

Aus der Klinik für Mund-, Kiefer- und Gesichtschirurgie
Bereich Oralmedizin, zahnärztliche Röntgenologie
und Chirurgie
der Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

**Pilotstudie zum Einfluss von Simvastatin auf die
Konzentration von Interleukin-6, Interleukin-8,
Vascular Endothelial Growth Factor
und Matrix Metalloproteinase-9
im Sulkusfluid bei chronischer Parodontitis**

zur Erlangung des akademischen Grades
Doctor medicinae dentariae (Dr. med. dent.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Simon Meißner

aus Hamburg

Datum der Promotion: 23.06.2013

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	4
1.1	Einführung	4
1.2	Fragestellung	6
2	Grundlagen und Literaturübersicht	7
2.1	Parodontitis	7
2.1.1	Ätiologie und Pathogenese der Gingivitis und Parodontitis	7
2.1.2	Einteilung der Parodontitis	11
2.1.3	Die chronische Parodontitis	12
2.1.4	Epidemiologie der chronischen Parodontitis	13
2.2	Zytokine in Assoziation mit chronischer Parodontitis und chronischer Entzündung	16
2.2.1	Interleukin 1 (IL-1)	17
2.2.2	Interleukin 6 (IL-6)	17
2.2.3	Interleukin 8 (IL-8)	18
2.2.4	Tumornekrosefaktor alpha (TNF- α)	18
2.2.5	Prostaglandin (PGE ₂)	19
2.2.6	Matrix Metalloproteinase 8 (MMP-8)	19
2.2.7	Matrix Metalloproteinase 9 (MMP-9)	20
2.2.8	Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF)	20
2.3	Sulkusfluid	21
2.3.1	Periotron [®] 8000	22
2.4	HmG-Co A Reduktaseinhibitoren	24
2.4.1	Pleiotrope Effekte von Simvastatin	25
2.4.2	Einfluss von Simvastatin auf bestimmte Zytokine	27
3	Material und Methode	33
3.1	Probanden	33
3.2	Ein- und Ausschlusskriterien	33
3.3	Ethik	34
3.4	Studiendesign	34
3.5	Dokumentation	35
3.5.1	Erhebungsbogen	35
3.5.2	Befundbogen	37
3.6	Vorbehandlung	41
3.7	Gewinnung der gingivalen Sulkusflüssigkeit	41
3.8	Immunoassays	43
3.8.1	Quantikine [®] Human IL-6 / CXCL8/IL-8 Immunoassays	43
3.8.2	Quantikine [®] Human VEGF / MMP-9 Immunoassays	49
3.9	Auswertung der Klinischen Parameter	53
3.10	Statistik	54

4	Ergebnisse	55
4.1	Allgemeine Anamnese der Patienten	55
4.2	Statineinnahme und Einnahmezeitraum	57
4.3	Gingiva- und Parodontal-Indices	58
4.3.1	Letzte Parodontitis-Therapie, PZR in Monaten und Erstmanifestation der Parodontitis in Jahren	58
4.3.2	Plaque Index und Gingiva Index nach Sillness und Loe	59
4.3.3	Bleeding on Probing (BOP)	60
4.3.4	Parodontal Index	62
4.4	Quantifizierung der entnommenen Sulkusflüssigkeit mit dem Periotron® 8000	64
4.5	Interleukin-6- und Interleukin-8 Konzentrationen im Sulkusfluid	66
4.5.1	IL-6- und IL-8 Konzentrationen an den Zähnen 16 und 26	66
4.5.2	Gesamt-Messungen von IL-6 und IL-8 im Vergleich mit der gesunden Kontrolle	67
4.6	VEGF und MMP-9 Konzentrationen im Sulkusfluid	69
4.6.1	VEGF und MMP-9 Konzentrationen an den Zähnen 16 und 26	69
4.6.2	VEGF und MMP-9 Gesamt-Messungen im Vergleich mit der gesunden Kontrolle und weitere Messwerte	70
5	Diskussion	74
5.1	Material und Methoden	74
5.1.1	Studiendesign	74
5.1.2	Probanden	75
5.2	Klinische Ergebnisse	76
6	Schlussfolgerung	86
7	Zusammenfassung	87
7.1	Einführung	87
7.2	Methoden	87
7.3	Ergebnisse	88
7.4	Diskussion	88
8	Summary	90
9	Tabellen und Abbildungen	92
10	Abkürzungen	94
11	Literaturverzeichnis	95
12	Danksagung	106
13	Lebenslauf	107
14	Publikationen	108
15	Erklärung	109

1 Einleitung

1.1 Einführung

Die chronische Parodontitis ist eine mit zunehmendem Lebensalter auftretende Erkrankung des Zahnhalteapparats, die zu 87% in der Bevölkerung ab einem Lebensalter von 65 Jahren vorkommt und zu einem Verlust von parodontalem Attachment und Knochen führt sowie zu Zahnlockerung und Zahnverlust führen kann. Ursächlich sind parodontal-pathogene Bakterien, die eine Abwehrreaktion des Wirts hervorrufen, die dann zur Destruktion des zahnumgebenden Gewebes führen kann. Die intraindividuelle Abwehrreaktion auf zellulärer und immunologischer-biochemischer Ebene ist von mehreren Faktoren abhängig. Mundhygiene, Bakterienzusammensetzung, genetische Disposition, Immunantwort, allgemeinmedizinischer Gesundheitszustand und Lebensgewohnheiten spielen eine wichtige beeinflussende Rolle (Brauckhoff et al. 2009). Zytokine und Matrixmetalloproteinasen vermitteln und steuern die destruierende Abwehrreaktion und können bei akuter und chronischer parodontaler Entzündung vermehrt in der parodontalen Sulkusflüssigkeit nachgewiesen werden (Page et al. 1997).

Simvastatin, ein HmG-Co A Reduktaseinhibitor wird an sechzehnter Stelle der Medikamenten-Verordnungshäufigkeit in Deutschland geführt (Klose und Schwabe 2008). 47% der älteren GKV-Versicherten in Deutschland nehmen ein Statin ein (Nordheim et al. 2005). Die sogenannten Statine werden bei Störungen des Fettstoffwechsels und zur Vorbeugung von Herz-Kreislaufkrankungen bei Risikogruppen besonders im fortgeschrittenen Lebensalter zur Senkung des Cholesterinspiegels verschrieben. Neben dieser Eigenschaft verfügt Simvastatin noch über sogenannte pleiotrope Effekte, die in Studien einen positiven Einfluss auf Entzündungen gezeigt haben. Entzündungsmediatoren wie Interleukin 6 (IL-6), Interleukin 8 (IL-8) und Matrixmetalloproteinase 9 (MMP-9) wurden *in vitro* und *in vivo* (im Tierversuch) signifikant durch Simvastatin gesenkt (Sakoda et al. 2006; Thunyakitpisal und Chaisuparat 2004). Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) steigert die Gefäßproliferation und wurde *in vitro* und *in vivo* (im Tierversuch) signifikant durch Simvastatin erhöht (Kureishi et al. 2000; Takenaka et al. 2003). Da die pathogenen Zytokine und MMPs der chronischen Parodontitis durch Simvastatin beeinflusst werden, könnte ein Zusammenhang darin bestehen, dass Simvas-

tatin die Expression von Entzündungsmarkern verändert und eine Progression der chronischen Parodontitis vermindert.

1.2 Fragestellung

Hat die Einnahme von Simvastatin bei Patienten, die an chronischer Parodontitis erkrankt sind und sich im fortgeschrittenen Lebensalter befinden, einen nachweisbar positiven Effekt auf die Konzentration von Entzündungsmediatoren im Sulkusfluid, die bei der spezifischen Entzündungsreaktion einer chronischen Parodontitis zu finden sind?

2 Grundlagen und Literaturübersicht

2.1 Parodontitis

2.1.1 Ätiologie und Pathogenese der Gingivitis und Parodontitis

2.1.1.1 *Gingivitis*

Die Gingivitis ist eine reversible Entzündung der marginalen Gingiva (Loe et al. 1965), aufgrund der Ansammlung von mikrobieller Plaque, die sich am oder in der Nähe des gingivalen Sulkus befindet (Page 1986).

Die chronische marginale Gingivitis ist in ihrem klinischen Erscheinungsbild charakterisiert durch Rötung, Ödem, Blutung, Veränderung des Aussehens der Oberfläche, dem Verlust von am Zahn adaptierter Gingiva und einer erhöhten Fließrate von gingivalem Sulkusfluid (Cimasoni 1983; Greenstein 1984).

Durch das Belassen der Plaque und deren zeitlicher Zunahme steigt neben der gesamten Keimzahl der Anteil gram-negativer Bakterien von etwa 15% der Gesamtflora an gesunden Stellen (Tanner et al. 1996) auf etwa 50% bei etablierter Gingivitis an (Theilade et al. 1966). In Studien zu experimentell ausgelöster Gingivitis konnte gezeigt werden, dass die klinischen Symptome der gingivalen Entzündung vollständig reversibel sind, wenn eine entsprechende Mundhygiene wieder aufgenommen wird (Loe et al. 1965; Theilade et al. 1966). Gingivale Taschen entwickeln sich aufgrund von bakterieller Plaque, die sich auf der Wurzeloberfläche weiter nach apikal ausbreitet (Page und Schroeder 1982).

Hat sich ein Attachment-Verlust und damit eine gingivale Tasche etabliert, ist auch durch die Wiederaufnahme und Intensivierung der Mundhygiene, keine vollständige Rückbildung der Tasche und die Remission zu frühen Stadien der Erkrankung möglich (Page und Schroeder 1976). Der Wandel von einer gingivalen- zu einer parodontalen Tasche scheint in Verbindung mit einer temporär insuffizienten Wirtsabwehr zu erfolgen (Schroeder und Attstrom 1979). Man beobachtete, dass bei Männern, die das 60. Lebensjahr erreichen, Bereiche der Gingiva, die über einen Untersuchungszeitraum von 26 Jahren immer auf Sondierung geblutet haben (Gingivaindex $GI > 1$ (Loe und Silness 1963)), zu 70% mehr Attachment-Verlust zeigten als Stellen, die konstant entzündungs-

frei waren. Damit konnte gezeigt werden, dass eine chronische Gingivitis ein signifikant höheres Risiko für einen größeren Attachment-Verlust im Vergleich mit gesunder Gingiva darstellt. Der Gingivitis fällt eine Schlüsselrolle als Voraussetzung für eine entstehende Parodontitis zu (Schatzle et al. 2003).

2.1.1.2 Parodontitis

Die Parodontitis unterscheidet sich klinisch von der Gingivitis durch den Verlust von mit dem Zahn verbundener Gingiva und gleichzeitiger gingivaler Entzündung (Listgarten 1986). Es entsteht ein Verlust von desmodontalem Ligament und dessen Verankerung im Wurzelzement, sowie ein Abbau von alveolärem Knochen (Page und Schroeder 1982). Klinische Beschreibungsversuche der Entzündungsaktivität einer Parodontitis reichen von einer kontinuierlichen Progression der Erkrankung, wobei der Attachment-Verlust sehr langsam über einen längeren Zeitraum verteilt stattfindet, bis zu einem episodischen Burst-Modell, bei dem der Attachment-Verlust während kurzer Phasen der Krankheitsaktivität stattfindet (Jeffcoat und Reddy 1991; Listgarten 1986; Reddy und Jeffcoat 1993). Es gilt als gesichert, dass die Entstehung und die Progression einer Parodontitis mit der Anwesenheit von Bakterien in der parodontalen Tasche verbunden sind. Es wurden bis zu 300 verschiedene Bakterienarten aus parodontalen Taschen isoliert, wobei nur einige dieser Gruppe als parodontal-pathogene Bakterien gelten (Moore und Moore 1994). Drei charakteristische Eigenschaften von Bakterien sind als pathogen identifiziert worden: die Eigenschaft Kolonien bilden zu können, die Eigenschaft der Wirtsabwehr ausweichen zu können und die Eigenschaft Substanzen, die direkt eine Gewebsdestruktion im Parodont auslösen, produzieren zu können (Haffajee und Socransky 1994; Zambon 1996). Unterschiedlich zusammengesetzte Komplexe von parodontal-pathogenen Keimen sind durch Studien identifiziert worden, wobei einige Komplexe besonders mit der Zunahme der Erkrankung assoziiert sind. An aktiven Taschen mit chronischer Parodontitis konnten mehr Bakterien des roten Komplexes (*T. forsythia*, *P. gingivalis*, *T. denticola*) als an nichterkrankten Stellen nachgewiesen werden (Socransky et al. 1998).

Virulente Organismen können Anhänge wie Fimbrien oder Moleküle wie Adhesine exprimieren, welche die Anhaftung am Gewebe oder anderen Bakterien ermöglichen

(Hamada et al. 1994; Wilson und Henderson 1995). Die Virulenz der Bakterien kann auch durch die Anwesenheit von kapsulären Polysacchariden verstärkt werden, wie z.B. bei *Porphyromonas gingivalis*, welche bei Bakterien eine gewisse Resistenz gegen bestimmte Anteile der Wirtsabwehr wie Antikörper und Komplementfaktoren verursachen. Einige Bakterien wie z.B. *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* und *P. gingivalis* sind in der Lage durch bzw. in das Wirtsgewebe eindringen zu können, um dadurch eine für sie abgeschlossene, geschützte Umgebung im Gewebe zu schaffen, von der aus sie weitere empfindliche Gewebeabschnitte erreichen können (Fives-Taylor et al. 1995). Eine wichtige Eigenschaft aller pathogenen Mikroorganismen ist die Fähigkeit, die Abwehrmechanismen des Wirtes zu umgehen und somit die erste Barriere der Kontrolle und Abwehr einer bakteriellen Infektion zu überwinden. Eine der ersten Maßnahmen der körpereigenen Abwehr ist die Beseitigung von Bakterien durch neutrophile Granulozyten mit Hilfe von Antikörpern und dem Komplementsystem (Hart et al. 1994; Miyasaki 1991).

Das Immunsystem unterstützt die neutrophilen Granulozyten mit der Bildung von Antikörpern, die Bakterien allein opsonieren können oder in Verbindung mit dem Komplementsystem den neutrophilen Granulozyten bei der Erkennung und Beseitigung von Bakterien helfen können. Das lokale Reservoir für die Antikörper ist das Sulkusfluid, ein modifiziertes entzündliches Exsudat, welches durch das Verbindungsepithel im Parodontium und das Saumepithel in den gingivalen Sulkus oder die parodontale Tasche nach coronal fließt. Das Sulkusfluid enthält unter vielen anderen Molekülen Serumkomponenten wie Antikörper (Ebersole 1990), lokal produzierte Antikörper und andere Substanzen (Tew et al. 1985), wie Bestandteile von neutrophilen Granulozyten (Lamster 1992; Lamster und Novak 1992), die lokale Entzündungs- und Immunabwehrprozesse widerspiegeln. Bakterienstämme von *A. actinomycetemcomitans* und *Campylobacter rectus* produzieren Leukotoxine, die neutrophile Granulozyten direkt abtöten und dadurch die primäre antibakterielle Abwehr im gingivalen Sulkus unterbrechen können (Gillespie et al. 1993; Tsai et al. 1979). *P. gingivalis* ist in der Lage, ein proteolytisches Enzym zu produzieren, das direkt Antikörper und Komplementfaktoren der Immunabwehr im umliegenden Serum und der gingivalen Sulkusflüssigkeit spaltet und inaktivieren oder deren Adhäsion an bakterielle Oberflächen verhindern kann (Cutler et al. 1993; Schenkein 1989). Diese Eigenschaft der parodontal-pathogenen Bakterien

verhindert die komplement-induzierte Aktivierung von Chemokinen, welche für eine zusätzliche Migration von neutrophilen Granulozyten in das Entzündungsgebiet führen würde. Zusätzlich wird dadurch die Phagozytose der proteolytischen Bakterien und von anderen ihnen verwandten Keimen unterdrückt. Bakterien wie *A. actinomycetemcomitans* können Faktoren produzieren, die die Immunantwort gegen sie selbst und gegen andere Bakterien inhibieren (Shenker et al. 1982; Shenker et al. 1990), wobei sie zusätzlich die Produktion von anderweitig schützenden Antikörpern vermindern. *P. gingivalis* ist selbst in der Lage Enzyme zu produzieren, wie Proteasen, Collagenasen, Fibrinolytin, Phospholipase A, die direkt das umgebende Weichgewebe des Parodonts abbauen können. Zusätzlich produziert das Bakterium H_2S , NH_3 und Fettsäuren, die für die umliegenden Zellen toxisch sein können (Birkedal-Hansen et al. 1988; Holt und Bramanti 1991; Robertson et al. 1982; Singer und Buckner 1981). Vom Bakterium produziertes und an der Oberfläche präsentiertes Lipopolysaccharid kann Knochenabbau *in vitro* induzieren (Hausmann et al. 1970).

