for advanced glycation end-products with subclinical cerebrovascular disease: the Northern Manhattan Study (NOMAS). *Atherosclerosis* 216: 192–198
- Hurlimann J, Thorbecke GJ und Hochwald GM (1966). The liver as the site of C-reactive protein formation. *Journal of Experimental Medicine* 123: 365–378
- Imamura T (2003). The role of gingipains in the pathogenesis of periodontal disease. *J Periodontol* 74: 111–118
- Irshad M, van der Reijden WA, Crielaard W und Laine ML (2012). In vitro invasion and survival of *Porphyromonas gingivalis* in gingival fibroblasts; role of the capsule. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)* 60: 469–476
- Iwamoto H, Gao J, Pulkkinen V, Toljamo T, Nieminen P und Mazur W (2014). Soluble receptor for advanced glycation end-products and progression of airway disease. *BMC Pulm Med* 14
- Jordan AR und Micheelis W (2016). Fünfte Deutsche Mundgesundheitsstudie (DMS V). Köln: Deutscher Zahnärzte Verlag DÄV
- Kachlany SC (2010). *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* Leukotoxin: from Threat to Therapy. *J Dent Res* 89: 561–570
- Kadowaki T, Baba A, Abe N, Takii R, Hashimoto M, Tsukuba T, Okazaki S, Suda Y, Asao T und Yamamoto K (2004). Suppression of pathogenicity of *Porphyromonas gingivalis* by newly developed gingipain inhibitors. *Mol Pharmacol* 66: 1599–1606
- Kaldahl WB, Johnson GK, Patil KD und Kalkwarf KL (1996). Levels of Cigarette Consumption and Response to Periodontal Therapy. *J Periodontol* 67: 675–681
- Karges W und Dahouk Sa (2014). *Innere Medizin ... in 5 Tagen*. Berlin: Springer

- Kassebaum NJ, Bernabé E, Dahiya M, Bhandari B, Murray CJL und Marcenes W (2014). Global Burden of Severe Periodontitis in 1990-2010: A Systematic Review and Meta-regression. *J Dent Res* 93: 1045–1053
- Katz J, Bhattacharyya I, Farkhondeh-Kish F, Perez FM, Caudle RM und Heft MW (2005). Expression of the receptor of advanced glycation end products in gingival tissues of type 2 diabetes patients with chronic periodontal disease: a study utilizing immunohistochemistry and RT-PCR. *J Clin Periodontol* 32: 40–44
- Khader YS, Albashaireh ZSM und Alomari MA (2004). Periodontal diseases and the risk of coronary heart and cerebrovascular diseases: a meta-analysis. *J Periodontol* 75: 1046–1053
- Khumaedi AI, Purnamasari D, Wijaya IP und Soerосо Y (2019). The relationship of diabetes, periodontitis and cardiovascular disease. *Diabetes Metab Syndr* 13: 1675–1678
- Kierdorf K und Fritz G (2013). RAGE regulation and signaling in inflammation and beyond. *J Leukoc Biol* 94: 55–68
- Kilhovd BK, Berg TJ, Birkeland KI, Thorsby P und Hanssen KF (1999). Serum levels of advanced glycation end products are increased in patients with type 2 diabetes and coronary heart disease. *Diabetes Care* 22: 1543–1548
- Koch M, Chitayat S, Dattilo BM, Schiefner A, Diez J, Chazin WJ und Fritz G (2010). Structural Basis for Ligand Recognition and Activation of RAGE. *Structure* 18: 1342–1352
- Kolenbrander PE und London J (1993). Adhere today, here tomorrow: oral bacterial adherence. *J Bacteriol* 175: 3247–3252
- Kornman KS und Loesche WJ (1980). The subgingival microbial flora during pregnancy. *J Periodontal Res* 15: 111–122
- Kornman KS, Page RC und Tonetti MS (1997). The host response to the microbial challenge in periodontitis: assembling the players. *Periodontol* 2000 14: 33–53
- Kosmopoulos M, Drekolias D, Zavras PD, Piperi C und Papavassiliou AG (2019). Impact of advanced glycation end products (AGEs) signaling in coronary artery disease. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis* 1865: 611–619
- Koziel J, Karim AY, Przybyszewska K, Ksiazek M, Rapala-Kozik M, Nguyen K-A und Potempa J (2010). Proteolytic inactivation of LL-37 by karilysin, a novel virulence mechanism of *Tannerella forsythia*. *J Innate Immun* 2: 288–293
- Lalla E, Lamster IB, Feit M, Huang L und Schmidt AM (1998). A murine model of accelerated periodontal disease in diabetes. *J Periodontal Res* 33: 387–399
- Lalla E, Lamster IB, Feit M, Huang L, Spessot A, Qu W, Kislinger T, Lu Y, Stern DM und Schmidt AM (2000). Blockade of RAGE suppresses periodontitis-associated bone loss in diabetic mice. *J Clin Invest* 105: 1117–1124
- Lander HM, Tauras JM, Ogiste JS, Hori O, Moss RA und Schmidt AM (1997). Activation of the receptor for advanced glycation end products triggers a p21(ras)-dependent mitogen-activated protein kinase pathway regulated by oxidant stress. *J Biol Chem* 272: 17810–17814
- Lang NP, Joss A, Orsanic T, Gusberti FA und Siegrist BE (1986). Bleeding on probing. A predictor for the progression of periodontal disease? *J Clin Periodontol* 13: 590–596
- Leclerc E, Fritz G, Vetter SW und Heizmann CW (2009). Binding of S100 proteins to RAGE: an update. *Biochim Biophys Acta* 1793
- Leclerc E, Fritz G, Weibel M, Heizmann CW und Galichet A (2007). S100B and S100A6 differentially modulate cell survival by interacting with distinct RAGE (receptor for advanced glycation end products) immunoglobulin domains. *J Biol Chem* 282: 31317–31331

- Leclerc E und Heizmann CW (2011). The importance of Ca<sup>2+</sup>/Zn<sup>2+</sup> signaling S100 proteins and RAGE in translational medicine. *Front Biosci (Schol Ed)* 3: 1232–1262
- Li S, Ni Q, Wu H, Peng L, Dong R, Chen L und Liu J (2013). Diagnostic accuracy of 320-slice computed tomography angiography for detection of coronary artery stenosis: meta-analysis. *Int J Cardiol* 168: 2699–2705
- Libby P (2000). Changing concepts of atherogenesis. *J Intern Med* 247: 349–358
- Libby P (2006). Inflammation and cardiovascular disease mechanisms. *Am J Clin Nutr* 83: 456S–460S
- Lindhe J und Brånemark PI (1967). Changes in vascular permeability after local application of sex hormones. *J Periodontol Res* 2: 259–265
- Lindsey JB, Cipollone F, Abdullah SM und McGuire DK (2009a). Receptor for advanced glycation end-products (RAGE) and soluble RAGE (sRAGE): cardiovascular implications. *Diab Vasc Dis Res* 6: 7–14
- Lindsey JB, Lemos JA de, Cipollone F, Ayers CR, Rohatgi A, Morrow DA, Khera A und McGuire DK (2009b). Association between circulating soluble receptor for advanced glycation end products and atherosclerosis: observations from the Dallas Heart Study. *Diabetes Care* 32: 1218–1220
- Liu R, Desta T, He H und Graves DT (2004). Diabetes alters the response to bacteria by enhancing fibroblast apoptosis. *Endocrinology* 145: 2997–3003
- Löe H, Anerud A, Boysen H und Morrison E (1986). Natural history of periodontal disease in man. Rapid, moderate and no loss of attachment in Sri Lankan laborers 14 to 46 years of age. *J Clin Periodontol* 13: 431–445
- Löe H, Theilade E und Jensen SB (1965). Experimental gingivitis in man. *J Periodontol* 36: 177–187
- Loos BG (2005). Systemic markers of inflammation in periodontitis. *J Periodontol* 76: 2106–2115
- Loos BG, Craandijk J, Hoek FJ, Wertheim-van Dillen PM und van der Velden U (2000). Elevation of systemic markers related to cardiovascular diseases in the peripheral blood of periodontitis patients. *J Periodontol* 71: 1528–1534
- Lusis AJ (2000). Atherosclerosis. *Nature* 407: 233–241
- Malherbe P, Richards JG, Gaillard H, Thompson A, Diener C, Schuler A und Huber G (1999). cDNA cloning of a novel secreted isoform of the human receptor for advanced glycation end products and characterization of cells co-expressing cell-surface scavenger receptors and Swedish mutant amyloid precursor protein. *Brain Res Mol Brain Res* 71: 159–170
- Manfro WC, Peukert C, Berti CB, Noer C, Gutierrez DdA und Silva FTBGCd (2002). Acute myocardial infarction: the first manifestation of ischemic heart disease and relation to risk factors. *Arquivos brasileiros de cardiologia* 78: 392–395
- Marsh PD (2005). Dental plaque: biological significance of a biofilm and community life-style. *J Clin Periodontol* 32 Suppl 6: 7–15
- Maruthur NM, Li M, Halushka MK, Astor BC, Pankow JS, Boerwinkle E, Coresh J, Selvin E und Kao WHL (2015). Genetics of Plasma Soluble Receptor for Advanced Glycation End-Products and Cardiovascular Outcomes in a Community-based Population: Results from the Atherosclerosis Risk in Communities Study. *PLoS One* 10: e0128452
- Masters CL, Simms G, Weinman NA, Multhaup G, McDonald BL und Beyreuther K (1985). Amyloid plaque core protein in Alzheimer disease and Down syndrome. *Proc Natl Acad Sci U S A* 82: 4245–4249



- Matsumoto H, Matsumoto N, Ogura H, Shimazaki J, Yamakawa K, Yamamoto K und Shimazu T (2015). The clinical significance of circulating soluble RAGE in patients with severe sepsis. *Journal of Trauma and Acute Care Surgery* 78: 1086–1094
- Mattila KJ, Nieminen MS, Valtonen VV, Rasi VP, Kesäniemi YA, Syrjälä SL, Jungell PS, Isolouma M, Hietaniemi K und Jokinen MJ (1989). Association between dental health and acute myocardial infarction. *BMJ* 298: 779–781
- McNair ED, Wells CR, Mabood Qureshi A, Basran R, Pearce C, Orvold J, Devilliers J und Prasad K (2010). Modulation of high sensitivity C-reactive protein by soluble receptor for advanced glycation end products. *Mol Cell Biochem* 341: 135–138
- McNair ED, Wells CR, Qureshi AM, Basran RS, Pearce C, Orvold J, Devilliers J und Prasad K (2009). Low levels of soluble receptor for advanced glycation end products in non-ST elevation myocardial infarction patients. *Int J Angiol* 18: 187–192
- Mealey BL und Ocampo GL (2007). Diabetes mellitus and periodontal disease. *Periodontol* 2000 44: 127–153
- Metz VV, Kojro E, Rat D und Postina R (2012). Induction of RAGE shedding by activation of G protein-coupled receptors. *PLoS One* 7: e41823
- Meyle J und Chapple I (2015). Molecular aspects of the pathogenesis of periodontitis. *Periodontol* 2000 69: 7–17
- Michalowicz BS, Aeppli D, Virag JG, Klump DG, Hinrichs JE, Segal NL, Bouchard TJ und Pihlstrom BL (1991). Periodontal findings in adult twins. *J Periodontol* 62: 293–299
- Miranda ER, Fuller KNZ, Perkins RK, Beisswenger PJ, Farabi SS, Quinn L und Haus JM (2019). Divergent Changes in Plasma AGEs and sRAGE Isoforms Following an Overnight Fast in T1DM. *Nutrients* 11
- Müller H-P (2012). *Checklisten der Zahnmedizin Parodontologie*. Stuttgart: Thieme
- Nakamura K, Yamagishi S-i, Adachi H, Kurita-Nakamura Y, Matsui T, Yoshida T, Sato A und Imaizumi T (2007). Elevation of soluble form of receptor for advanced glycation end products (sRAGE) in diabetic subjects with coronary artery disease. *Diabetes Metab Res Rev* 23: 368–371
- Nakashima A, Carrero JJ, Qureshi AR, Miyamoto T, Anderstam B, Bárány P, Heimbürger O, Stenvinkel P und Lindholm B (2010). Effect of circulating soluble receptor for advanced glycation end products (sRAGE) and the proinflammatory RAGE ligand (EN-RAGE, S100A12) on mortality in hemodialysis patients. *Clin J Am Soc Nephrol* 5: 2213–2219
- Neeper M, Schmidt AM, Brett J, Yan SD, Wang F, Pan YC, Elliston K, Stern D und Shaw A (1992). Cloning and expression of a cell surface receptor for advanced glycosylation end products of proteins. *J Biol Chem* 267: 14998–15004
- Neumann A, Schinzel R, Palm D, Riederer P und Münch G (1999). High molecular weight hyaluronic acid inhibits advanced glycation endproduct-induced NF- $\kappa$ B activation and cytokine expression. *FEBS Letters* 453: 283–287
- Nicholl ID, Stitt AW, Moore JE, Ritchie AJ, Archer DB und Bucala R (1998). Increased levels of advanced glycation endproducts in the lenses and blood vessels of cigarette smokers. *Mol Med* 4: 594–601
- Nin JWM, Jorsal A, Ferreira I, Schalkwijk CG, Prins MH, Parving H-H, Tarnow L, Rossing P und Stehouwer CDA (2010). Higher plasma soluble Receptor for Advanced Glycation End Products (sRAGE) levels are associated with incident cardiovascular disease and all-cause mortality in type 1 diabetes: a 12-year follow-up study. *Diabetes* 59: 2027–2032
- Nonaka K, Kajiura Y, Bando M, Sakamoto E, Inagaki Y, Lew JH, Naruishi K, Ikuta T, Yoshida K, Kobayashi T, Yoshie H, Nagata T und Kido J (2018). Advanced glycation end-products