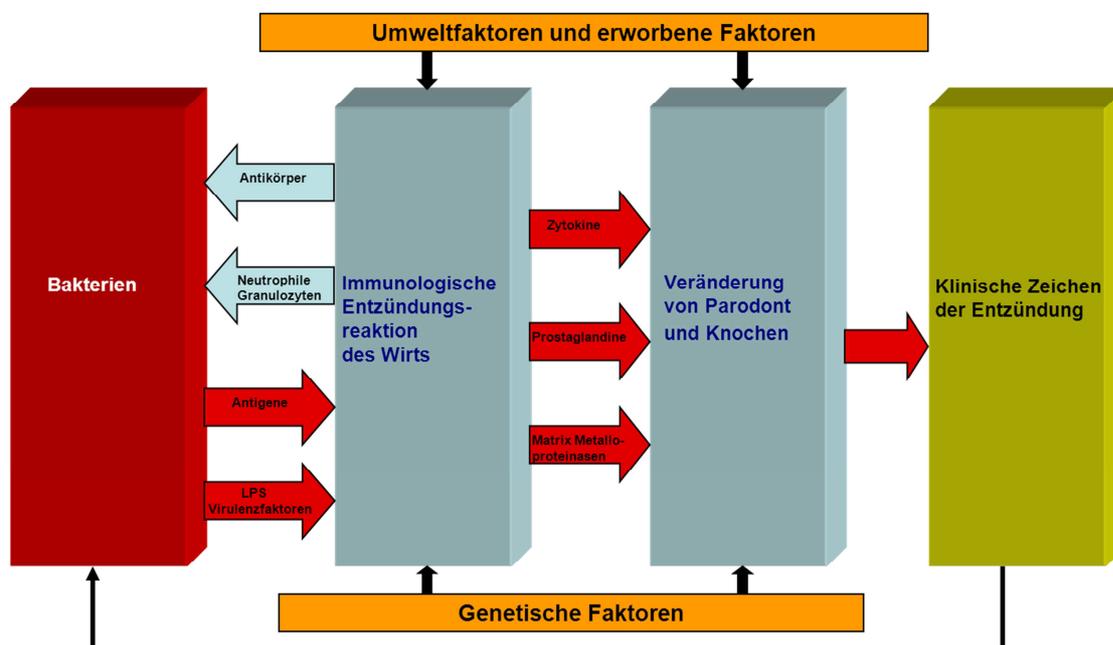


Abb. 1: **Modifiziertes Modell der Ätiopathogenese nach Page und Kornman (Page und Kornman 1997).**

Haben die Bakterien das schützende Parodont überwunden und virulent infiltriert, werden eine Reihe von destruktiven Mechanismen der Wirtsabwehr auf das Parodontalge-

webe initiiert. Neutrophile Granulozyten können auch das eigene Parodontalgewebe schädigen. Während der Degranulation und der Phagozytose schütten diese Zellen Enzyme aus, die das umgebende Wirtsgewebe abbauen, vorwiegend Kollagen und Bestandteile der Basalmembran, die Teile des parodontalen Weichgewebes darstellen. Weiter sind aktivierte Monozyten, Lymphozyten, Fibroblasten und andere Wirtszellen an der Gewebedestruktion beteiligt. Bakteriell exprimierte Lipopolysaccharide (LPS) stimulieren die Produktion von Zytokinen und inflammatorischen Botenstoffen, dazu zählen Arachidonsäure- Metaboliten wie Prostaglandin E₂. Diese Zytokine und Entzündungsmediatoren veranlassen die Ausschüttung von Enzymen im Gewebe, den Matrixmetalloproteinasen, die abbauend auf die extrazellulären Gewebsabschnitte und den umgebenden Knochen wirken (Birkedal-Hansen 1993; Offenbacher 1996; Page et al. 1997; Schenkein 1999) (siehe Abb.1) (Page und Kornman 1997).

2.1.2 Einteilung der Parodontitis

Die gebräuchlichste Einteilung der Parodontitis ist die der American Academy of Periodontology (AAP) seit ihrem 1999 abgehaltenen „International Workshop for Classification of Periodontal Diseases and Conditions“. Die neue Klassifikation führte zu der Einführung von gingivalen Erkrankungen (Armitage 1999).

Einteilung nach Armitage, AAP 1999:

- I. Gingivitis
 - A. Plaque induzierte
 - B. Nicht-Plaque induzierte
- II. Chronische Parodontitis
 - A. Lokalisierte (<30% der Parodontien)
 - B. Generalisierte (>30% der Parodontien)
- III. Aggressive Parodontitis
 - A. Lokalisierte (<30% der Parodontien)
 - B. Generalisierte (>30% der Parodontien)
- IV. Parodontale Manifestation systemischer Erkrankungen

- V. Nekrotisierende parodontale Erkrankungen
- VI. Abszesse des Parodonts
- VII. Parodontitis, die mit einer endodontischen Läsion assoziiert ist
(Paro-Endoläsion)
- VIII. Entwickelte oder erworbene Veränderungen und Bedingungen

Die Schweregrade der Einteilung II. + III. nach Armitage, werden in leicht (1-2 mm Attachment-Verlust), mittel (3-4 mm Attachment-Verlust) und schwer (≥ 5 mm Attachment-Verlust) unterteilt.

Man bezeichnet die Parodontitis als lokalisiert, wenn 30 Prozent oder weniger Stellen betroffen sind.

Bei einer generalisierten Parodontitis sind mehr als 30 Prozent aller Stellen betroffen.

2.1.3 Die chronische Parodontitis

Die chronische Parodontitis beim älteren Patienten ist für diese Studie von besonderem Interesse. In der Klassifikation nach Armitage AAP 1999 (Armitage 1999) wurden weitere zusätzliche Eigenschaften für die chronische Parodontitis festgelegt:

- Die chronische Parodontitis kommt am häufigsten bei Erwachsenen vor, kann aber auch bei Kindern und Heranwachsenden auftreten.
- Das Ausmaß der parodontalen Destruktion ist vom Vorhandensein von lokalen die Erkrankung beeinflussenden Faktoren abhängig.
- Subgingivaler Zahnstein tritt häufig bei chronischer Parodontitis auf.
- Die mikrobielle Zusammensetzung ist variabel.
- Eine langsam fortschreitende Erkrankung verbunden mit kurzen Perioden von rascher Zunahme der Krankheitsaktivität ist möglich.
- Die chronische Parodontitis kann weiter eingeteilt werden, betreffend der Ausdehnung und der Schwere der Erkrankung.

- Die Erkrankung kann mit lokal prädisponierenden Faktoren assoziiert sein. Dabei kann es sich um von den Zähnen ausgehende sowie um iatrogene Ursachen handeln.
- Systemische Erkrankungen wie Diabetes mellitus und/oder eine HIV-Infektion können das Erkrankungsbild verändern bzw. auslösen.
- Tabakkonsum und emotionaler Stress können sich negativ auf das Erkrankungsbild auswirken.

2.1.4 Epidemiologie der chronischen Parodontitis

Laut Gesundheitsberichterstattung des Bundes über die Mundgesundheit in Heft 47 des Robert-Koch-Instituts von 2009 (Brauckhoff et al. 2009) ist die chronische Parodontitis durch einen langsamen Verlauf gekennzeichnet und gut therapierbar. Generell steigt die Prävalenz der Parodontitis mit zunehmendem Alter. Zitat: *„So leiden Kinder und Jugendliche in der Regel nur an einer Zahnfleischentzündung (Gingivitis), ohne dass sich die Entzündung in das tiefere Parodont ausbreitet. Etwa ab dem 45. Lebensjahr steigt dann die Häufigkeit der Parodontitis, die unbehandelt zum Zahnverlust führen kann. Eine allgemein akzeptierte und einheitlich verwendete Definition einer Parodontalerkrankung und ihrer Schweregrade (leicht/mittel/schwer) ist bis heute in der parodontalen Forschungsliteratur nicht geleistet worden. Der Grad der Zahnfleischentzündung (Gingivitis) bzw. Zahnbetterkrankung (Parodontitis) wird in verschiedenen Studien mit unterschiedlichen Indizes gemessen. Diese beruhen entweder auf Sondierungstiefen, dem Attachment-Verlust oder einer Kombination von beiden. Beide genannten Parameter liefern unterschiedliche Informationen: der Attachment-Verlust steht für den Abbau des Zahnhalteapparates im Laufe des Lebens. Er beschreibt den Verlust von Knochen, der den Zahn im Kiefer fixiert. Mit der Sondierungstiefe (Tiefe der Zahnfleischtaschen) wird das Ausmaß der gegenwärtigen Entzündung beurteilt. Im Alter entwickelt sich der Attachment-Verlust vornehmlich durch zunehmenden Rückgang des Zahnfleisches (Rezession, »Länger-Werden der Zähne«) und wesentlich weniger durch eine Zunahme der Taschentiefe. Die in Deutschland verfügbaren Daten zur Parodontitis Prävalenz basieren ebenfalls hauptsächlich auf CPI-Werten (Community-Periodontal-Index). Für den CPI werden die Zähne nach ihrem Krankheitszustand (Grad 0: keine Blutung, Grad 1:*

Reizblutung, Grad 2: Zahnstein, Grad 3: Sondierungstiefe 4 – 5 mm, Grad 4: Sondierungstiefe ≥ 6 mm) klassifiziert. Der Behandlungsbedarf und die notwendige Therapie resultieren aus dem befundeten CPI-Grad. Eine Hygienisierung (professionelle Zahnreinigung) und Mundhygieneinstruktionen werden beim Grad 1 notwendig. Bei Grad 2 und 3 ist zusätzlich eine gründliche supra- und subgingivale (oberflächliche und tiefere) Zahnsteinentfernung indiziert. Bei Zahnfleischtaschentiefen von ≥ 6 mm (CPI-Grad 4) ist eine komplexe Parodontalbehandlung (geschlossene bzw. offene Kürettage) notwendig. Der CPI errechnet sich als Maximalwert aus den Einzelbefunden für sechs Indexzähne, die exemplarisch für das gesamte Gebiss stehen. Durch die Beschränkung auf Maximalwerte (d. h. es zählt immer nur der höchste Wert) führt der CPI zu einer Überschätzung des parodontalen Behandlungsbedarfs. 1997 hatte die Hälfte (46,3%) der Erwachsenen und 2005 bereits 73,2% einen Grad 3 oder 4. Parallel dazu kam es zu einem Rückgang des Anteils von Personen mit parodontal gesunden Gebissen (keine Blutung). Bei den Seniorinnen und Senioren zeichnete sich ein ähnliches Bild ab. Bei ihnen sank der Anteil der Personen mit parodontal gesunden Gebissen von 5,7% auf 1,4% und der Anteil der Betroffenen mit einem CPI-Wert von 3 oder 4 stieg von 64,1% auf 87,8% an. Für Männer besteht ein signifikant höheres Risiko für Parodontalerkrankungen als für Frauen. Betrachtet man den Schweregrad der Parodontitis in Deutschland nach der Anzahl der betroffenen Zähne pro Person, ergibt sich ein anderes, etwas differenzierteres Bild. Meist sind nur wenige Zähne parodontal betroffen und nur bei wenigen Personen tritt eine generalisierte Form der Parodontitis auf. In der DMS IV (Deutsche Mundgesundheits Studie von 2005) wurde bei 84,6% der Erwachsenen an mindestens einem Zahn eine Sondierungstiefe ≥ 4 mm nachgewiesen. Im Durchschnitt hatte ein Erwachsener an 7,9 Zähnen Sondierungstiefen von 4–5 mm und an 1,2 Zähnen eine Sondierungstiefe ≥ 6 mm. Bei den Seniorinnen und Senioren, die noch eigene Zähne haben, haben alle Probandinnen und Probanden Taschentiefen. Durchschnittlich sind bei ihnen 7,3 Zähne moderat (4-5 mm) und 2,3 Zähne schwer parodontal erkrankt (≥ 6 mm). Legt man den Behandlungsbedarf an den Sondierungstiefen ≥ 4 mm fest, so sind im Jahr 1997 64,7% und im Jahr 2005 84,6% der Erwachsenen parodontal erkrankt. Betrachtet man hingegen den Attachment-Verlust (AV ≥ 3 mm), so fallen die Werte erheblich höher aus (93,0 % und 96,4 %). Bei jedem Erwachsenen haben durchschnittlich etwa 6 von 25 Zähnen und bei den Seniorinnen und Senioren ca. 10 von 18

Zähnen einen Attachment-Verlust ≥ 5 mm, der eine langfristige Prognose fraglich erscheinen lässt. Verwendet man die vom Center for Disease Control vorgeschlagene Klassifikation der Parodontitis haben in DMS IV ca. 8% der Erwachsenen und ca. 22% der Seniorinnen und Senioren eine stark ausgeprägte Parodontalerkrankung. Diese hohe Prävalenz von Zähnen mit einem starken Attachment-Verlust bzw. hohen Sondierungstiefen passt mit den Ergebnissen einer Studie über die Ursachen für Zahnverlust zusammen. Demnach werden in Deutschland bei den über 40-jährigen fast die Hälfte aller Zähne (45 Jahre: 40,4%, 55 Jahre: 47,6%) aus parodontalen Gründen gezogen.

Im Gegensatz zum CPI zeigen andere Maßzahlen je nach Variable bzw. Indexbildung eine Abnahme, Stagnation oder eine leichte Zunahme der Parodontalerkrankung auf einem hohen Niveau für beide untersuchten Altersgruppen. Dabei bewegen sich die Erkrankungsraten der Erwachsenen in Deutschland 2005 mit einer Prävalenz tiefer Zahnfleischtaschen (CPI-Grad 4) von 20% im internationalen Mittelfeld. Die Prävalenz tiefer Taschen ist in Spanien mit 1% am niedrigsten. Der höchste Wert wurde in Belgien ermittelt (29,4%). Die deutschen Seniorinnen und Senioren weisen hierfür eine höhere Prävalenz (40%) gegenüber Großbritannien (17%) und den USA (32%) auf. Zusammenfassend befindet sich Deutschland bezüglich der Prävalenz schwerer Parodontalerkrankungen im oberen Drittel. Es gibt also ein erhebliches Verbesserungspotenzial hinsichtlich der Parodontalerkrankungen. Im Gegensatz zu dem in Deutschland beobachteten Trend nahm sowohl in den USA als auch in Schweden die Prävalenz der Parodontalerkrankungen in den letzten 10 bis 20 Jahren deutlich ab. Im Vergleich von zwei Studien, die 1988 bis 1994 (NHANES III) und 1999 bis 2004 (NHANES IV) durchgeführt wurden, sanken in den USA bei den Erwachsenen die mittlere Sondierungstiefe (1,5 mm auf 1,0 mm) sowie der mittlere Attachment-Verlust (1,9 mm auf 1,4 mm). In einer schwedischen Studie hatten die 80-jährigen im Jahr 2003 im Röntgenbild Knochenverluste wie die 60-jährigen im Jahr 1983 (Restknochenhöhe 52%). Ob diese Trends Antiraucherkampagnen, einer verbesserten Prophylaxe, besseren zahnärztlichen Interventionen oder anderen Faktoren zuzurechnen sind, konnte noch nicht detailliert geklärt werden“ (Brauckhoff et al. 2009).

2.2 Zytokine in Assoziation mit chronischer Parodontitis und chronischer Entzündung

Haben die Bakterien die Körperabwehr überwunden, entsteht subgingival eine Infektion, verursacht durch überwiegend Gram-negative anaerobe Bakterien, die sich im gingivalen Sulkus etablieren konnten. Das Auftreten von parodontalen Destruktionen und der Nachweis von immunologisch vermittelnden Proteinen, mRNA-Protein Vorlagen im Sulkusfluid, sowie im zellulären Gewebe der Gingiva sind bei lokaler Infektion mit Gram-negativen Bakterien übereinstimmend mit dem Ausmaß der Entzündung.

Zytokine sind von Wirtszellen ausgesendete Botenstoffe, die auf molekularer Ebene mit anderen Zellen kommunizieren und deren Aktivität und Funktion beeinflussen. Viele Zytokine werden von Zellen des entzündeten Parodonts in die Umgebung exprimiert, wodurch sie molekulare Signale aussenden, die wiederum die Aktivität von anderen Zellen beeinflussen.