- increase IL-6 and ICAM-1 expression via RAGE, MAPK and NF- $\kappa$ B pathways in human gingival fibroblasts. *J Periodontol Res* 53: 334–344
- Noto D, Cottone S, Cefalù AB, Vadalà A, Barbagallo CM, Rizzo M, Pernice V, Minà M, Fayer F, Cerasola G, Notarbartolo A und Averna MR (2007). Interleukin 6 plasma levels predict with high sensitivity and specificity coronary stenosis detected by coronary angiography. *Thromb Haemost* 98: 1362–1367
- Orwoll ES, Chan BKS, Lambert LC, Marshall LM, Lewis C und Phipps KR (2009). Sex steroids, periodontal health, and tooth loss in older men. *J Dent Res* 88: 704–708
- Ott C, Jacobs K, Haucke E, Navarrete Santos A, Grune T und Simm A (2014). Role of advanced glycation end products in cellular signaling. *Redox Biol* 2: 411–429
- Page RC (1998). The pathobiology of periodontal diseases may affect systemic diseases: inversion of a paradigm. *Annals of periodontology* 3
- Page RC und Eke PI (2007). Case definitions for use in population-based surveillance of periodontitis. *J Periodontol* 78: 1387–1399
- Page RC und Schroeder HE (1976). Pathogenesis of inflammatory periodontal disease. A summary of current work. *Lab Invest* 34: 235–249
- Palmer RM, Wilson RF, Hasan AS und Scott DA (2005). Mechanisms of action of environmental factors--tobacco smoking. *J Clin Periodontol* 32 Suppl 6: 180–195
- Paraskevas S, Huizinga JD und Loos BG (2008). A systematic review and meta-analyses on C-reactive protein in relation to periodontitis. *J Clin Periodontol* 35
- Park HJ, Baek JY, Shin WS, Kim DB, Jang SW, Di Shin, Koh YS, Seo SM, Uhm JS, Kim TH, Kim CJ, Kim PJ, Chang K, Chung WS, Seung KB und Lee JM (2011). Soluble receptor of advanced glycated endproducts is associated with plaque vulnerability in patients with acute myocardial infarction. *Circulation journal : official journal of the Japanese Circulation Society* 75
- Park L, Raman KG, Lee KJ, Lu Y, Ferran LJ, Chow WS, Stern D und Schmidt AM (1998). Suppression of accelerated diabetic atherosclerosis by the soluble receptor for advanced glycation endproducts. *Nat Med* 4: 1025–1031
- Pencina MJ, Navar AM, Wojdyla D, Sanchez RJ, Khan I, Ellassal J, D'Agostino RB, Peterson ED und Sniderman AD (2019). Quantifying Importance of Major Risk Factors for Coronary Heart Disease. *Circulation* 139: 1603–1611
- Peppia M, Uribarri J und Vlassara H (2003). Glucose, Advanced Glycation End Products, and Diabetes Complications: What Is New and What Works. *Clinical Diabetes* 21: 186–187
- Pouwels SD, Klont F, Kwiatkowski M, Wiersma VR, Faiz A, van den Berge M, Horvatovich P, Bischoff R und Hacken NHT ten (2018). Cigarette Smoking Acutely Decreases Serum Levels of the Chronic Obstructive Pulmonary Disease Biomarker sRAGE. *Am J Respir Crit Care Med* 198: 1456–1458
- Pouwels SD, Klont F, Kwiatkowski M, Wiersma VR, Faiz A, van den Berge M, Horvatovich P, Bischoff R und Hacken NHT ten (2019). Reply to Biswas: Acute and Chronic Effects of Cigarette Smoking on sRAGE. *Am J Respir Crit Care Med* 199: 806–807
- Price J (1999). Relationship between smoking and cardiovascular risk factors in the development of peripheral arterial disease and coronary artery disease; Edinburgh Artery Study Edinburgh Artery Study. *European Heart Journal* 20: 344–353
- Quinn SM, Zhang J-B, Gunsolley JC, Schenkein HA und Tew JG (1998). The Influence of Smoking and Race on Adult Periodontitis and Serum IgG2 Levels. *J Periodontol* 69: 171–177