Zwei Zytokine sind für die parodontale Destruktion von besonderer Bedeutung: Interleukin 1 (IL-1) und Tumornekrosefaktor- α (TNF- α) (Graves und Cochran 2003). IL-1 und TNF- α Antagonisten reduzierten signifikant den parodontalen Attachment-Verlust und den Knochenabbau. Der Krankheitsverlauf der Parodontitis kann so verlangsamt werden (Delima et al. 2001; Graves et al. 1998; Oates et al. 2002). Ungestoppt entwickelt sich das entzündliche Infiltrat in Richtung des Alveolarknochens und sorgt für weitere Destruktion und Knochenabbau durch Osteoklasten, die durch eine erhöhte Konzentration von IL-1 und TNF- α dazu angeregt werden. Patienten mit chronischen Herzfehlern weisen erhöhte Konzentrationen von IL-1 und TNF- α auf (Bolton 2005; Conraads et al. 2005). Die Pathogenese der Parodontitis wird durch Zytokine, Chemokine und Metalloproteinasen vermittelt. Dazu zählen Prostaglandin E₂ (PGE₂), IL-1, IL-6, IL-8, TNF- α und Matrix Metalloproteinasen (MMPs) (Offenbacher 1996; Page et al. 1997).

2.2.1 Interleukin 1 (IL-1)

Das Zytokin IL-1 wird zusammen mit vielen anderen Mediatoren wie dem (TNF- α) als Reaktionsteil der Immunabwehr auf mikrobielle Infektionen, Entzündungen und Gewebeschädigung hergestellt. Das Zytokin IL-1 besteht aus den zwei Agonisten IL-1 α und IL-1 β (Dinarello 2007). Es wurde beobachtet, dass polymorphe Gene die Produktion von IL-1 als Reaktion auf bakterielle Lipopolysaccharide regulieren und so die Anfälligkeit und die Folgen für eine schwere Parodontitis steuern (Kornman und di Giovine 1998).

IL-1 ist ein proinflammatorisches multifunktionelles Zytokin, das inflammatorischen Zellen als eine biologische Eigenschaft den Zugang zu Infektionsherden erlaubt, den Knochenabbau verstärkt, die Ausschüttung von Eicosanoid (speziell PGE₂) durch Monozyten und Fibroblasten veranlasst und die Ausschüttung von Matrixmetalloproteinasen, die Proteine der extrazellulären Matrix im Wirtsgewebe zerstören, sowie an zahlreichen Prozessen der immunologischen Antwort des Wirts teilnimmt. Die Konzentration von IL-1 ist bei parodontal Erkrankten im Gewebe und im Sulkusfluid erhöht. In Tierversuchen konnte ein Anstieg der IL-1-Werte bei Parodontalerkrankung im Vergleich zu Gesunden nachgewiesen werden. Die vorwiegend vorkommene Form im Parodontalgewebe ist IL-1 α , welche von Makrophagen produziert wird.

2.2.2 Interleukin 6 (IL-6)

IL-6 ist ein etwa 26 kDa großes Zytokin, das die Plasma-Zell Proliferation und die Antikörperproduktion stimuliert. Es wird von Lymphozyten, Monozyten, Fibroblasten, Adipozyten, Osteoblasten, Endothelzellen und anderen Zellen synthetisiert, gehört zu den akute-Phase-Proteinen und spielt eine wichtige Rolle bei Entzündungen. IL-6 steuert zusammen mit TNF- α und IL-1 die akute Entzündungsreaktion, ist fast ausschließlich verantwortlich für Fieber und der akuten-Phase-Reaktion in der Leber und spielt eine wichtige Rolle für den Übergang von der akuten Entzündung zur entweder erworbenen Immunität oder einer chronischen entzündlichen Erkrankung (Hirano et al. 1986; Hodge et al. 2005; Jones 2005; Naugler und Karin 2008; Rose-John et al. 2006; Schuett et al. 2009). IL-6 ist bei Parodontitis stärker erhöht als bei Gingivitis. IL-6 stimuliert die Osteo-

klastenfunktion. Es verstärkt die Plasmazellen-Ansammlung und den Knochenabbau im parodontal entzündeten Gewebe (Page et al. 1997).

2.2.3 Interleukin 8 (IL-8)

IL-8 mit 8kDa ein Mitglied der Neutrophilen-spezifischen CXC Unterfamilie der Chemokine, ist ein potentes neutrophiles Chemotaxin und aktivierender Faktor von neutrophilen Granulozyten. Es ist ein primäres inflammatorisches Zytokin von vielen Zellen (einschließlich Monozyten / Makrophagen, T-Zellen, Neutrophilen, Fibroblasten, Endothelzellen, Keratinozyten, Hepatozyten, Astrozyten und Chondrozyten) und wird als Reaktion auf proinflammatorische Stimuli wie IL-1, TNF- α , LPS und Viren produziert. Ein Teil seiner Funktion ist neutrophile Granulozyten an den Ort der Entzündung zu locken und sie zu aktivieren (Hack et al. 1997; Matsushima et al. 1992; Miller und Krangel 1992; Oppenheim et al. 1991; Taub und Oppenheim 1993). Die Konzentration im Sulkusfluid korreliert mit der Schwere der Parodontitis und der parodontalen Taschentiefe (Zhu und Liu 2010).

2.2.4 Tumornekrosefaktor alpha (TNF- α)

TNF- α ist ein Zytokin, das bei lokalen und systemischen Entzündungen vorwiegend von Makrophagen sezerniert wird (Hehlhans und Pfeffer 2005). Es kann bei Gingivitis und Parodontitis vermehrt im Sulkusfluid gemessen werden, besonders als Reaktion auf Lipopolysaccharide von Bakterienoberflächen und aktiviert die Expression von IL1- β und MMPs (Birkedal-Hansen 1993). Die Neutralisation von TNF- α mit monoklonalen Antikörpern oder Rezeptorantagonisten ist ein therapeutischer Ansatz, der bei verschiedenen chronischen entzündlichen Erkrankungen gewählt wird (Bolton 2005). Antagonisten von TNF- α konnten den Rückgang von parodontalem Attachment bei experimentell ausgelöster Parodontitis unterdrücken (Delima et al. 2001; Graves und Cochran 2003). MMP-9 wird durch TNF- α vermehrt von mikrovaskulären Endothelzellen sezerniert (Hanemaaijer et al. 1993).

2.2.5 Prostaglandin (PGE₂)

Das im Sulkusfluid von Patienten mit Parodontitis vorhandene PGE₂ wird hauptsächlich von neutrophilen Granulozyten sezerniert (Birkedal-Hansen 1993; Fiorucci et al. 2004). Es konnte gezeigt werden, dass bei Anwesenheit des parodontalpathogenen Bakteriums *Porphyromonas gingivalis* im Parodontalspalt, eine verstärkte Einwanderung von neutrophilen Granulozyten in das Parodontalgewebe beobachtet werden konnte und zu einem Anstieg von neutrophiler Cyclooxygenase-2 (COX-2) sowie von PGE₂ im Sulkusfluid führte (Pouliot et al. 2000).

2.2.6 Matrix Metalloproteinase 8 (MMP-8)

MMPs gehören zur Familie von Zink-abhängigen Endopeptidasen, die Proteine der extrazellulären Matrix zersetzen (Birkedal-Hansen et al. 1993; Matrisian 1992; Wilhelm et al. 1989) und werden als Zymogene sezerniert (Pro-MMP), die durch eine Vielzahl von Proteinase oder durch Reaktion mit organischen Quecksilberverbindungen aktiviert werden. Sie werden durch spezifische Gewebe-Inhibitoren, den Tissue Inhibitors of Metalloproteinase (TIMPs) sowie durch α 2-Makroglobulin gehemmt (Birkedal-Hansen 1995; Birkedal-Hansen et al. 1993; Ogata et al. 1992; Sires et al. 1993). Die Regulation der MMP-Aktivität ist für Gewebeumbau, Entzündung, Tumorwachstum und die Metastasierung wichtig (Birkedal-Hansen 1993; Lyons et al. 1993; Okada et al. 1995). Der Abbau von Kollagen ist mit Gingivitis und Parodontitis assoziiert, und das Zusammenwirken der MMP -2, -9, -8, -13 und -3 spielt in der initialen Phase des Gewebeabbaus eine wichtige Rolle (Birkedal-Hansen et al. 1993; Page et al. 1997). Es konnte gezeigt werden, dass sich die Konzentration von MMP-8 im Sulkusfluid nach manueller Parodontitis-Therapie durch Kürettage signifikant um mehr als 50% reduzierte (Kinane et al. 2003). Eine subantimikrobielle Dosierung von Doxycyclin führte zu einer deutlichen Regression der klinischen Entzündungsparameter und zu einer Reduktion der Konzentration von MMP-8, dem in der akuten Entzündung des Parodonts von neutrophilen Granulozyten sezernierten Parameters, im Sulkusfluid (Golub et al. 1995). MMP-8 ist der entscheidende Marker für die akute Inflammation einer Parodontitis, auch einer apikalen Parodontitis, welches mittlerweile zu der Entwicklung von Chair-side Tests zur Detektion der MMP-8 Konzentration geführt hat (Sorsa et al. 2004).

2.2.7 Matrix Metalloproteinase 9 (MMP-9)

Human MMP-9 (auch Gelatinase B genannt) wird als 92 kDa großes Zymogen sezerniert. Spaltung von Pro-MMP-9 führt zu dem aktiven Enzym mit einer Masse von ca. 82 kDa. Pro-MMP-9 kann durch MMP-3 oder durch bestimmte bakterielle Proteinase aktiviert werden. MMP-9 wird durch α 2-Makroglobulin oder durch TIMP-1 gehemmt, die an Pro-MMP-9 sowie an das aktive MMP-9 binden können. Pro-MMP-9 wird von Monozyten, Makrophagen, neutrophilen Granulozyten, Keratinozyten, Fibroblasten, Osteoklasten, Chondrozyten und Endothelzellen gebildet (Birkedal-Hansen 1995; Birkedal-Hansen et al. 1993; Lyons et al. 1993; Okamoto et al. 1997). Pro-MMP-9 Expression wird durch TGF- β 1, IL-1 β , TGF- α , PDGF-AB, TNF- α und IL-1 α hochreguliert (Lyons et al. 1993). Zu den Substraten für MMP-9 gehören denaturiertes Kollagen Typ I, natives Kollagen Typ IV, V, VII, X und XI, Fibrinogen, Vitronektin, und IL-1 β (Birkedal-Hansen 1995; Birkedal-Hansen et al. 1993). MMP-9 ist an Entzündung, Gewebe-Remodelling, Wundheilung, Mobilisierung von Matrix-gebundenen Wachstumsfaktoren und an der Verarbeitung von Zytokinen beteiligt (Birkedal-Hansen et al. 1993; Lyons et al. 1993; Okada et al. 1995; Tamura et al. 1996). Erhöhte MMP-9-Werte können in der Sulkusflüssigkeit und im Speichel bei Patienten mit Gingivitis und Parodontalerkrankungen nachgewiesen werden (Birkedal-Hansen 1993). Bei Patienten, die an einer chronischen Parodontitis erkrankt waren, konnten im Sulkusfluid signifikant erhöhte Konzentrationen für MMP-9 im Vergleich zu parodontalgesunden nachgewiesen werden. Die Hauptquelle für im Sulkusfluid vorhandenes MMP-9 sind aus den umgebenden Gefäßen migrierte, degranulierende neutrophile Granulozyten (Westerlund et al. 1996). In weiteren Studien waren erhöhte Konzentrationen von MMP-9 im Sulkusfluid mit den klinischen Zeichen der chronischen Parodontitis signifikant korreliert (Pozo et al. 2005; Rai et al. 2008; Soder et al. 2006).

2.2.8 Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF)

VEGF ist ein 45 kDa großes homodimeres Glykoprotein und multifunktionelles Zytokin der Angiogenese, das für die Entzündung und die Wundheilung von Bedeutung ist und sowohl in der Sulkusflüssigkeit von Gesunden und von Patienten mit chronischer Paro-

dentitis nachgewiesen werden konnte (Booth et al. 1998). VEGF stimuliert die Proliferation von Endothelzellen, die Sekretion von proteolytischen Enzymen, die Chemotaxis, und die Zellmigration. Zum Unterhalt der Entzündung mit Neo-Vaskularisation von Gewebsabschnitten und Knochen, für die Migration von Entzündungszellen und Substraten sowie für die Produktion von Zytokinen und Adhäsionsmolekülen im Gewebe ist VEGF notwendig. Parodontal-pathogene Keime wie *Bacteroides forsythus*, *Campylobacter rectus*, *Porphyromonas gingivalis* führten in Taschen von Patienten mit chronischer Parodontitis zu einer erhöhten Konzentration von VEGF und IL-8 im Sulkusfluid im Vergleich zu Gesunden. VEGF spielt bei der chronischen Parodontitis eine Rolle in der immunvermittelten Destruktion des Knochens und des Parodontalgewebes durch die Wirtsabwehr (Lee et al. 2003). Die mittleren Konzentrationen von VEGF im Sulkusfluid von Patienten mit Gingivitis und chronischer Parodontitis waren im Vergleich mit Parodontal-Gesunden signifikant erhöht (Pradeep et al. 2011).

2.3 Sulkusfluid

Pashley beschrieb die Produktion von Sulkusfluid als einen gesteuerten Übertritt von Flüssigkeit aus den Kapillaren in das umgebende Gewebe und die gleichzeitige Entfernung dieser Flüssigkeit durch das lymphatische System als eine Art Gleichgewicht (Pashley 1976). Plaque, Lipopolysaccharide, die mechanische Stimulation und die experimentelle Gabe von Histaminen wie von Brill und Egelberg beschrieben, erhöhen die Flussrate für GCF im Sulkus (Griffiths 2003). Während des entzündlichen Prozesses werden interzelluläre Produkte erzeugt, die im Sulkus des Saumepithels oder der Zahnfleischtasche zu finden sind (Kinney et al. 2007) (siehe Abb.2). Diese Mediatoren der Krankheitsaktivität wurden identifiziert und aus Proben verschiedener biologischer Flüssigkeiten wie Speichel und gingivaler Sulkusflüssigkeit (GCF) gewonnen. GCF ist ein entzündliches Exsudat aus dem gingivalen Plexus der Blutgefäße der Lederhaut, des Epithels des dentogingivalen Raums. Beim Durchqueren des GCF durch den entzündeten Zahnhalteapparat auf dem Weg zum Sulkus werden molekulare biologische Marker aus dem umgebenden Gewebe und von eingewanderten Entzündungszellen gesammelt und mitgeführt. Von den 90 heute für Untersuchungszwecke der parodontalen Destruktion verifizierten und zur Verfügung stehenden biologischen Markern, signalisieren

die meisten eine Entzündung des Weichgewebes, nur wenige markieren eine Knochen-
destruktion (Kinney et al. 2007).

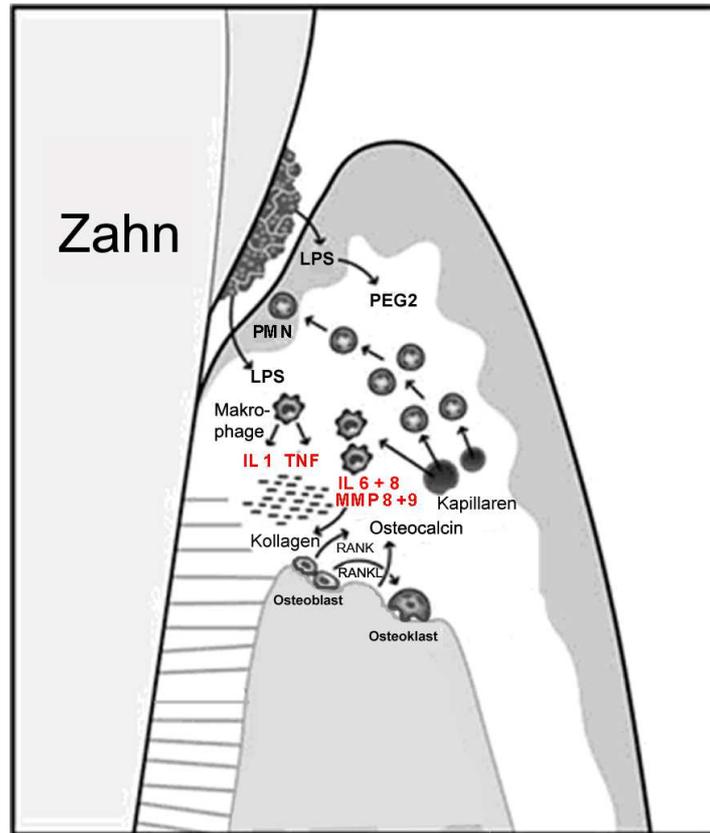


Abb. 2: Schematische Übersicht über die pathogenen Prozesse der Parodontitis im Sulkus und im Gewebe, modifiziert nach (Kinney et al. 2007) (PMN=Polymorphkernige Granulozyten, LPS=Lipopolysaccharide, PEG2 = Prostaglandin 2, IL 1 = Interleukin 1, TNF = Tumornekrosefaktor α , IL 6+8 = Interleukin 6 und -8, MMP 8+9 = Matrix Metalloproteinasen 8 und -9)

2.3.1 Periotron[®] 8000

Die Einführung einer elektronischen Messeinrichtung, Periotron[®], ermöglichte eine genaue Bestimmung der GCF-Volumina und die anschließende Laboruntersuchung auf die Zusammensetzung der Probe. Die Zunahme an messbarem GCF mit der Zunahme des Schweregrades der parodontalen Entzündung und den klinischen und histologischen Markern der Parodontitis wurde durch Studien gezeigt (Griffiths 2003). Das Instrument misst die Auswirkungen auf den elektrischen Stromfluss von mit GCF benetzten Papierstreifen. Es hat zwei Metall "Backen", die wie die Platten eines elektrischen

Kondensators handeln. Wenn ein trockener Streifen zwischen den "Backen" platziert ist, wird die Kapazität, übersetzt durch die elektrische Spannung, mit "Null" digital angezeigt. Ein nasser Streifen lässt die Kapazität im Verhältnis zum Volumen des GCF ansteigen, das gemessen und ausgelesen werden kann. Die Technik ist schnell und hat keine erkennbare Beeinflussung auf die GCF-Probe. Drei Modelle des Periotron[®] wurden bisher hergestellt (600, 6000 und 8000-Oraflow Inc., Long Island, New York, USA) und jedes hat gezeigt, dass es ein effizientes Mittel zur Messung des auf Filterpapier-Streifen gesammelten Flüssigkeitsvolumens ist. Die Kalibrierung des Periotron[®] 8000 kann nicht durch lineare Regression gelöst werden, weil es deutlich gekrümmte Komponenten aufzeigt, die am besten durch eine Polynomiale Regression vierter Ordnung beschrieben werden kann (Chapple et al. 1999). Dies ist im Einklang mit dem vom Hersteller vorgeschlagenen Konvertierungsprogramm MILCONVERT. Es zeigt sich, dass die Kalibrierkurve in der Lage sein sollte, das gesamte Spektrum der möglichen Lesungen als Extrapolation zu überspannen, ohne dass die Datenwerte zu Ungenauigkeiten führen. Die meisten Studien, die die Kalibrierung des Periotron[®] 8000 beschreiben, zeigen Fehler in der Größenordnung zwischen wiederholten Messungen. Zurückzuführen sind die Messfehler auf das Periotron[®] 8000, die Verdunstung von Flüssigkeit, die Entnahme und die Periopaper[®]-Streifen. Diese Fehler werden prozentual vergrößert, wenn die Entnahmemengen sehr gering sind, und das ist der Fall, wenn sich die Messungen am unteren Ende der Eichkurve befinden. Aus diesem Grund gilt die Kalibrierung der Eichkurve am unteren Ende als ungenau, und es ist ratsam, sich auf Volumina zwischen 0,1 und 1,2 ml, die vom Periotron[®] 8000 genau ausgelesen werden können, zu beschränken (Chapple et al. 1999).

Abb. 3 Periotron[®] 8000Abb. 4 Periopaper[®]-Streifen

2.4 HmG-Co A Reduktaseinhibitoren

1977 konnte der Japaner Akira Endo die HMG-Co A Reduktase-Inhibitoren Mevastatin und Lovastatin aus Pilzkolonien isolieren (Endo 2004). Seitdem wurden natürliche und synthetische Statine als lipid-senkende Medikamente weiterentwickelt, sie zählen zu den wirksamsten Medikamenten zur Senkung des Cholesterinspiegels. Sie hemmen durch Inhibierung der 3-Hydroxy-3-Methyl-glutaryl Coenzym A Reduktase die Synthese von Cholesterin in der Leber. Die sogenannten Statine werden bei Störungen des Fettstoffwechsels und zur Vorbeugung von Herz-Kreislaufkrankungen bei Risikogruppen verschrieben. Hierzu zählen die primäre Hypercholesterinämie vom Typ IIa und IIb nach Fredrickson und die Verschreibung zur Risikoprophylaxe an Diabetiker und nach Myokardinfarkt unabhängig vom Cholesterinspiegel (Fredrickson et al. 1987). Statine sind lipidsenkend durch Inhibition der Cholesterol-Biosynthese in der Leber und senken das Gesamtcholesterin, LDL sowie die Triglyceride und erhöhen das HDL (Endo 2004; Stossel 2008). Die cholesterinsenkende Therapie ist zentraler Bestandteil evidenzbasierter Leitlinien zur Prävention der koronaren Herzkrankheit. Das Ausmaß des therapeutischen Nutzens korreliert mit der LDL-Cholesterinsenkung und dem Gesamtrisiko für kardiovaskuläre und zerebrovaskuläre Ereignisse (Grundy et al. 2004). Das Risiko an Arteriosklerose zu erkranken steigt ab einem Plasmacholesterinspiegel von 200 mg pro Deziliter signifikant an. In zahlreichen Studien konnte die Senkung des Cholesterinspiegels durch Statine zur Vermeidung einer lebensbedrohlichen Arteriosklerose nachgewiesen werden. Der therapeutische Nutzen korreliert mit der LDL-Cholesterinsenkung durch Statine und dem Risiko für Myokardinfarkt und zerebrovaskuläre Ereignisse auch bei bereits manifester Koronarer Herzerkrankung. In der 1994 publizierten skandinavischen Simvastatin Survival Study konnte über einen Beobachtungszeitraum von 5 Jahren durch Simvastatin (die mittlere Tagesdosis betrug 27 mg) bei über 4444 Koronarpatienten erstmals eine Senkung der kardialen Morbidität um 31% beobachtet werden, wobei die Abnahme der koronaren Todesfälle um 42% ausschlaggebend war. Der therapeutische Nutzen erstreckte sich auch auf Myokardinfarkte bei Frauen und ältere Patienten sowie auf Diabetiker (Pyorala et al. 1997).

Lovastatin (Lovabeta®), Simvastatin (Zocor®), Pravastatin (Selipran®) und Mevastatin (nicht mehr im Handel) sind natürliche Statine und liegen als Lactone vor. Sie sind Pro-

drugs und werden *in vivo* zum aktiven Inhibitor hydrolysiert. Fluvastatin (Lescol®), Atorvastatin (Sortis®), Rosuvastatin (Crestor®) und Pitavastatin (Livalo®) werden vollsynthetisch hergestellt (siehe Abb.5).

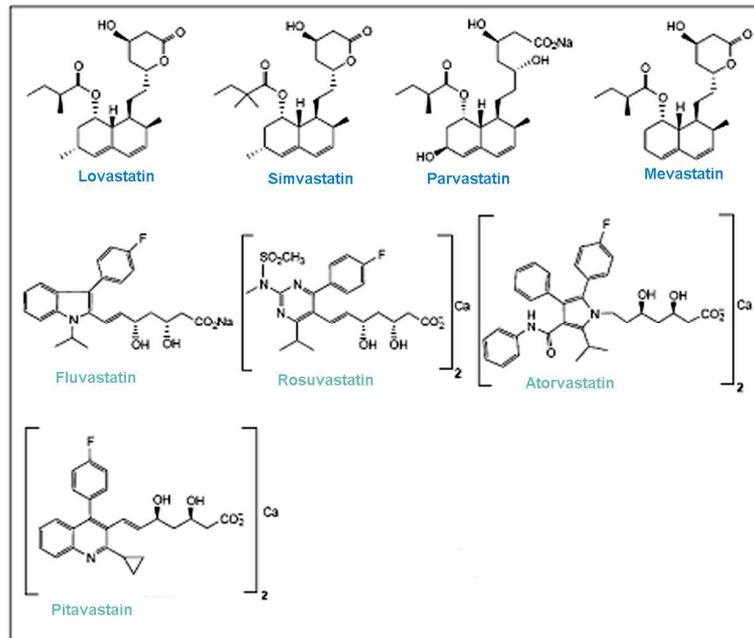


Abb. 5: **Übersicht über HMG-Co A Reduktase-Inhibitoren**

Unter den führenden Arzneimitteln nach Verordnungen 2007 lag das Generikum SimvaHEXAL mit 419.244.000 Tagesdosen (*defined daily dose*, DDD) auf Platz 16. Simvastatin nimmt unter den Statinen mit 85% der Statinverordnungen eine dominierende Stellung ein (Klose und Schwabe 2008).

2.4.1 Pleiotrope Effekte von Simvastatin

Der HMG-Co A Reduktase-Inhibitor Simvastatin ist ein lipophiles Prodrug, welches wie alle natürlichen Statine zum aktiven Inhibitor hydrolysiert wird. Statine haben zusätzlich zu der Fähigkeit den Cholesterinspiegel zu senken sogenannte pleiotrope Effekte, die in zahlreichen Studien nachgewiesen wurden. Dazu zählen die Förderung der Gefäßneubildung, die Erhaltung des Knochens und eine positive Beeinflussung des Immunsystems sowie anti-entzündliche Eigenschaften. Dies ist unter anderem durch die Blockierung der Cholesterinsynthese, einer dadurch verminderten Bildung von Mevalonat und

der damit verbundenen reduzierten Prenylierung von Proteinen zu erklären (Weitz-Schmidt 2002) (siehe Abb.6). Die verminderte Synthese von Isoprenoiden wie Geranylgeranyl Pyrophosphat und Farnesyl Pyrophosphat führt zu einer geringeren Produktion der kleinen G-Proteine, wie Ras, Rho und Rac, sowie ähnlichen Signalproteinen. Statine stimulieren den VEGF über Erhöhung der endothelialen Stickoxide und das Bone Morphogenetic Protein-2 (BMP-2). Sie fördern die Osteoblastendifferenzierung sowie die Mineralisation in Zellen durch Erhöhung des BMP-2. Mit ihrer anti-inflammatorischen Wirkung reduzieren Statine die Konzentration von C-reaktivem Protein im Plasma, welches von der Leber nach Stimulation von IL-6 ausgeschüttet wird. Weiter senken Statine die proinflammatorischen Zytokine Interleukin IL 1- β und IL-6. Statine unterdrücken die Aktivität von Monozyten und Makrophagen und reduzieren die Bildung von proteolytischen MMPs wie MMP-1, MMP-3, und MMP-9, die von Makrophagen sezerniert werden (Horiuchi und Maeda 2006). Sie erhöhen die Konzentration von Osteocalcin im Serum, einem Marker für die Knochenneubildung.

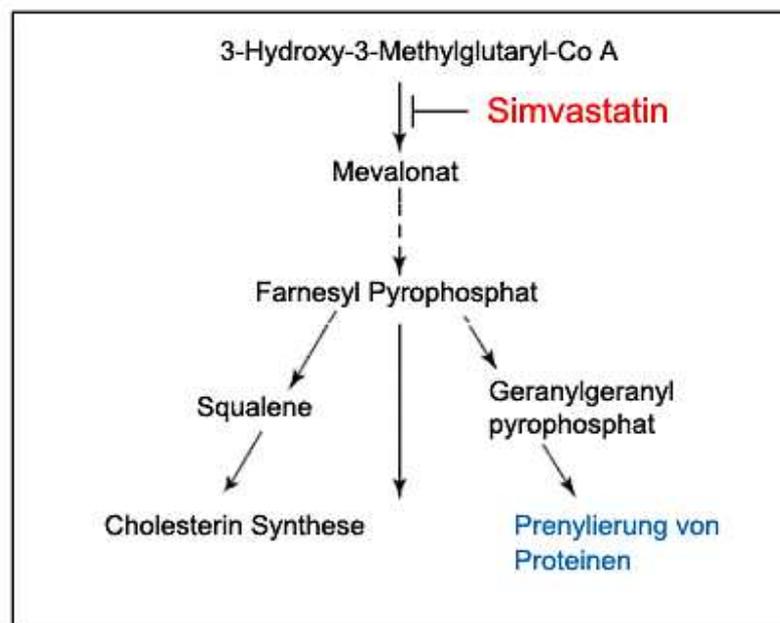


Abb. 6: Schematische Darstellung der Blockierung des Schlüsselenzyms HMG-CoA Reduktase durch Statine. Es führt über verminderte Bildung von Mevalonat zu einer reduzierten Synthese von Cholesterin und einer herabgesetzten Prenylierung von Proteinen, modifiziert nach (Weitz-Schmidt 2002).

2.4.2 Einfluss von Simvastatin auf bestimmte Zytokine

Sir Robert Rosenson und Mitarbeiter konnten zeigen, dass bei Blutproben, die 6 Stunden zuvor mit LPS inkubiert wurden, die LPS-abhängige Produktion von TNF- α und IL-6 im gesamten Blut um 30% reduziert war, nachdem Parvastatin für 7 Wochen eingenommen wurde (Rosenson et al. 1999). Uichi Ikeda untersuchte den Effekt von Fluvastatin und Lovastatin auf humane Monozyten der Zelllinie THP-1. Die Zugabe von LPS (1 g/ml) 24 Stunden zuvor, erhöhte die Produktion von IL-6 durch THP-1 Zellen. Fluvastatin und Lovastatin verhinderten signifikant einen LPS-induzierten Anstieg der Sekretion von IL-6. Es konnte ein direkter antientzündlicher Effekt von Statinen auf Monozyten und Makrophagen nachgewiesen werden (Ikeda und Shimada 1999). Eine Tabelle am Ende dieses Abschnitts zeigt eine Zusammenfassung der relevanten Studien zur Wirkung von Simvastatin auf Knochen und Parodontitis (Calixto et al. 2011; Cunha-Cruz et al. 2006; Lin et al. 2009; Lindy et al. 2008; Nassar et al. 2009; Pauly et al. 2009; Pradeep und Thorat 2010; Sakoda et al. 2006; Saxlin et al. 2009; Seto et al. 2008; Takenaka et al. 2003; Thunyakitpisal und Chaisuparat 2004; Wu et al. 2008; Yazawa et al. 2005; Yokota et al. 2006) (siehe Tab.1). Sakoda und Kollegen konnten nachweisen, dass Simvastatin *in vitro* die IL-1 induzierte Produktion der inflammatorischen Zytokine IL-6 und IL-8 durch humane orale Epithelzellen reduziert. Die Gaben von 0 M und 10^{-8} - 10^{-6} M Simvastatin zeigten eine dosisabhängige Herunterregulierung der durch IL-1 induzierten Sezernierung von IL-6 und IL8 durch die humane epitheliale Zell Line KB (Sakoda et al. 2006). Yokota und Kollegen untersuchten *in vitro* den hemmenden Einfluss von Simvastatin auf die Expression von IL-6, IL-8 und die durch TNF- α induzierte Zellproliferation in fibroblast-like synoviocytes (FLS), die aus mit Endoprothesen versorgten Gelenken von Patienten mit rheumatoider Arthritis stammten. Die FLS mit rheumatoider Arthritis wurden mit oder ohne 0.05-10 μ M Simvastatin für 12 Stunden inkubiert. Die im Überstand der FLS-Kultur gemessenen Werte von IL-6 und IL-8 wurden durch Simvastatin zeit- und dosisabhängig reduziert. Ebenfalls wurde die durch TNF- α induzierte Zellproliferation durch Simvastatin inhibiert (Yokota et al. 2006). Yazawa und Kollegen untersuchten den Einfluss von Simvastatin auf Zellen des Parodontalen Ligaments (PDL). Simvastatin verstärkte die Zellproliferation und den Zellmetabolismus dosisabhängig mit einem Maximum nach 24 Stunden. Ebenfalls wurde die

Alkaline Phosphataseaktivität der PDL-Zellen dosisabhängig mit einem Maximum bei 10^{-8} M Simvastatin beobachtet. Bei niedriger Simvastatinkonzentration ist ein positiver Effekt auf die Proliferation und Osteoblastendifferenzierung von humanen PDL-Zellen untersucht worden, dieser kann durch den inhibierenden Einfluss von Simvastatin auf die Mevalotatumwandlung verursacht sein (Yazawa et al. 2005).