- Rai V, Touré F, Chitayat S, Pei R, Song F, Li Q, Zhang J, Rosario R, Ramasamy R, Chazin WJ und Schmidt AM (2012). Lysophosphatidic acid targets vascular and oncogenic pathways via RAGE signaling. *J Exp Med* 209: 2339–2350
- Rajagopalan S, Meng XP, Ramasamy S, Harrison DG und Galis ZS (1996). Reactive oxygen species produced by macrophage-derived foam cells regulate the activity of vascular matrix metalloproteinases in vitro. Implications for atherosclerotic plaque stability. *J Clin Invest* 98: 2572–2579
- Rani SG, Sepuru KM und Yu C (2014). Interaction of S100A13 with C2 domain of receptor for advanced glycation end products (RAGE). *Biochim Biophys Acta* 1844: 1718–1728
- Rauci A, Cugusi S, Antonelli A, Barabino SM, Monti L, Bierhaus A, Reiss K, Saftig P und Bianchi ME (2008). A soluble form of the receptor for advanced glycation endproducts (RAGE) is produced by proteolytic cleavage of the membrane-bound form by the sheddase a disintegrin and metalloprotease 10 (ADAM10). *FASEB J* 22: 3716–3727
- Reyes L, Herrera D, Kozarov E, Roldá S und Progulske-Fox A (2013). Periodontal bacterial invasion and infection: contribution to atherosclerotic pathology. *J Periodontol* 84: S30-50
- Reynolds PR, Kasteler SD, Cosio MG, Sturrock A, Huecksteadt T und Hoidal JR (2008). RAGE: developmental expression and positive feedback regulation by Egr-1 during cigarette smoke exposure in pulmonary epithelial cells. *American Journal of Physiology-Lung Cellular and Molecular Physiology* 294: L1094-L1101
- Ridker PM, Hennekens CH, Buring JE und Rifai N (2000). C-reactive protein and other markers of inflammation in the prediction of cardiovascular disease in women. *The New England journal of medicine* 342: 836–843
- Ritthaler U, Deng Y, Zhang Y, Greten J, Abel M, Sido B, Allenberg J, Otto G, Roth H, Bierhaus A, Ziegler R, Schmidt A-M, Waldherr R, Wahl P, Stern DM und Nawroth PP (1995). Expression of Receptors for Advanced Glycation End Products in Peripheral Occlusive Vascular Disease. *The American Journal of Pathology* 146: 688–694
- Roberts R (2008). A customized genetic approach to the number one killer: coronary artery disease. *Current opinion in cardiology* 23: 629–633
- Roggerio A, Strunz CMC, Pacanaro AP, Leal DP, Takada JY, Avakian SD und Mansur AdP (2018). Gene Expression of Sirtuin-1 and Endogenous Secretory Receptor for Advanced Glycation End Products in Healthy and Slightly Overweight Subjects after Caloric Restriction and Resveratrol Administration. *Nutrients* 10
- Ross R (1999). Atherosclerosis--an inflammatory disease. *The New England journal of medicine* 340: 115–126
- Ross R und Glomset JA (1973). Atherosclerosis and the arterial smooth muscle cell: Proliferation of smooth muscle is a key event in the genesis of the lesions of atherosclerosis. *Science (New York, N.Y.)* 180: 1332–1339
- Rotter V, Nagaev I und Smith U (2003). Interleukin-6 (IL-6) induces insulin resistance in 3T3-L1 adipocytes and is, like IL-8 and tumor necrosis factor-alpha, overexpressed in human fat cells from insulin-resistant subjects. *J Biol Chem* 278: 45777–45784
- Sanz M, Ceriello A, Buysschaert M, Chapple I, Demmer RT, Graziani F, Herrera D, Jepsen S, Lione L, Madianos P, Mathur M, Montanya E, Shapira L, Tonetti M und Vegh D (2018). Scientific evidence on the links between periodontal diseases and diabetes: Consensus report and guidelines of the joint workshop on periodontal diseases and diabetes by the International Diabetes Federation and the European Federation of Periodontology. *J Clin Periodontol* 45: 138–149
- Schei O, Waerhaug J, Lovdal A und Arno A (1959). Alveolar Bone Loss as Related to Oral Hygiene and Age. *J Periodontol* 30: 7–16