Thunyakitpisal und Kollegen untersuchten den Effekt von Simvastatin auf Osteoblasten. Die Osteoblasten stammten aus der primären Calvaria, US2OS Osteosarkom Zellen und HT1080 Fibrosarkom Zellen. Die *in vitro* Untersuchung ergab, dass eine ansteigende Konzentration von Simvastatin, von 100 bis 500 nM, zu einer konzentrationsabhängigen Reduktion der MMP-9-Aktivität (30-40%) und der MMP-9-Sekretion (30-70%) führte. Diese getesteten Simvastatinkonzentrationen entsprechen den Konzentrationen von Simvastatin, die im Serum von Patienten unter therapeutischer Simvastatinmedikation gefunden wurden. Die Ergebnisse lassen einen direkten Einfluss von Simvastatin auf die MMP-9 Ausschüttung vermuten (Thunyakitpisal und Chaisuparat 2004). Eine *in vivo* Studie an Ratten zeigte eine durch Simvastatin-Einnahme dosisabhängige erhöhte VEGF-Plasmakonzentration im Tierversuch (Takenaka et al. 2003). In einer weiteren *in vivo* Studie induzierten Simvastatin-Gaben an männlichen Kaninchen von 0,1mg/KG/Tag die Gefäßproliferation in ischämischem Gewebe, wie sie nach einer äquivalenten Gabe von VEGF zu beobachten ist (Kureishi et al. 2000). Lin und Mitarbeiter konnten in ihrer experimentellen Studie zeigen, dass Simvastatin *in vitro* die Produktion von Cysteine-Rich Protein 61 durch menschliche Osteosarkom Zellen (MG-63-Zellen) nach Stimulation mit TNF- α verminderte. Die Zelllinie hat einen charakteristischen osteoblastischen Phänotyp. Cysteine-Rich Protein 61 fördert die Zelladhäsion, die Chemotaxis, die Angiogenese, reguliert das Tumorwachstum und ist an der Entzündungsentstehung beteiligt. Die Ausbreitung der experimentell ausgelösten apikalen Parodontitis bei Ratten konnte durch Simvastatin reduziert werden. Möglicherweise durch die Verringerung der Synthese von Cysteine-Rich Protein 61 in Osteoblasten, welches wiederum die Infiltration von Makrophagen durch geringere osteoblastäre Sezernierung des Chemokins CCL2, ein makrophagenaktivierendes Chemokin, verminderte. In der Auswertung zeigte sich ein um 59,7% verminderter apikaler Knochenverlust, mit weniger Cysteine-Rich Protein 61-positiven Osteoblasten und weniger Makrophagen (Lin et al. 2009). Nassar und Mitarbeiter veröffentlichten eine Arbeit, die sich mit durch Cyclos-

porin A verursachtem Knochenabbau und dessen Hemmung durch Simvastatin beschäftigte. Sie zeigten, dass alveolärer Knochenverlust eine wichtige negative Nebenwirkung unter der Behandlung mit Cyclosporin A ist. Es wurde evaluiert, ob die gleichzeitige Verabreichung von Simvastatin den Cyclosporin A-assoziierten alveolären Knochenverlust bei Ratten mit experimentell ausgelöster Parodontitis vermindert. Die Konzentrationen von Calcium (Ca^{2+}), Phosphor und alkalischer Phosphatase im Serum wurden bewertet. Die Expression von IL-1 β , PGE₂ und der induzierbaren Stickstoffmonoxid-Synthase im gingivomukosalen Gewebe sowie Knochenvolumen, die Zahl der Osteoblasten und Osteoklasten wurden gemessen. Die Studie zeigt, dass eine Simvastatin-Therapie zu einer Umkehrung des durch Cyclosporin A induzierten Knochenabbaus führt, dieses ist möglicherweise durch die vermittelte Herunterregulation von IL-1 β und PGE₂ zu erklären (Nassar et al. 2009). Seto und Mitarbeiter konnten mit ihrer Studie zeigen, dass Simvastatin sich *in vitro* dosisabhängig positiv auf die Funktion der Osteoblasten auswirkt, mit einer Erhaltung der Aktivität der alkalischen Phosphatase und erhöhter Knochenneubildung. *In vivo* zeigten Computertomographiebilder im Tierversuch mit Ratten, dass die topische Behandlung mit Simvastatin von alveolärem Knochen an Molaren einen durch Ligatur verursachten alveolären horizontalen Knochenabbau um 46% senkte. Die histologische Untersuchung ergab eine Neubildung von gering-mineralisiertem alveolären Knochen in der Simvastatin-Gruppe im Vergleich zur Kontrollgruppe. Die Simvastatingabe führte zur besseren Erhaltung des parodontalen Ligaments und des umgebenden gingivalen Gewebes (Seto et al. 2008).

Wu und Mitarbeiter untersuchten in ihrer Arbeit die Vermeidung von Kieferkammresorption nach Zahnextraktion durch Simvastatin, das den Knochenumbau beeinflusst und die Knochenneubildung stimulieren kann. Sechzig männliche Wistar-Ratten wurden nach dem Zufallsprinzip in Versuchs- und Kontrollgruppe eingeteilt (N = 30). Polymilchsäure und Polyglykolsäure als Kopolymertransporter mit oder ohne Simvastatin, wurden in Extraktionsalveolen der rechten unteren Schneidezähne implantiert. Die Ratten wurden nach 1, 2, 4, 8 oder 12 Wochen nach der Implantation getötet. Die relative Höhe des Kieferkamms war signifikant höher in der experimentellen Gruppe im Vergleich zur Kontrollgruppe nach 2, 4, 8 und 12 Wochen. Mineralisierungen des Knochens waren in der experimentellen Gruppe signifikant höher als in der Kontrollgruppe nach 4, 8 und 12 Wochen. Eine größere neugebildete Knocheninsel konnte in der experimentellen Grup-

pe nach 4 Wochen beobachtet werden sowie eine höhere Knochenneubildung und bessere Knochenqualität als in der Kontrollgruppe zu verschiedenen Zeitpunkten, mit Ausnahme des Untersuchungsintervalls von einer Woche. Die Ergebnisse zeigten, dass die lokale Anwendung von Simvastatin effektiv den residualen Alveolarknochen durch die Förderung von Knochenbildung in der Extraktionsalveole erhalten kann (Wu et al. 2008). Das Ziel dieser 2008 von Lindy und Mitarbeitern veröffentlichten retrospektiven Studie war es, den Zusammenhang zwischen Statin-Einnahme und den klinischen Markern der chronischen Parodontitis zu beschreiben. Die parodontalen Sondierungstaschentiefen-Werte von 100 erwachsenen Patienten die sich in einer Universitäts-Zahnklinik aufgrund einer fortgeschrittenen chronischen Parodontitis in Behandlung befanden, wurden gesammelt und ausgewertet. Ein neuartiger Index, Periodontal Inflammatory Burden Index (PIBI), wurde aus den parodontalen Sondierungstaschentiefen-Werten abgeleitet, um die systemischen Wirkungen der Parodontitis besser beschreiben zu können. Eine Statin-Medikation führte zu einer um 37% reduzierten Anzahl von tiefen parodontalen Taschen bei Patienten mit chronischer Parodontitis im Vergleich zu Patienten ohne Statin-Medikation ($P = 0,00043$). Der PIBI, der die Daten über die Gesamtzahl vorhandener parodontaler Sondierungstaschentiefen verbindet und zusammenfasst, war bei Patienten mit Statin-Medikation um 40% reduziert (Lindy et al. 2008). Schwere Formen der Parodontitis findet man häufiger bei Personen mit einer bekannten Hyperlipidämie (Pohl et al. 1995). Die Pharmakokinetik von Simvastatin zeigt eine durchschnittliche Plasmakonzentration von 10^{-9} bis 10^{-7} M bei Patienten nach der Einnahme klinischer Dosierungen von 40 mg (Yang et al. 2003). Im Allgemeinen sind die Konzentrationen von Medikamenten in der Sulkusflüssigkeit 10- bis 100-mal größer als im Plasma. Dementsprechend ist zu erwarten, dass klinische Dosen von Simvastatin eine antientzündliche Wirkung im oralen Gewebe ausüben können (Sakoda et al. 2006). Plasmakonzentrationen von 2,78 und 3,24 ng/ml für Simvastatin wurden nach 1,73 und 1,80 Stunden nach der Einnahme von 40 mg erreicht. Die Konzentration nahm danach rapide ab und war bis 12 Stunden nach Einnahme nachweisbar (Najib et al. 2003). Eine *in vivo* Studie an Ratten konnte zeigen, dass eine lokale Beschichtung von Kirschner Drähten mit hochdosiertem 50 µg Simvastatin, die zur Fraktur-Schienung der Tibia eingesetzt wurden, zu einer erhöhten Torsionssteifigkeit der Tibia, die einer signifikant erhöhten Maximalbelastung nach 28 Tagen im Vergleich

zur Kontrollgruppe standhielt, sowie eine signifikante Zunahme in beiden Parametern nach 42 Tagen führte. Die vorliegende Studie zeigte eine dosisabhängige Wirkung und eine verbesserte Frakturheilung unter lokaler Anwendung von Simvastatin. In dieser Studie mit BMP-2 behandelte Tiere zeigten wie unter Simvastatin vergleichbare biomechanische, radiologische und histomorphometrische Eigenschaften. Die Autoren geben für den Knochen und den Blutkreislauf eine Verfügbarkeit von 5% für oral appliziertes Simvastatin an (Pauly et al. 2009).

Die kontrollierte randomisierte klinische Studie von Pradeep und Kollegen konnte bei Patienten mit chronischer Parodontitis und lokaler Simvastatin-Applikation nach Scaling und Wurzelglättung im Vergleich zur Kontrollgruppe, die nur Scaling und Wurzelglättung erhielt, einen signifikant größeren Rückgang für Taschentiefe, Klinischen Attachmentlevel und Gingivaindex beobachten (Pradeep und Thorat 2010). Im Tierversuch von Calixto und Kollegen wurden critical-size Defekte in der Calvaria von 64 Ratten lokal mit Kollagen und 0,5 mg/50 µl und 2.2 mg/50 µl lokal behandelt. Nach 30 Tagen zeigten sich zwischen der Kontrollgruppe den unterschiedlichen Simvastatin-Dosen keine signifikanten Unterschiede in der Knochenheilung. Nach 60 Tagen zeigte die Gruppe mit der höheren Dosierung eine vermehrte Knochenneubildung und eine höhere radiologische Knochendichte im Gegensatz zur geringeren Dosierung und der Kontrollgruppe (Calixto et al. 2011).

Tab. 1 Relevante Studien zur Wirkung von Simvastatin auf Knochen und Parodontitis

Studie	Titel	Studienart	Ergebnis
(Takenaka et al. 2003)	Simvastatin stimulates VEGF release via p44/p42 MAP kinase in vascular smooth muscle cells.	Tierversuch	Simvastatin-Einnahme zeigte an Ratten eine dosisabhängige erhöhte VEGF-Plasmakonzentration.
(Thunyakitpisal und Chaisuparat 2004)	Simvastatin, an HMG-CoA reductase inhibitor, reduced the expression of matrix-metalloproteinase-9 (Gelatinase B) in osteoblastic cells and HT1080 fibrosarcoma cells.	In vitro	Eine ansteigende Konzentration von Simvastatin führte zu einer Reduktion der MMP-9-Aktivität (30 - 40%) und der MMP-9-Sekretion (30 - 70 %).
(Yazawa et al. 2005)	Simvastatin promotes cell metabolism, proliferation, and osteoblastic differentiation in human periodontal ligament cells.	In vitro	Positiver Effekt auf die Proliferation und Osteoblastendifferenzierung von humanen PDL- Zellen.
(Yokota et al. 2006)	Simvastatin inhibits production of interleukin 6 (IL-6) and IL-8 and cell proliferation induced by tumor necrosis factor-alpha in fibroblast-like synoviocytes from patients with rheumatoid arthritis.	In vitro	Werte von IL-6 und IL-8 wurden durch Simvastatin zeit- und dosisabhängig reduziert. Ebenfalls wurde die durch TNF- α induzierte Zellproliferation durch Simvastatin inhibiert
(Sakoda et al. 2006)	Simvastatin decreases IL-6 and IL-8 production in epithelial cells.	In vitro	Simvastatin reduzierte in vitro die IL-1 induzierte Produktion der inflammatorischen Zytokine IL-6 und IL-8 durch humane orale Epithelzellen.
(Cunha-Cruz et al. 2006)	Statin use and tooth loss in chronic periodontitis patients.	Retrospektive klinische Untersuchung	Bewertung des Effekts jeder Statineinnahme in den ersten 3 Jahren auf Zahnverlust.
(Lindy et al. 2008)	Statin use is associated with fewer periodontal lesions: A retrospective study.	Retrospektive klinische Untersuchung	Parodontitis-Patienten mit Statin-Medikation hatten eine um 37% geringere Anzahl von pathologischen parodontalen Taschen als diejenigen ohne Statin-Medikation.
(Wu et al. 2008)	The effect of simvastatin on remodelling of the alveolar bone following tooth extraction.	Tierversuch	Copolymer-Transporter, mit oder ohne Simvastatin, wurden in Extraktions-alveolen der rechten unteren Schneidezähne implantiert.
(Nassar et al. 2009)	Simvastatin therapy in cyclosporine A-induced alveolar bone loss in rats.	Tierversuch	Simvastatin führte zu einer Umkehrung des durch Cyclosporin A induzierten Knochenabbaus, durch die vermittelte Herunterregulierung von Interleukin-1 β und Prostaglandin E2.
(Seto et al. 2008)	Topical administration of simvastatin recovers alveolar bone loss in rats.	In vitro + Tierversuch	Die topische Behandlung von alveolärem Knochen mit Simvastatin reduzierte einen durch Ligatur verursachten Knochenabbau um 46%.
(Lin et al. 2009)	Simvastatin as a novel strategy to alleviate periapical lesions.	In vitro	Simvastatin verminderte im Tierversuch die Progression der induzierten apikalen Parodontitis
(Saxlin et al. 2009)	Dual effect of statin medication on the periodontium.	Retrospektive klinische Untersuchung	Probanden ohne Plaque und Zahnfleischbluten mit Statin-Medikation zeigten vertiefte parodontale Taschen.
(Pauly et al. 2009)	Simvastatin locally applied from a biodegradable coating of osteosynthetic implants improves fracture healing comparable to BMP-2 application.	Tierversuch	Die lokale Beschichtung von Kirschner-Drähten mit 50 μ g Simvastatin zur Fraktur-Schienung, führte zu erhöhter Torsionssteifigkeit und einer signifikant erhöhten Maximalbelastung.
(Pradeep und Thorat 2010)	Clinical effect of subgingivally delivered simvastatin in the treatment of patients with chronic periodontitis: a randomized clinical trial.	Randomisierte Klinische Studie	Studie konnte im Vergleich zur Kontrollgruppe, die nur Scaling und Wurzelglättung erhielt, einen größeren Rückgang für Taschentiefe, Klinischen Attachmentlevel und Gingivaindex bei Patienten mit chronischer Parodontitis und lokal in die Tasche appliziertem Simvastatin beobachten.
(Calixto et al. 2011)	The influence of local administration of simvastatin in calvarial bone healing in rats.	Tierversuch	Calvaria-Defekte bei Ratten wurden mit Kollagen und lokaler Simvastatin-Zugabe versorgt. Dosisabhängig zeigte Simvastatin mehr Knochendichte und mehr Knochenneubildung.

3 Material und Methode

3.1 Probanden

Es wurden 24 Probanden rekrutiert. Alle Probanden haben freiwillig und ohne Aufwandsentschädigung an der Studie teilgenommen. Die 24 Probanden bestanden aus 12 Männern und 12 Frauen, die sich in Verum-Gruppe und Kontrollgruppe dem Geschlecht und dem Geburtsjahr entsprachen. Die Verum-Gruppe rekrutierte sich aus 12 Probanden die bereits Patienten der Lipidambulanz der Charité (Leiterin: Prof. Dr. med. E. Steinhagen-Thiessen) waren und dort aufgrund einer Fettstoffwechselerkrankung behandelt wurden. Die Verschreibung von Simvastatin erfolgte aus allgemeinmedizinischen Gründen. Die Kontrollgruppe rekrutierte sich aus 12 Probanden die im ehemaligen Zentrum für Zahnmedizin der Charité, Campus Virchow-Klinikum, entsprechend den Kriterien der Verum-Gruppe ausgewählt wurden.

3.2 Ein- und Ausschlusskriterien

Alle Probanden nahmen seit mindestens 3 Monaten Simvastatin ein. Alle zu Untersuchenden sollten keine weiteren auf das Immunsystem einwirkenden Medikamente einnehmen und keine weiteren Erkrankungen, die einen Einfluss auf die Veränderung von Entzündungsfaktoren haben können, aufweisen. Hierzu zählen die nichtsteroidalen Antirheumatika (z.B. Cyclooxygenasehemmstoffe), Kortikosteroide und Immunsuppressiva. Die Patienten sollten an keiner Herzerkrankung, die eine Antibiotikagabe vor der Untersuchung erforderlich macht, erkrankt sein.

Ausschlusskriterien, die zum einen in Risiken für die Probanden begründet waren und zum anderen in dem Bestreben, Störfaktoren möglichst gering zu halten, waren: Erkrankungen des Immunsystems und bekannte Infektionen jeglicher Art, schlecht eingestellter Diabetes mellitus, psychiatrische Erkrankungen, Alkoholabusus, Nikotinkonsum von mehr als 5 Zigaretten/Tag, Schwangerschaft, laufende zahnärztliche oder kieferorthopädische Behandlungen, unbehandelte Karies, defekte Füllungen, insuffiziente pro-

thetische Versorgungen. Ferner führte die Einnahme von Antibiotika und Antiphlogistika 4 Wochen vor Studienbeginn bis zum Ende der Studie zum Studienausschluss.

Alle o.g. Ausschlusskriterien wurden zum Zeitpunkt der Rekrutierung angewendet und kein Patient wurde von der Studie ausgeschlossen.

3.3 Ethik

Eine schriftliche Einverständniserklärung wurde von allen Studien-Teilnehmern unterzeichnet, nachdem sie zuvor schriftlich und mündlich über den Studienablauf informiert worden waren. Die Patienten wurden mündlich und schriftlich über ihre Erkrankung, die Behandlungsmöglichkeiten und gemäß „Good Clinical Practice“ ICH-GCP, Weltärztebund (Weltärztebund 2002) über das Studienprotokoll aufgeklärt. Dieser Versuchsplan wurde von der Ethikkommission der Medizinischen Fakultät am Campus Benjamin Franklin der Charité geprüft und der Ethikausschuss 4 unter Vorsitz von Prof. Dr. Ralf Stahlmann äußerte keine Bedenken gegen die Durchführung der Untersuchungen (Ethik-Votum vom 15.08.2006 mit der Antragsnummer EA4/041/06).

3.4 Studiendesign

Es wurden zunächst die Probanden der Verum-Gruppe untersucht. Hierbei handelte es sich um Probanden, die seit mindestens 3 Monaten das Medikament Simvastatin einnahmen. Die tägliche Dosis variierte zwischen 5 mg bis 40 mg am Tag. Das Alter der Probanden der Verum-Gruppe lag zwischen 51 und 68 Jahren. Diese Altersgruppe wurde absichtlich gewählt, da es sich bei der chronischen Parodontitis um eine Erkrankung des Zahnhalteapparates handelt, die mit ansteigendem Lebensalter häufiger auftreten kann (Boehm und Scannapieco 2007).

Am Tag der Erstuntersuchung wurden die Probanden durch den Untersucher über die Studie aufgeklärt und unterschrieben die Einwilligungserklärung zur Teilnahme an der Studie. Zunächst wurde mit den Probanden die Anamnese erhoben und ein Fragebogen ausgefüllt. Es erfolgte die orale und zahnmedizinische Untersuchung und die Erhebung der speziellen Indices zur Feststellung des Gesundheitszustandes der Gingiva und des Parodonts. Im Anschluss erhielten die Probanden eine professionelle Zahnrei-

nigung aller Zähne, sowie eine Mundgesundheitsaufklärung zur eigenen Durchführung der Hygienemaßnahmen. Der nächste Termin erfolgte bei allen Probanden nach sieben Tagen. Es wurden mittels Papierspitzen (Periopaper®, Pro Flow™ Incorporated, Amtville, NewYork) zwei Proben vom Sulkusfluid, des jeweils ersten Molaren eines jeden Quadranten entnommen. Das Sulkusfluid wurde direkt im Anschluss an die Untersuchung im Labor weiterverarbeitet und bis zur weiteren Analyse bei -80°C Grad eingefroren. Die Probanden der Kontrollgruppe nahmen keine Medikamente ein und wurden als Fall-Kontroll-Analyse in Alter, Geschlecht und Parodontalzustand der Verum-Gruppe zugeordnet. Die Messergebnisse von zwei Zähnen pro Patient wurden als ausreichend repräsentativ für das gesamte Gebiss ausgewertet (Ehlers et al. 2008; Kinane et al. 2003).

3.5 Dokumentation

3.5.1 Erhebungsbogen

Zur Erfassung des Gesundheitszustandes und der Anamnese füllte der Untersucher einen Erhebungsbogen aus, der die genauen Daten und allgemeinmedizinischen- sowie zahnmedizinischen Angaben eines jeden Patienten enthält.

Dieser Erhebungsbogen beinhaltete:

3.5.1.1 Dokumentation und Anamnese

- Eine fortlaufende Nummer, die jedem Patienten zugeordnet wurde
- Name, Vorname, Geburtsdatum
- Geschlecht
- Ethnie
- Größe
- Körpergewicht
- Familienanamnese
- Allgemeiner Zustand: gut, reduziert, schlecht
- Chronische Parodontitis bekannt Ja / Nein
- Alter zur Zeit der Erstmanifestation einer Parodontitis in Jahren

- Letzte Parodontitisbehandlung in Monaten
- Letzte professionelle Zahnreinigung in Monaten
- Statineinnahme Ja / Nein

3.5.1.2 Anamnese von Begleiterkrankungen, Medikamenteneinnahme und Lebensgewohnheiten

- Kardiologisch
- Pulmonal
- Diabetes mellitus
- Arterio-venöse Erkrankungen
- Hepatische Erkrankungen
- Neurologische Erkrankungen
- Allergien
- Medikamenteneinnahme
- Alkoholkonsum
- Tabakkonsum

3.5.1.3 Spezielle Anamnese und Befunde

- Schmerzen
- Schwellung
- Fistelung
- Purulente Exsudation
- Kieferklemme
- Parästhesie
- Auftreibung
- Zufallsbefund durch Röntgen mit OPTG / Einzelbild
- Fraktur
- Symptomlos

3.5.1.4 Zahnstatus und Parodontalstatus

- Untersuchung an allen Zähnen mit Dokumentation von Zahnstatus und Parodontalstatus.

3.5.1.5 Parodontitisform

- Unterschiede der Taschentiefenmessungen an den Entnahmestellen für Sulkusfluid und im gesamten Gebiss wurden verschiedenen Schweregraden der Parodontitis zugeordnet.

3.5.1.6 Flüssigkeitsmessung im Sulkusfluid

- Ablesbarer Messwert auf dem Periotron 8000® nach der ersten Messung der an dem Zahn entnommenen Flüssigkeitsmenge.
- Ablesbarer Messwert auf dem Periotron 8000® nach der zweiten Messung der an dem Zahn erneut entnommenen Flüssigkeitsmenge.

3.5.1.7 Zytokinkonzentration im Sulkusfluid

- Interleukin 6 (IL-6)
- Interleukin 8 (IL-8)
- Vascular Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF)
- Matrix Metalloproteinase 9 (MMP-9)

3.5.2 Befundbogen

Befundbogen (Abb.7) mit Zahnschema zur Messung des Gingivaindex (Loe und Silness 1963) und des Plaque Index nach Silness und Loe (Silness und Loe 1966) sowie der Sondierungstiefen (Pocket Depth = PD), die mit einer kalibrierten Parodontalsonde (Hu-Friedy® Manufacturing Co., Chicago, IL, U.S.A.) auf einen Millimeter genau dokumentiert wurden. Weiter wurden das Bluten auf Sondieren (Bleeding on Probing - BOP) und vorhandene Rezessionen in Millimetern sowie der klinische Attachmentlevel (CAL) in Millimetern erhoben.

vestibulär																		
OK	18	17	16	15	14	13	12	11	21	22	23	24	25	26	27	28		
Proben entnommen																		
Plaque-Index																		
ST (innen); GR (außen); BOP (rot)																		
Gingiva-Index																		
Gingiva-Index																		
ST (innen); GR (außen); BOP (rot)																		
Plaque-Index																		
Proben entnommen																		
UK	48	47	46	45	44	43	42	41	31	32	33	34	35	36	37	38		
Befund erhoben am:								vestibulär								Pat. ID:		

Abb. 7: Befundbogen

3.5.2.1 Zahnstatus

Vorhandene und nicht vorhandene Zähne wurden in das Zahnschema des Befundbogens eingetragen.

3.5.2.2 Parodontalstatus

Sondierungstiefe (PD)

Mit Hilfe einer Parodontalsonde (Hu-Friedy® Manufacturing Co., Chicago, IL, U.S.A.) wurde die Strecke zwischen Margo gingivalis und Sulkusboden gemessen (Maßeinheit in mm). Gemessen wurde an 6 Stellen je Zahn (mesial, mesio-bukkal, distal, disto-bukkal, vestibulär und oral); errechnet wurden die Durchschnittswerte (arithmetisches Mittel) aller Messpunkte eines Patienten.

Gingivale Rezession (GR)

Mit Hilfe einer Parodontalsonde wurde die Strecke zwischen Schmelz-Zement-Grenze und Margo gingivalis gemessen, Maßeinheit mm (Hellwig et al. 2010). Gemessen wurde an 4 Stellen je Zahn (mesial, distal, vestibulär und oral), daraus wurde der Durchschnittswert (arithmetisches Mittel) aller Messpunkte eines Patienten errechnet.

Klinischer Attachmentlevel (CAL)

Mit Hilfe einer Parodontalsonde wurde die Strecke zwischen Schmelz-Zement-Grenze und Sulkusboden gemessen, Maßeinheit in mm. Der klinische Attachmentlevel errechnete sich aus der Addition von GR + PD.

Blutung nach Sondieren (BOP)

Das Merkmal wurde bei der PD-Messung miterhoben. BOP wurde als positiv gewertet, wenn innerhalb von 10 Sekunden nach der Sondierung eine Blutung auftrat. Gemessen wurde an 4 Stellen je Zahn und dann der relative Anteil der BOP-positiven Messpunkte eines Patienten (0-100%) berechnet. Anzahl der blutenden Stellen x 100 Anzahl aller Messstellen ergab den Prozentwert (%) der Gingivitis.

Plaque Index (PI nach SILNESS und LÖE)

Der Plaque Index wird üblicherweise an allen Zähnen des Gebisses erhoben. Es wurde die Plaqueakkumulation quantitativ beurteilt. Die Messung erfolgte an vier Stellen (mesial, vestibulär, distal, oral) mit der Sonde. Die Plaquedicke am Gingivarand wurde in vier Grade unterteilt:

- Grad 0: Keine Plaque.
- Grad 1: Hauchdünner Belag, der klinisch nicht sichtbar ist, jedoch an der Sondenspitze haften bleibt.
- Grad 2: Bandförmige Beläge, die gingivanah angeheftet sind, den Interdentalraum aber nicht ausfüllen.
- Grad 3: Dickere Beläge, die mit bloßem Auge erkennbar sind und den Interdentalraum ausfüllen.

Der PI-Wert wurde errechnet, indem die Summe der Bewertungsziffern durch die Zahl der bewerteten Flächen geteilt wurde. Die Summe der Bewertungsziffern / Zahl der bewerteten Flächen ergab den PI.

Gingivaindex (GI nach SILNESS und LÖE)

Der Grad der gingivalen Entzündung wurde rein visuell an allen Zähnen des Gebisses erhoben und mit folgenden Graden bewertet:

- Grad 0: Entzündungsfreie Gingiva
- Grad 1: Geringe Entzündung mit leichten Farb- und Oberflächenveränderungen
- Grad 2: Mäßige Entzündung (mäßige Rötung und Schwellung)
- Grad 3: Schwere Entzündung (markante Rötung und Gewebevermehrung, Spontanblutungen der Gingiva, Ulzerationen)

Der Index beschreibt den Gingivitischweregrad, macht jedoch keine Aussage über die Progressionstendenz. Der GI-Wert wurde errechnet, indem die Summe der Bewertungsziffern durch die Zahl der bewerteten Flächen geteilt wurde. Die Summe der Bewertungsziffern / Zahl der bewerteten Flächen ergab den GI.

3.5.3 Einteilung der gewonnenen Daten

Erklärende Merkmale für den parodontalen Zustand:

- Der Entzündungszustand (BOP) ist klinisch relevant ab einer Differenz von 20%
- Gingivale Rezession (GR) in mm
- Die Sondierungstiefe (PD) klinisch relevant ab 1mm Differenz
- Klinischer Attachmentlevel (CAL)

Patienten mit einem durchschnittlichen Attachment-Verlust von > 5 mm werden als "fortgeschritten parodontal erkrankt" betrachtet. Die Parodontitis des Erwachsenen wird meist ab dem 35. Lebensjahr klinisch auffällig. Bei den zu untersuchenden Altersgruppen mit einem zu erwartenden Durchschnittsalter von mehr als 50 Jahren ist zu vermuten, dass nahezu alle Patienten an einer Erwachsenenparodontitis erkrankt sind. Ein Standard zur Differenzierung verschiedener Erkrankungsgrade existiert nicht. Daher wurde hier als „parodontal gesund“ eine Person ohne klinischen Attachment-Verlust oder ein klinischer Attachment-Verlust bis zu 2 mm definiert, wobei die parodontalen Sulki eine Tiefe von nicht mehr als 3 mm haben durften und die Sondierung ohne Blutungen bleiben musste. Als „parodontal erkrankt“ wurden Patienten betrachtet, die einen Attachment-Verlust von wenigstens 2 mm und Sondierungstiefen von wenigstens 3 mm aufweisen sowie nach der Sondierung bluten (Savage et al. 2009).

Risikofaktoren für den parodontalen Zustand:

- Der Plaque-Index (PI) als Merkmal für die Mundhygiene ist klinisch relevant ab einer Differenz von 20%.
- Der Gingiva-Index (GI) als Merkmal für die gingivale Entzündung ist klinisch relevant ab einer Differenz von 20%.

3.6 Vorbehandlung

Um eine entzündungsfreie und standardisierte Ausgangssituation der Gingiva zu erreichen, wurde bei allen Studienteilnehmern eine Woche vor Studienbeginn eine professionelle Zahnreinigung durchgeführt. Gleichzeitig wurden alle Teilnehmer darin unterwiesen, perfekte Mundhygiene zu unterhalten. Zu diesem Zweck wurde ihnen die modifizierte Putztechnik nach Bass erläutert. Nur dann, wenn ihre Mundhygiene auch ohne vorherige Unterweisung bereits nahezu perfekt war, wurden ihnen lediglich einige individuelle Ratschläge erteilt, die zur weiteren Perfektionierung der Hygiene dienten. Die Probanden wurden darüber informiert, sich nicht unmittelbar (bis zu 2 Stunden) vor der Probenentnahme, die eine Woche später erfolgte, die Zähne zu putzen. Die Mundhygiene wurde eine Woche vor der Probenentnahme anhand des Plaque-Index nach Silness und Loe (Silness und Loe 1966) sowie des Gingiva-Index nach Silness und Loe (Loe und Silness 1963) durch einen vorher trainierten und kalibrierten Untersucher kontrolliert.