- Schmidt AM (2015). Soluble RAGEs - Prospects for treating & tracking metabolic and inflammatory disease. *Vascul Pharmacol* 72: 1–8
- Schmidt AM, Weidman E, Lalla E, Yan SD, Hori O, Cao R, Brett JG und Lamster IB (1996). Advanced glycation endproducts (AGEs) induce oxidant stress in the gingiva: a potential mechanism underlying accelerated periodontal disease associated with diabetes. *J Periodontal Res* 31: 508–515
- Selvin E, Halushka MK, Rawlings AM, Hoogeveen RC, Ballantyne CM, Coresh J und Astor BC (2013). sRAGE and risk of diabetes, cardiovascular disease, and death. *Diabetes* 62: 2116–2121
- Shiau HJ und Reynolds MA (2010). Sex differences in destructive periodontal disease: a systematic review. *J Periodontol* 81: 1379–1389
- Shirasawa M, Fujiwara N, Hirabayashi S, Ohno H, Iida J, Makita K und Hata Y (2004). Receptor for advanced glycation end-products is a marker of type I lung alveolar cells. *Genes Cells* 9: 165–174
- Silness J und Løe H (1964). Periodontal disease in pregnancy. II. Correlation between oral hygiene and periodontal condition. *Acta Odontol Scand* 22: 121–135
- Singhal S, Pradeep AR, Kanoriya D und Garg V (2016). Human soluble receptor for advanced glycation end products and tumor necrosis factor- $\alpha$  as gingival crevicular fluid and serum markers of inflammation in chronic periodontitis and type 2 diabetes. *J Oral Sci* 58: 547–553
- Sirois CM, Jin T, Miller AL, Bertheloot D, Nakamura H, Horvath GL, Mian A, Jiang J, Schrum J, Bossaller L, Pelka K, Garbi N, Brewah Y, Tian J, Chang C, Chowdhury PS, Sims GP, Kolbeck R, Coyle AJ, Humbles AA, Xiao TS und Latz E (2013). RAGE is a nucleic acid receptor that promotes inflammatory responses to DNA. *J Exp Med* 210: 2447–2463
- Siwik DA, Pagano PJ und Colucci WS (2001). Oxidative stress regulates collagen synthesis and matrix metalloproteinase activity in cardiac fibroblasts. *Am J Physiol Cell Physiol* 280: C53–60
- Slots J (1979). Subgingival microflora and periodontal disease. *J Clin Periodontol* 6: 351–382
- Smith M, Seymour GJ und Cullinan MP (2010). Histopathological features of chronic and aggressive periodontitis. *Periodontol* 2000 53: 45–54
- Socransky SS und Haffajee AD (1992). The Bacterial Etiology of Destructive Periodontal Disease: Current Concepts. *J Periodontol* 63 Suppl 4S: 322–331
- Socransky SS und Haffajee AD (1994). Evidence of bacterial etiology: a historical perspective. *Periodontol* 2000 5: 7–25
- Socransky SS und Haffajee AD (2002). Dental biofilms: difficult therapeutic targets. *Periodontol* 2000 28: 12–55
- Socransky SS, Haffajee AD, Cugini MA, Smith C und Kent RL (1998). Microbial complexes in subgingival plaque. *J Clin Periodontol* 25: 134–144
- Socransky SS, Haffajee AD, Smith C, Martin L, Haffajee JA, Uzel NG und Goodson JM (2004). Use of checkerboard DNA-DNA hybridization to study complex microbial ecosystems. *Oral Microbiol Immunol* 19: 352–362
- Soro-Paavonen A, Watson AMD, Li J, Paavonen K, Koitka A, Calkin AC, Barit D, Coughlan MT, Drew BG, Lancaster GI, Thomas M, Forbes JM, Nawroth PP, Bierhaus A, Cooper ME und Jandeleit-Dahm KA (2008). Receptor for advanced glycation end products (RAGE) deficiency attenuates the development of atherosclerosis in diabetes. *Diabetes* 57: 2461–2469
- Sorsa T, Tjäderhane L, Konttinen YT, Lauhio A, Salo T, Lee H-M, Golub LM, Brown DL und Mäntylä P (2006). Matrix metalloproteinases: contribution to pathogenesis, diagnosis and treatment of periodontal inflammation. *Ann Med* 38: 306–321

- Steffens JP, Wang X, Starr JR, Spolidorio LC, van Dyke TE und Kantarci A (2015). Associations Between Sex Hormone Levels and Periodontitis in Men: Results From NHANES III. *J Periodontol* 86: 1116–1125
- Taguchi A, Blood DC, del Toro G, Canet A, Lee DC, Qu W, Tanji N, Lu Y, Lalla E, Fu C, Hofmann MA, Kislinger T, Ingram M, Lu A, Tanaka H, Hori O, Ogawa S, Stern DM und Schmidt AM (2000). Blockade of RAGE-amphoterin signalling suppresses tumour growth and metastases. *Nature* 405: 354–360
- Tajfard M, Tavakoly Sany SB, Avan A, Latiff LA, Rahimi HR, Moohebbati M, Hasanzadeh M, Ghazizadeh H, Esmaily H, Doosti H, Taghipour A, Ghayour-Mobarhan M, Ferns GA, Emamian M und Bin Abd Motalib MS (2019). Relationship between serum high sensitivity C-reactive protein with angiographic severity of coronary artery disease and traditional cardiovascular risk factors. *J Cell Physiol* 234: 10289–10299
- Takahashi N und Yamada T (2000). Glucose metabolism by *Prevotella intermedia* and *Prevotella nigrescens*. *Oral Microbiol Immunol* 15: 188–195
- Tan KCB, Shiu SWM, Chow WS, Leng L, Bucala R und Betteridge DJ (2006). Association between serum levels of soluble receptor for advanced glycation end products and circulating advanced glycation end products in type 2 diabetes. *Diabetologia* 49: 2756–2762
- Tang S-C, Wang Y-C, Li Y-I, Lin H-C, Manzanero S, Hsieh Y-H, Phipps S, Hu C-J, Chiou H-Y, Huang Y-S, Yang W-S, Mattson MP, Arumugam TV und Jeng J-S (2013). Functional role of soluble receptor for advanced glycation end products in stroke. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 33: 585–594
- Tangada SD, Califano JV, Nakashima K, Quinn SM, Zhang J-B, Gunsolley JC, Schenkein HA und Tew JG (1997). The Effect of Smoking on Serum IgG2 Reactive With *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in Early-Onset Periodontitis Patients. *J Periodontol* 68: 842–850
- Taylor JJ, Preshaw PM und Lalla E (2013). A review of the evidence for pathogenic mechanisms that may link periodontitis and diabetes. *J Periodontol* 84: S113–34
- Teissier T und Boulanger É (2019). The receptor for advanced glycation end-products (RAGE) is an important pattern recognition receptor (PRR) for inflammaging. *Biogerontology* 20: 279–301
- Teughels W, van Assche N, Sliepen I und Quirynen M (2006). Effect of material characteristics and/or surface topography on biofilm development. *Clin Oral Implants Res* 17 Suppl 2: 68–81
- Thomas MC, Söderlund J, Lehto M, Mäkinen V-P, Moran JL, Cooper ME, Forsblom C und Groop P-H (2011). Soluble receptor for AGE (RAGE) is a novel independent predictor of all-cause and cardiovascular mortality in type 1 diabetes. *Diabetologia* 54: 2669–2677
- Timmerman MF und van der Weijden GA (2006). Risk factors for periodontitis. *Int J Dent Hyg* 4: 2–7
- Tipton DA und Dabbous MK (1995). Effects of Nicotine on Proliferation and Extracellular Matrix Production of Human Gingival Fibroblasts In Vitro. *J Periodontol* 66: 1056–1064
- Tonetti MS und Claffey N (2005). Advances in the progression of periodontitis and proposal of definitions of a periodontitis case and disease progression for use in risk factor research. Group C consensus report of the 5th European Workshop in Periodontology. *J Clin Periodontol* 32 Suppl 6: 210–213
- Tsai C, Hayes C und Taylor GW (2002). Glycemic control of type 2 diabetes and severe periodontal disease in the US adult population. *Community Dent Oral Epidemiol* 30: 182–192
- Uribarri J, del Castillo MD, La Maza MP de, Filip R, Gugliucci A, Luevano-Contreras C, Macías-Cervantes MH, Markowicz Bastos DH, Medrano A, Menini T, Portero-Otin M, Rojas A, Sampaio

- GR, Wrobel K, Wrobel K und Garay-Sevilla ME (2015). Dietary Advanced Glycation End Products and Their Role in Health and Disease. *Adv Nutr* 6: 461–473
- Uthoff H, Staub D, Socrates T, Meyerhans A, Bundi B, Schmid HP und Frauchiger B (2010). PROCAM-, FRAMINGHAM-, SCORE- and SMART-risk score for predicting cardiovascular morbidity and mortality in patients with overt atherosclerosis. *Vasa* 39: 325–333
- Vanhoutte PM, Shimokawa H, Feletou M und Tang EHC (2017). Endothelial dysfunction and vascular disease - a 30th anniversary update. *Acta Physiol (Oxf)* 219: 22–96
- Voloshyna I, Littlefield MJ und Reiss AB (2014). Atherosclerosis and interferon- $\gamma$ : New insights and therapeutic targets. *Trends Cardiovasc Med* 24
- Wang X, Xu T, Mungun D, Zhou C, Zha Z, Lu M, Fen C und Guo Y (2019). The Relationship between Plasma Soluble Receptor for Advanced Glycation End Products and Coronary Artery Disease. *Dis Markers* 2019
- Wautier MP, Chappey O, Corda S, Stern DM, Schmidt AM und Wautier JL (2001). Activation of NADPH oxidase by AGE links oxidant stress to altered gene expression via RAGE. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 280: E685-94
- Weng J, Chen Z, Li J, He Q, Chen D, Yang L, Su H, Huang J, Yu S, Huang Q, Xu Q und Guo X (2021). Advanced glycation end products induce endothelial hyperpermeability via  $\beta$ -catenin phosphorylation and subsequent up-regulation of ADAM10. *J Cell Mol Med* 25: 7746–7759
- Willerson JT und Ridker PM (2004). Inflammation as a cardiovascular risk factor. *Circulation* 109: II2-10
- Williams MC, Kwiecinski J, Doris M, McElhinney P, D'Souza MS, Cadet S, Adamson PD, Moss AJ, Alam S, Hunter A, Shah ASV, Mills NL, Pawade T, Wang C, Weir McCall J, Bonnici-Mallia M, Murrills C, Roditi G, van Beek EJ, Shaw LJ, Nicol ED, Berman DS, Slomka PJ, Newby DE, Dweck MR und Dey D (2020). Low-Attenuation Noncalcified Plaque on Coronary Computed Tomography Angiography Predicts Myocardial Infarction: Results From the Multicenter SCOT-HEART Trial (Scottish Computed Tomography of the HEART). *Circulation* 141: 1452–1462
- Wilson M, Reddi K und Henderson B (1996). Cytokine-inducing components of periodontopathogenic bacteria. *J Periodontal Res* 31: 393–407
- Windaus A (1910). Über den Gehalt normaler und atheromatöser Aorten an Cholesterin und Cholesterinestern
- Wittwer C, Lehner J, Fersching D, Siegele B, Stoetzer OJ und Holdenrieder S (2012). Methodological and preanalytical evaluation of a RAGE immunoassay. *Anticancer Res* 32: 2075–2078
- Wu F, Afanasyeva Y, Zeleniuch-Jacquotte A, Zhang J, Schmidt AM und Chen Y (2018). Temporal reliability of serum soluble and endogenous secretory receptors for advanced glycation end-products (sRAGE and esRAGE) in healthy women. *Cancer Causes Control* 29: 901–905
- Wu M, Chen S-W und Jiang S-Y (2015a). Relationship between gingival inflammation and pregnancy. *Mediators Inflamm* 2015: 623427
- Wu T-L, Tsai C-C, Wang Y-Y, Ho K-Y, Wu Y-M, Hung H-C und Lin Y-C (2015b). The association between the RAGE G82S polymorphism, sRAGE and chronic periodontitis in Taiwanese individuals with and without diabetes. *J Periodontal Res* 50: 881–889
- Xie J, Reverdatto S, Frolov A, Hoffmann R, Burz DS und Shekhtman A (2008). Structural basis for pattern recognition by the receptor for advanced glycation end products (RAGE). *J Biol Chem* 283: 27255–27269
- Ximénez-Fyvie LA, Haffajee AD und Socransky SS (2000). Comparison of the microbiota of supra- and subgingival plaque in health and periodontitis. *J Clin Periodontol* 27: 648–657