3.7 Gewinnung der gingivalen Sulkusflüssigkeit

Gingivale Sulkusflüssigkeit wurde an den mesiobukkalen Stellen der Zähne 16, 26, 36 sowie 46 gewonnen. Wenn bei einem Studienteilnehmer einer der genannten Zähne fehlte, wurde der in dem Quadranten vorhandene siebte Molar oder fünfte Prämolare mit in die Erhebung einbezogen. Vor der Gewinnung der Sulkusflüssigkeit wurde das Zielgebiet mit Watterollen relativ trockengelegt und mittels eines zahnärztlichen Luftbläfers für 5 Sekunden bei leichtem Luftstrom, der im Winkel von 90 Grad auf die Zahnoberflä-

che gerichtet wurde, getrocknet. Eine aktuelle Arbeit konnte zeigen, dass das Vorhandensein von Plaque keinen Einfluss auf das so gesammelte Sulkusfluidvolumen hat (Deinzer et al. 2000). Ein Periopaper Streifen (Periopaper[®], Pro Flow[™]Incorporated, Amville, NewYork) wurde mesio-bukkal in den gingivalen Sulkus vorgeschoben bis ein leichter Widerstand zu spüren war und verblieb dort für 30 Sekunden (Chapple et al. 1993; Kiili et al. 2002). Das vom Periopaper aufgesogene Flüssigkeitsvolumen wurde mit dem Periotron[®] 8000 (Harco, New York, NY, USA) bestimmt, welches vorher von drei verschiedenen Untersuchern mit den unterschiedlichen Testflüssigkeiten Speichel, NaCl 0.9% und Kälber-Serum kalibriert wurde (Chapple et al. 1999) (Abb.8) (Saidowa 2011). Die Zuverlässigkeit dieser Messmethode ist sehr gut; Messwiederholungen innerhalb von 5 Minuten erbrachten eine Re-Test Korrelation von $r_{tt} > 0.80$ (Deinzer et al. 2000). Mit Blut sichtbar kontaminierte Periopaper wurden noch vor der Volumenmessung verworfen. Direkt nach der Volumenbestimmung wurden die Periopaper-Streifen in ein mit 500 μ l PBS-Puffer gefülltes Reaktionsgefäß verbracht.

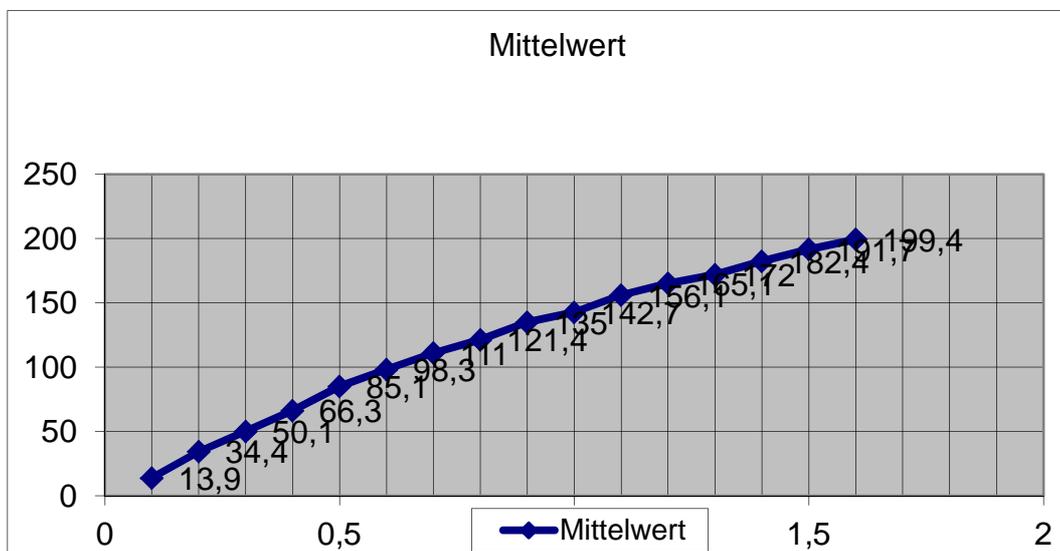


Abb. 8: Kalibrierungskurve Periotron[®] 8000 mit den Mittelwerten aus den Testflüssigkeiten Speichel, NaCl 0,9% und Serum in μ l, mit freundlicher Genehmigung von Frau Dr. Asisa Friedmann (Saidowa 2011).

3.8 Immunoassays

3.8.1 Quantikine[®] Human IL-6 / CXCL8/IL-8 Immunoassays

Das Quantikine[®] Human IL-6 Kit ist ein 4,5 Stunden Festphasen-ELISA Immunoassay um IL-6 in den Überständen von Zellkultur, Serum und Plasma nachzuweisen. Es enthält rekombinantes humanes IL-6 und Antikörper gegen rekombinantes humanes IL-6 und kann den rekombinanten Faktor quantifizieren. Testergebnisse mit natürlichem IL-6 zeigten lineare Kurven. Diese Ergebnisse zeigten, dass das Quantikine[®] Human IL-6-Immunoassay-Kit verwendet werden kann, um relative Messwerte für natürliches menschliches IL-6 zu bestimmen. Es wurde beobachtet, dass die Messung von IL-6 unempfindlich für die rekombinante Form des IL-6 löslichen Rezeptors ist. Daher ist es wahrscheinlich, dass die experimentellen Messungen von Proben die Gesamtmenge des vorhanden IL-6 widerspiegeln, das heisst die Summe der Menge des freien IL-6, plus des an lösliche Rezeptoren gebundenen IL-6. Hohe Konzentrationen von hochaffinen Autoantikörpern gegen IL-6 wurden im Serum von einigen Blutspendern gefunden. Solche Autoantikörper haben das Potential die Messung von IL-6 mittels ELISA-Immunoassays verändert darzustellen.

Das Quantikine[®] Human CXCL-8/IL-8 Kit ist ein 3,5 Stunden Festphasen ELISA Immunoassay um humanes IL-8 in den Überständen von Zellkultur, Serum und Plasma nachzuweisen. Es ist auf der Basis von Antikörpern gegen die 72 Aminosäuren-Variante des humanen IL-8 aus E. coli entwickelt worden. Es kann rekombinantes humanes IL-8 quantifizieren. Autoantikörper gegen IL-8 sowie Immunkomplexe gegen IL-8 wurden im Serum von Gesunden beobachtet. Es ist noch nicht erwiesen, ob diese Autoantikörper das Potential haben, die Messung von IL-8 mittels ELISA-Immunoassays verändert darzustellen.

3.8.1.1 Testprinzip

Diese Assays nutzen die quantitative Sandwich-Enzymimmunoassay-Technik. Ein monoklonaler Antikörper, der spezifisch für IL-6 oder IL-8 ist, wurde auf Mikrotiterplatten vorbeschichtet. Standards und Proben wurden in die Vertiefungen des Wells pipettiert

und vorhandenes IL-6 / IL-8 von dem immobilisierten Antikörper gebunden. Durch Waschen wurden alle ungebundenen Substanzen entfernt und ein Enzym-linked polyklonaler Antikörper, der spezifisch für IL-6 / IL-8 ist, in die Vertiefungen gegeben. Nach einem weiteren Waschschrift zur Entfernung von nicht gebundenem Antikörper-Enzym-Reagenz wurde eine Substratlösung in die Vertiefungen hinzugefügt, die Farbe im Verhältnis zu der Menge von IL-6 / IL-8 entwickelt. Die Farbentwicklung wird gestoppt und die Intensität der Farbe anschließend gemessen.

3.8.1.2 Probenentnahme und Lagerung

Die acht Reaktionsgefäße eines Probanden, die die Periopaper[®] je eines Zahns enthielten, wurden unmittelbar nach der Entnahme zehn Sekunden geschüttelt und dann bei 5800 Umdrehungen pro Minute für 5 Minuten zentrifugiert bevor die Periopaper Streifen entfernt wurden. Die Proben wurden innerhalb von 5 Minuten nach der Zentrifugation bei -80°C bis zur biochemischen Analyse aufbewahrt. Wiederholtes Einfrieren und Auftauen wurde vermieden. Zellüberstände wurden vor der Analyse entfernt.

3.8.1.3 Reagenzvorbereitung

Alle Reagenzien wurden vor Gebrauch auf Raumtemperatur gebracht. Der Waschpuffer wurde, sobald sich Kristalle im Konzentrat gebildet hatten, auf Raumtemperatur erwärmt und leicht gemixt, bis sich die Kristalle vollständig aufgelöst haben. 20 ml des Waschpufferkonzentrates wurden mit deionisiertem oder destilliertem Wasser zur Herstellung von 500 ml Waschpuffer verdünnt. Die Substratlösung – die Farb-Reagenzien A und B wurden gemeinsam in gleichen Volumina gemischt, innerhalb von 15 Minuten verwendet und vor Licht geschützt. 200 ml der resultierenden Mischung waren pro Well erforderlich. Der IL-6 Standard wurde mit Calibrator Diluent RD6F (für Serum / Plasma Proben) vorbereitet. Beim Ansetzen entsteht eine Stammlösung von 300 pg/ml, die für 15 Minuten nur leicht geschüttelt wurde, bevor Verdünnungen vorgenommen wurden. Mit einer Pipette wurden 333 μl der entsprechenden Calibrator Diluent in die 100 pg/ml Röhren gegeben und weiter 500 μl des Lösungsmittels in jede verbleibende Röhre. Die Stammlösung wurde zu einer Verdünnungsreihe verarbeitet (Abb.9).

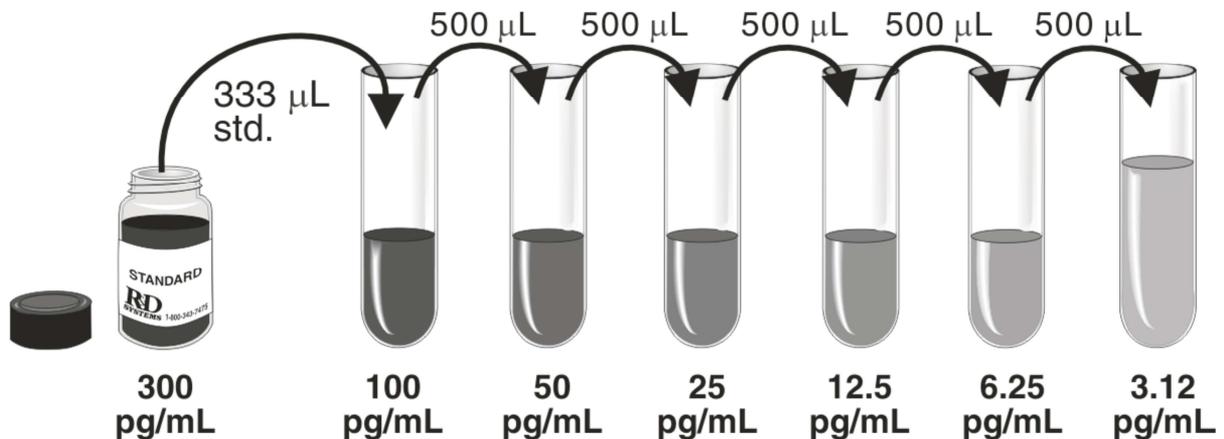


Abb. 9: **Quantikine® Human IL-6 Verdünnungsreihe (Herstellerangaben R&D Systems, Inc.)**

Jedes Rührchen wurde gründlich gemixt, bevor Flüssigkeit zum nächsten Rührchen übertragen wurde. Der unverdünnte Standard diente als hoher Standard (300 pg/ml). Das entsprechende Lösungsmittel diente als Null-Standard (0 pg/ml). 20 ml Calibrator Diluent RD5P- Konzentrat wurden zu 80 ml deionisiertem oder destillierten Wasser gegeben, um 100 ml Calibrator Diluent RD5P zu erhalten. Der IL-8 Standard wurde mit 5.0 ml Calibrator Diluent RD6Z (für Serum / Plasma Proben) vorbereitet. Beim Ansetzen entsteht eine Stammlösung von 2000 pg/ml, die für 15 Minuten nur leicht geschüttelt wurde, bevor Verdünnungen vorgenommen wurden. Mit einer Pipette wurden 500 µl der entsprechenden Calibrator-Diluent RD6Z in die 100 pg/ml Rührchen gegeben und weitere 500 µl des Lösungsmittels in jede verbleibende Röhre. Die Stammlösung wurde zu einer Verdünnungsreihe verarbeitet. Jedes Rührchen wurde vor der Weiterverarbeitung gründlich geschüttelt. Der unverdünnte Standard diente als der hohe Standard (2000 pg/ml). Der entsprechende Calibrator-Diluent diente als Null-Standard (0 pg/ml) (Abb.10).

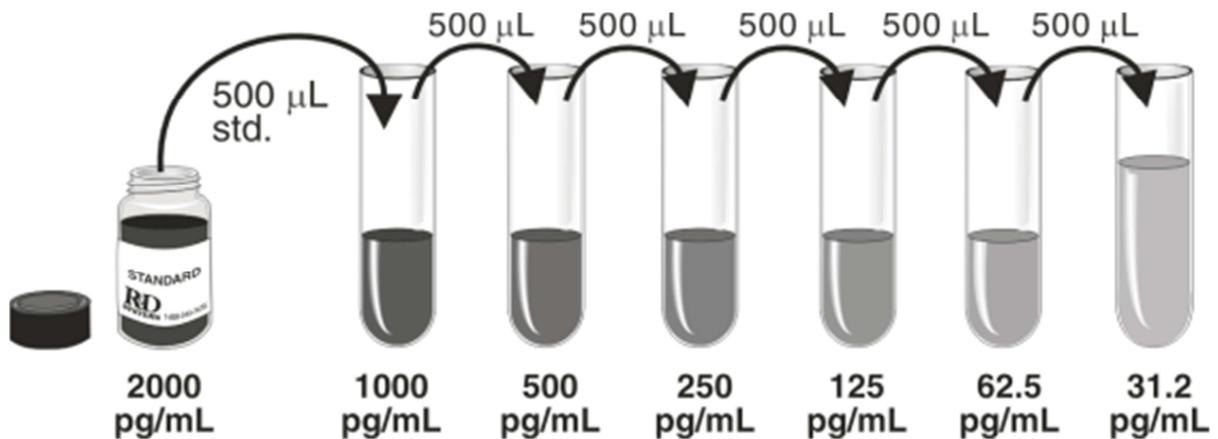


Abb. 10: **Quantikine® Human IL-8 Verdünnungsreihe (Herstellerangaben R&D Systems, Inc.)**

3.8.1.4 Testdurchführung

Alle Reagenzien und Proben wurden auf Raumtemperatur gebracht. Sämtliche getesteten Proben, Standards und Kontrollen wurden dupliziert. Überschüssige Mikrotiterplattenstreifen wurden vom Gestell der Platte entfernt und in den Folienbeutel mit dem Trocknungsmittel wiederverpackt und verschlossen.

Für die Analyse von IL-6 wurden 100 µl Probendiluent RD1W in jede Vertiefung pipettiert. 100 µl Standard, Probe und Kontrolle wurden anschließend in jede Vertiefung gegeben. Das Well wurde nach dem Pipettieren mit dem zur Verfügung gestellten Klebestreifen zur Inkubation für 2 Stunden bei Raumtemperatur verschlossen. Eine Platte Layout war vorgesehen, um die getesteten Standards und Proben zu dokumentieren. Aus allen Vertiefungen wurde die Flüssigkeit aspiriert, die Platte gewaschen und der Vorgang anschließend dreimal für insgesamt vier Waschgänge wiederholt. Das Waschen erfolgte mit Waschpuffer (400 µl), der in jedes Well gegeben wurde. Nach dem letzten Waschen wurden alle Reste von Waschpuffer durch Aspirieren entfernt, die Platte umgedreht und gegen saubere Papiertücher getupft. Anschließend erfolgte die Gabe von 200 µl IL-6 Konjugat in jede Vertiefung. Das Well wurde mit dem zur Verfügung gestellten Klebestreifen zur Inkubation für 2 Stunden bei Raumtemperatur verschlossen.

Aus allen Vertiefungen wurde erneut die Flüssigkeit aspiriert, die Platte gewaschen und der Vorgang anschließend dreimal für insgesamt vier Waschgänge wiederholt. 200 µL der Substratlösung wurde in jede Vertiefung des Well gegeben und mit einem Klebestreifen verschlossen. Die Inkubation unter Lichtschutz erfolgte für 20 Minuten bei Raumtemperatur.