- Xu S, Song M, Xiong Y, Liu X, He Y und Qin Z (2017). The association between periodontal disease and the risk of myocardial infarction: a pooled analysis of observational studies. *BMC Cardiovasc Disord* 17: 50
- Yamamoto M und Aizawa R (2021). Maintaining a protective state for human periodontal tissue. *Periodontol* 2000 86: 142–156
- Yan SD, Chen X, Fu J, Chen M, Zhu H, Roher A, Slattery T, Zhao L, Nagashima M, Morser J, Migheli A, Nawroth P, Stern D und Schmidt AM (1996). RAGE and amyloid-beta peptide neurotoxicity in Alzheimer's disease. *Nature* 382: 685–691
- Yan SD, Schmidt AM, Anderson GM, Zhang J, Brett J, Zou YS, Pinsky D und Stern D (1994). Enhanced cellular oxidant stress by the interaction of advanced glycation end products with their receptors/binding proteins. *J Biol Chem* 269: 9889–9897
- Yonekura H, Yamamoto Y, Sakurai S, Petrova RG, Abedin MJ, Li H, Yasui K, Takeuchi M, Makita Z, Takasawa S, Okamoto H, Watanabe T und Yamamoto H (2003). Novel splice variants of the receptor for advanced glycation end-products expressed in human vascular endothelial cells and pericytes, and their putative roles in diabetes-induced vascular injury. *Biochem J* 370: 1097–1109
- Yu S, Li H, Ma Y und Fu Y (2012). Matrix metalloproteinase-1 of gingival fibroblasts influenced by advanced glycation end products (AGEs) and their association with receptor for AGEs and nuclear factor- $\kappa$ B in gingival connective tissue. *J Periodontol* 83: 119–126
- Zhang F, Banker G, Liu X, Suwanabol PA, Lengfeld J, Yamanouchi D, Kent KC und Liu B (2011). The novel function of advanced glycation end products in regulation of MMP-9 production. *J Surg Res* 171: 871–876
- Zhang L, Bukulin M, Kojro E, Roth A, Metz VV, Fahrenholz F, Nawroth PP, Bierhaus A und Postina R (2008). Receptor for advanced glycation end products is subjected to protein ectodomain shedding by metalloproteinases. *J Biol Chem* 283: 35507–35516
- Zhou X, Gao X-P, Fan J, Liu Q, Anwar KN, Frey RS und Malik AB (2005). LPS activation of Toll-like receptor 4 signals CD11b/CD18 expression in neutrophils. *American Journal of Physiology-Lung Cellular and Molecular Physiology* 288: L655-62
- Zhou X, Lin N, Zhang M, Wang X, An Y, Su Q, Du P, Li B und Chen H (2020). Circulating soluble receptor for advanced glycation end products and other factors in type 2 diabetes patients with colorectal cancer. *BMC Endocr Disord* 20
- Zieman S und Kass D (2004). Advanced glycation end product cross-linking: pathophysiologic role and therapeutic target in cardiovascular disease. *Congest Heart Fail* 10: 144-9; quiz 150-1
- Zong H, Madden A, Ward M, Mooney MH, Elliott CT und Stitt AW (2010). Homodimerization is essential for the receptor for advanced glycation end products (RAGE)-mediated signal transduction. *J Biol Chem* 285: 23137–23146

## 8 Thesen

1. Parodontitis und koronare Herzerkrankung (KHK) sind entzündliche Erkrankungen multifaktorieller Genese. In vielen epidemiologischen Studien konnte gezeigt werden, dass Parodontitis ein potenzieller Risikofaktor für KHK ist. Der kausale Zusammenhang zwischen beiden Erkrankungen ist bis heute nicht vollständig geklärt.
2. Der proinflammatorische Receptor for Advanced Glycation Endproducts (RAGE) spielt eine Rolle in der Pathogenese multipler chronisch-entzündlicher Krankheitsbilder und könnte eine Schnittstelle zwischen kardiovaskulären und parodontalen Erkrankungen darstellen. Er führt sowohl in Fibroblasten als auch im atherosklerotischen Milieu über die Aktivierung von NF- $\kappa$ B zu einer verstärkten Expression inflammatorischer Proteine.
3. Das lösliche soluble RAGE (sRAGE) kann die Interaktion von RAGE mit seinen Bindungspartnern unter anderem über kompetitive Hemmung und die Modifikation von RAGE-Liganden unterbinden. Aus diesem Grund wird ihm eine protektive Wirkung zugeschrieben. sRAGE könnte somit ein wertvoller Prädiktor für Parodontitis sowie rekurrende kardiovaskuläre Ereignisse sein.
4. Ziel dieser Arbeit war es erstmalig, die Assoziation von sRAGE zum kardiovaskulären Outcome und zum parodontalen Schweregrad unter Patienten mit etablierter KHK zu untersuchen. Zudem wurden auch gemeinsame Risikofaktoren der Parodontitis und KHK berücksichtigt und ihr Zusammenhang zum sRAGE-Niveau betrachtet.
5. Die sRAGE-Konzentration war invers zur Prävalenz einer gleichzeitig bestehenden schweren Parodontitis assoziiert. Nach binärer logistischer Regression unter Einbeziehung etablierter parodontaler Kofaktoren waren höhere sRAGE-Spiegel (Quartil 4) mit einer signifikant verminderten adjustierten Odds Ratio (OR = 0,53;  $p = 0,002$ ) für schwere Parodontitis verbunden. Dies untermauert die Theorie, dass hohe sRAGE-Werte eine protektive, anti-inflammatorische Wirkung besitzen.
6. Patienten, bei denen Bakterien des roten Komplexes (*P.gingivalis*, *T. forsythia*, *T. denticola*) sowie das Bakterium *Eikenella corrodens* aus dem grünen Komplex nachgewiesen werden konnten, zeigten signifikant niedrigere sRAGE-Niveaus. Da vor allem die Vertreter des roten Komplexes ein hohes pathogenes Potenzial besitzen, stützt dieses Ergebnis die These von niedrigen sRAGE-Konzentrationen als Risikoindikator für schwere Parodontitis.
7. Demgegenüber wiesen Probanden, die den kombinierten Endpunkt (Herzinfarkt, kardialer Tod, Schlaganfall/TIA, Tod infolge Schlaganfalls) im Follow-Up-Zeitraum erreicht hatten, signifikant höhere sRAGE-Spiegel auf. Das Ergebnis blieb auch im multivariaten Vergleich unter Einbeziehung etablierter kardiovaskulärer Risikofaktoren signifikant (Quartil 4, HR =



1,67;  $p = 0,031$ ). Dies lässt den Schluss zu, dass hohe sRAGE-Level ein potenzieller, unabhängiger Risikoindikator für das kardiovaskuläre Outcome unter Patienten mit KHK-Vorbelastung sein können.

8. Die gedachte Assoziation von Parodontitis und KHK über den potenziellen Mediator sRAGE konnte in unserer Studie nicht bestätigt werden. Beide Erkrankungen zeigten vielmehr entgegengesetzte Assoziationen zur Konzentration des löslichen Rezeptors. Verschiedene pathophysiologische Konzepte könnten dieses Phänomen erklären. So ist einerseits eine Hemmung der durch RAGE ausgelösten Entzündungsreaktion denkbar. Andererseits könnte sRAGE jedoch auch durch eine Überstimulation von RAGE ansteigen, wodurch hohe sRAGE-Level einen chronisch-inflammatorischen Zustand widerspiegeln würden.
9. Die Höhe der sRAGE-Konzentration ist von multiplen Einflussfaktoren abhängig. In unserer Studie zeigten Patienten mit Diabetes mellitus signifikant höhere Werte des Rezeptors ( $p = 0,001$ ), wohingegen Raucher signifikant niedrigere Spiegel aufwiesen ( $p = 0,045$ ). Daneben können auch Ethnie, Stoffwechsellage, verschiedene Erkrankungen (z.B. Niereninsuffizienz) und bestimmte Medikamente das sRAGE-Niveau beeinflussen. Dies erschwert die Vergleichbarkeit der Rezeptorkonzentrationen zwischen verschiedenen Studienpopulationen.

## **Anhang**

### Wissenschaftliche Preise

2. Platz DG PARO Meridol®-Preis 2018: Reichert S, Triebert U, Navarrete Santos A, Hofmann B, Schaller H-G, Schlitt A, Schulz S: Soluble form of receptor for advanced glycation end products and incidence of new cardiovascular events among patients with cardiovascular disease. 10.11.2018, Frankfurt am Main

3. Platz Young Scientists in Dentistry 2022: Triebert U, Reichert S, Schulz S, Hofmann B, Navarrete Santos A, Schaller H-G, Schlitt A: sRAGE - Assoziation zum Schweregrad der Parodontitis und zur Inzidenz neuer kardiovaskulärer Ereignisse, 17.06.22, Leipzig

### Publikation dieser Arbeit

Reichert S, Triebert U, Navarrete Santos A, Hofmann B, Schaller H-G, Schlitt A, Schulz S (2017). Soluble form of receptor for advanced glycation end products and incidence of new cardiovascular events among patients with cardiovascular disease. *Atherosclerosis* 266: 234-239

### Posterpräsentation

Triebert U, Reichert S, Schulz S, Hofmann B, Navarrete Santos A, Schaller H-G, Schlitt A: Assoziation des sRAGE-Serumspiegels zum Schweregrad der Parodontitis und zur Inzidenz neuer kardiovaskulärer Ereignisse unter stationären Patienten mit koronarer Herzerkrankung (KHK). 4. Forschungstag der Medizinischen Fakultät der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg, 11.11.2016, Halle (Saale)

## **Erklärungen**

(1) Ich erkläre, dass ich mich an keiner anderen Hochschule einem Promotionsverfahren unterzogen bzw. eine Promotion begonnen habe.

(2) Ich erkläre, die Angaben wahrheitsgemäß gemacht und die wissenschaftliche Arbeit an keiner anderen wissenschaftlichen Einrichtung zur Erlangung eines akademischen Grades eingereicht zu haben.

(3) Ich erkläre an Eides statt, dass ich die Arbeit selbstständig und ohne fremde Hilfe verfasst habe. Alle Regeln der guten wissenschaftlichen Praxis wurden eingehalten; es wurden keine anderen als die von mir angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt und die den benutzten Werken wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen als solche kenntlich gemacht.

17.06.22

## **Danksagung**

Mein herzlichster Dank gilt Herrn apl. Prof. Dr. med. dent. Stefan Reichert für die Überlassung des Themas sowie seine hervorragende Betreuung während aller Phasen dieser Arbeit. Seine hilfreichen Ratschläge und sein unermüdliches Engagement haben maßgeblich zum Gelingen dieser Dissertation beigetragen.

Daneben bedanke ich mich vielmals bei Herrn Dr. Alexander Navarrete Santos für die ausführliche Einarbeitung in die Abläufe der biochemischen Messverfahren und die intensive Betreuung während der Aufbereitung der Daten.

Frau apl. Prof. Dr. rer. nat., rer. medic. habil. Susanne Schulz danke ich für ihre Hilfe bei der Beschaffung der Plasmaproben sowie ihre freundliche Unterstützung bei der Vorbereitung zum Young Scientists in Dentistry-Wettbewerb.

Herrn Univ.-Prof. Dr. med. dent. Hans-Günter Schaller danke ich für die Möglichkeit, an der Universitätspoliklinik für Zahnerhaltungskunde und Parodontologie der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg promovieren zu dürfen.

Ein großer Dank gilt zudem meiner Familie. Meiner Mutter danke ich für ihre uneingeschränkte, liebevolle und vielseitige Unterstützung während meines Studiums, ohne die diese Arbeit so nicht möglich gewesen wäre. Meinem Vater möchte ich für seine unglaublich wertvolle Hilfe bei der Korrektur dieser Arbeit danken.

Zuletzt und doch zuerst möchte ich meinem Verlobten Philipp danken, der mir den nötigen Freiraum und Rückhalt für die Fertigstellung dieser Arbeit gegeben hat. Durch sein offenes Ohr und geduldiges Zuhören konnte ich auch in schwierigen Phasen wieder Motivation finden.