Für IL-8 wurden 100 µl Probendiluent RD-85 in jede Vertiefung pipettiert. 50 µl Standard, Probe und Kontrolle anschließend in jede Vertiefung gegeben. Das Well wurde nach dem Pipettieren mit dem zur Verfügung gestellten Klebestreifen zur Inkubation für 2 Stunden bei Raumtemperatur verschlossen. Eine Platte Layout war vorgesehen, um die getesteten Standards und Proben zu dokumentieren. Aus allen Vertiefungen wurde die Flüssigkeit aspiriert, die Platte gewaschen und der Vorgang anschließend dreimal für insgesamt vier Waschgänge wiederholt. Das Waschen erfolgte mit Waschpuffer (400 µl) der in jedes Well gegeben wurde. Nach dem letzten Waschen wurden alle Reste von Waschpuffer durch Aspirieren entfernt, die Platte umgedreht und gegen saubere Papiertücher getupft. Anschließend erfolgte die Gabe von 100 µl IL-8 Konjugat in jede Vertiefung. Das Well wurde mit dem zur Verfügung gestellten Klebestreifen zur Inkubation für 1 Stunde bei Raumtemperatur verschlossen. Aus allen Vertiefungen wurde erneut die Flüssigkeit aspiriert, die Platte gewaschen und der Vorgang anschließend dreimal für insgesamt vier Waschgänge wiederholt. 200 µl der Substratlösung wurde in jede Vertiefung des Well gegeben und mit einem Klebestreifen verschlossen. Die Inkubation unter Lichtschutz erfolgte für 30 Minuten bei Raumtemperatur.

Dann wurden 50 µl der Stopplösung in jede Vertiefung gegeben. Die Farbe in den Vertiefungen sollte sich von blau in gelb ändern. Wenn sich die Farbe in den Vertiefungen grün färbte oder sich die Farbe nicht änderte, konnte durch vorsichtiges Antippen der Platte, eine vollständige Durchmischung erfolgen. Die Bestimmung der optischen Dichte jeder Vertiefung erfolgte innerhalb von 30 Minuten, mit einem Mikroplatten-Lesegerät, das auf eine Wellenlänge von 540 nm eingestellt wurde.

3.8.1.5 Berechnung der Ergebnisse

Vom Durchschnitt der doppelten Messungen von jedem Standard, jeder Kontrolle und jeder Probe wurde der durchschnittliche Null-Standard der optischen Dichte subtrahiert.

Durch die Reduzierung der Daten mittels Computer-Software, die geeignet zur Erzeugung einer vier-parametrischen logistischen Regression (4-PL)/Kurvenanpassung ist, konnte eine Standardkurve erstellt werden. Die abzulesenden Konzentrationen aus der Standardkurve mussten bei verdünnten Proben mit dem Verdünnungsfaktor multipliziert werden. Eine Standardkurve wurde für jeden Probensatz erstellt.

3.8.1.6 Sensitivität

Die minimale nachweisbare Menge von IL-6 beträgt mit dem Quantikine® Test-Kid laut Herstellerangaben (R&D Systems, Inc.) weniger als 0,70 pg/ml.

Die minimale nachweisbare Menge von IL-8 beträgt mit dem Quantikine® Test-Kid laut Herstellerangaben (R&D Systems, Inc.) weniger als 3,5 pg/ml.

3.8.1.7 Spezifität

Der Test für IL-6 erkennt sowohl natürliches als auch rekombinantes humanes IL-6. Die im Folgenden aufgeführten Faktoren wurden in Größenordnungen von 50 ng/ml in Calibrator Diluent RD5T und 100 ng/mL in Calibrator Diluent RD6F vorbereitet und auf Kreuzreaktivität getestet. Die vorbereiteten Faktoren von 50 ng/ml in Calibrator Diluent RD5T und einer Mid-Range-rhIL-6-Kontrolle sowie von 100 ng/ml in Calibrator Diluent RD6F und einer Mid-Range-rhIL-6-Kontrolle, wurden auf Interferenz untersucht. Es war keine signifikante Kreuzreaktivität oder Interferenz zu beobachten.

Der Test für IL-8 erkennt sowohl natürliches als auch rekombinantes humanes IL-8. Verschiedenste Faktoren und Zytokine wurden in Größenordnungen von 50 ng/ml in Calibrator Diluent vorbereitet und auf Kreuzreaktivität getestet. Die vorbereiteten Faktoren von 50 ng/ml in einer Mid-Range-rhIL-8-Kontrolle wurden auf Interferenz untersucht. Es war keine signifikante Kreuzreaktivität oder Interferenz zu beobachten.

3.8.2 Quantikine[®] Human VEGF / MMP-9 Immunoassays

Das Quantikine[®] Human VEGF Kit ist ein 4,5 Stunden Festphasen ELISA Immunoassay, um humanes VEGF in den Überständen von Zellkultur, Serum und Plasma nachzuweisen. Es ist auf der Basis von Antikörpern gegen das Protein und enthält Sf 21-expressed rekombinantes humanes VEGF. Es kann rekombinantes humanes VEGF genau quantifizieren.

Das Quantikine[®] Human MMP-9 Kit ist ein 3,5 Stunden Festphasen ELISA Immunoassay zur Quantifizierung von humanem MMP-9 in den Überständen von Zellkultur, Serum und Plasma. Es wurde mit von CHO-Zellen exprimiertem rekombinatem menschlichen Pro-MMP-9 kalibriert, und die Antikörper reagieren auf den rekombinanten Faktor. Natürliches Human-MMP-9 zeigte Dosis-Wirkungs-Kurven, die parallel zu der Standard-Kurve waren, unter Verwendung des rekombinanten Faktors des Quantikine Kit Standards, was darauf hinweist, dass zuverlässig rekombinantes und humanes VEGF genau quantifiziert werden kann.

3.8.2.1 Testprinzip

Diese Assays nutzen die quantitative Sandwich-Enzymimmunoassay-Technik. Ein monoklonaler Antikörper, der spezifisch für VEGF / MMP-9 ist, wird auf Mikrotiterplatten vorbeschichtet. Standards und Proben werden in die Vertiefungen der Wells pipettiert und vorhandenes VEGF /MMP-9 von dem immobilisierten Antikörper gebunden. Durch Waschen wurden alle ungebundenen Substanzen entfernt und ein Enzym-linked polyklonaler Antikörper, der spezifisch für VEGF / MMP-9 ist, in die Vertiefungen gegeben. Nach einem weiteren Waschschrift zur Entfernung von nicht gebundenem Antikörper-Enzym-Reagenz, wurde eine Substratlösung in die Vertiefungen hinzugefügt, die Farbe im Verhältnis zu der Menge von VEGF / MMP-9 entwickelt. Die Farbentwicklung wird gestoppt und anschließend die Intensität der Farbe gemessen.

3.8.2.2 Probenentnahme und Lagerung

Die Probenentnahme und Lagerung erfolgte wie in Kap. 3.8.1.2 beschrieben.

3.8.2.3 Reagenzvorbereitung

Alle Reagenzien wurden vor Gebrauch auf Raumtemperatur gebracht. 20 ml des Waschpufferkonzentrates wurden mit deionisiertem oder destilliertem Wasser zur Herstellung von 500 ml Waschpuffer verdünnt. Die Substratlösung – die Farb-Reagenzien A und B wurden gemeinsam in gleichen Volumina gemischt, innerhalb von 15 Minuten verwendet und vor Licht geschützt. 200 ml der resultierenden Mischung waren pro Wells erforderlich.

MMP-9 Standard wurde zu 1,0 ml deionisiertem oder destilliertem Wasser gegeben, um Calibrator Diluent RDS-10 zu erhalten. Beim Ansetzen entsteht eine Stammlösung von 20 ng/ml, die für 15 Minuten nur leicht geschüttelt wurde, bevor Verdünnungen vorgenommen wurden. Mit einer Pipette wurden 500 µl der entsprechenden Calibrator-Diluent RDS-10 in die Röhrchen gegeben und weitere 500 µl des Lösungsmittels in jede verbleibende Röhre. Die Stammlösung wurde zu einer Verdünnungsreihe verarbeitet. Jedes Röhrchen wurde vor der Weiterbearbeitung gründlich geschüttelt. Der unverdünnte Standard diente als der hohe Standard (20 ng/ml). Der entsprechende Calibrator-Diluent diente als Null-Standard (0 pg/ml) (Abb.11).

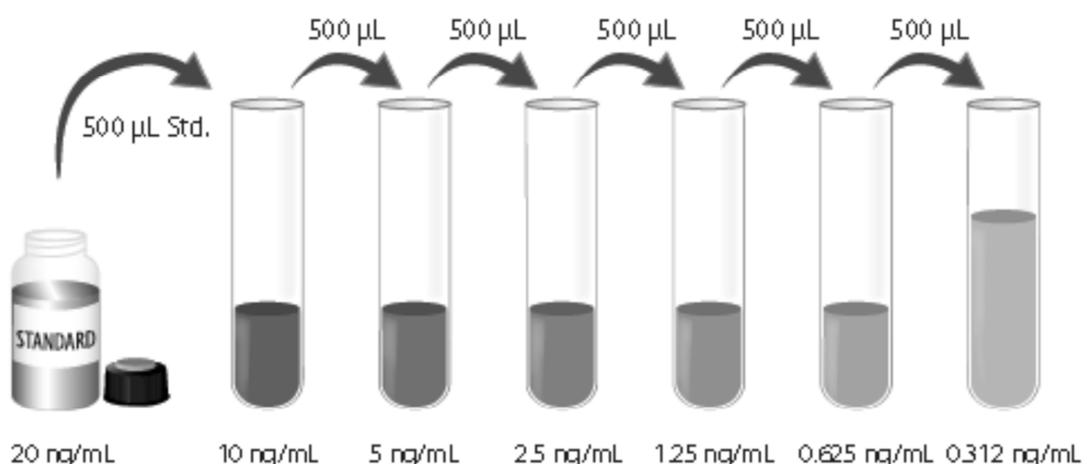


Abb. 11: **Quantikine® Human MMP-9 Verdünnungsreihe (Herstellerangaben R&D Systems, Inc.)**

Der VEGF Standard wurde mit 1,0 ml Calibrator Diluent RD6U zu einer Stammlösung mit einer Konzentration von 2000 pg/ml angesetzt, die für 15 Minuten nur leicht geschüttelt wurde, bevor Verdünnungen vorgenommen wurden. Mit einer Pipette wurden 500 µl der entsprechenden Calibrator-Diluent RD6U in die Röhrchen gegeben und weitere 500 µl des Lösungsmittels in jede verbleibende Röhre. Die Stammlösung wurde zu einer Verdünnungsreihe verarbeitet. Jedes Röhrchen wurde vor der Weiterbearbeitung gründlich geschüttelt. Der unverdünnte Standard diente als der hohe Standard (2000 pg/ml). Der entsprechende Calibrator-Diluent RD6U diente als Null-Standard (0 pg/ml) (Abb.12).

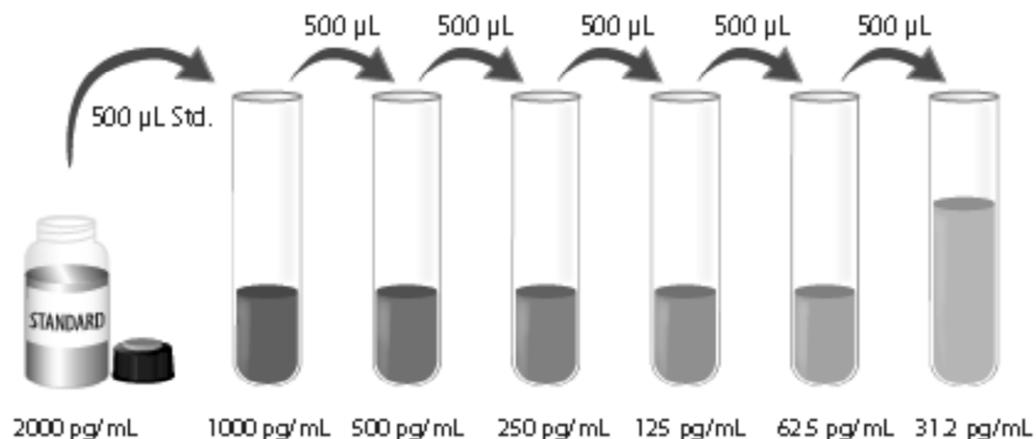


Abb. 12: **Quantikine® Human VEGF Verdünnungsreihe (Herstellerangaben R&D Systems, Inc.)**

3.8.2.4 Testdurchführung

Alle Reagenzien und Proben wurden auf Raumtemperatur gebracht. Sämtliche getesteten Proben, Standards und Kontrollen wurden dupliziert.

100 µl Probendiluent RD1-34 / RD1W in jede Vertiefung pipettiert. 100 µl Standard, Probe und Kontrolle anschließend in jede Vertiefung gegeben. Das Well wurde nach dem Pipettieren mit dem zur Verfügung gestellten Klebestreifen zur Inkubation für 2 Stunden bei Raumtemperatur verschlossen. Eine Platte Layout war vorgesehen, um die getesteten Standards und Proben zu dokumentieren. Aus allen Vertiefungen wurde die Flüssigkeit aspiriert, die Platte gewaschen und der Vorgang anschließend dreimal für

insgesamt vier Waschgänge wiederholt. Das Waschen erfolgte mit Waschpuffer (400 µl) der in jedes Well gegeben wurde. Nach dem letzten Waschen wurden alle Reste von Waschpuffer durch Aspirieren entfernt, die Platte umgedreht und gegen saubere Papiertücher getupft. Anschließend erfolgte die Gabe von 200 µL MMP-9 / VEGF Konjugat in jede Vertiefung. Das Well wurde mit dem zur Verfügung gestellten Klebestreifen zur Inkubation für 1 Stunde / 2 Stunden bei Raumtemperatur verschlossen. Aus allen Vertiefungen wurde erneut die Flüssigkeit aspiriert, die Platte gewaschen und der Vorgang anschließend dreimal für insgesamt vier Waschgänge wiederholt. 200 µl der Substratlösung wurde in jede Vertiefung des Well gegeben und mit einem Klebestreifen verschlossen. Die Inkubation unter Lichtschutz erfolgte für 30 Minuten bei Raumtemperatur. Dann wurden 50 µl der Stopplösung in jede Vertiefung gegeben. Die Farbe in den Vertiefungen sollte sich von blau in gelb ändern. Wenn sich die Farbe in den Vertiefungen grün färbte oder sich die Farbe nicht änderte, konnte durch vorsichtiges Antippen der Platte, eine vollständige Durchmischung erfolgen. Die Bestimmung der optischen Dichte jeder Vertiefung erfolgte innerhalb von 30 Minuten, mit einem Mikroplatten-Lesegerät das auf eine Wellenlänge von 540 nm eingestellt wurde.

3.8.2.5 Berechnung der Ergebnisse

Vom Durchschnitt der doppelten Messungen jedes Standards, jeder Kontrolle und jeder Probe wurde der durchschnittliche Null-Standard der optischen Dichte subtrahiert. Durch die Reduzierung der Daten mittels Computer-Software, die geeignet zur Erzeugung einer vier-parametrischen logistischen Regression (4-PL)/Kurvenanpassung ist, konnte eine Standardkurve erstellt werden. Die abzulesenden Konzentrationen aus der Standardkurve mussten bei verdünnten Proben mit dem Verdünnungsfaktor multipliziert werden. Eine Standardkurve wurde für jeden Probensatz erstellt.

3.8.2.6 Sensitivität

Die minimale nachweisbare Menge von MMP-9 beträgt mit dem Quantikine® Test-Kid laut Herstellerangaben (R&D Systems, Inc.) weniger als 0,156 ng/ml.

Die minimale nachweisbare Menge von VEGF beträgt mit dem Quantikine® Test-Kid laut Herstellerangaben (R&D Systems, Inc.) weniger als 0,5 pg/ml.

3.8.2.7 Spezifität

Der Test für MMP-9 erkennt rekombinantes (92kDa) und humanes (82kDa) MMP-9. Verschiedenste Faktoren wurden in Größenordnungen von 100-200 ng/ml in Calibrator Diluent vorbereitet und auf Kreuzreaktivität getestet. Es war keine signifikante Kreuzreaktivität oder Interferenz zu beobachten.

Der Test für VEGF erkennt natürliches humanes als auch rekombinantes VEGF. Verschiedenste Faktoren wurden in Größenordnungen von 50 ng/ml in Calibrator Diluent vorbereitet und auf Kreuzreaktivität getestet. Es war keine signifikante Kreuzreaktivität oder Interferenz zu beobachten.

3.9 Auswertung der Klinischen Parameter

Die einzelnen Messwerte wurden in SPSS Statistics 19 eingegeben. Für die Auswertung und statistische Berechnung wurden Einzelmessungen und Mittelwerte der bei jedem Patienten gemessenen klinischen Parameter verwendet. Werte für Geburtsdatum, Größe, Gewicht, Plaque- und Gingivaindex nach Sillness und Loe, Taschentiefen, Bleeding on Probing, CAL-Attachment-Verlust, Periotronwerte, IL-6, -8, MMP-9, VEGF und die weiteren erhobenen Messwerte wurden aus den Befundbögen in die Tabelle eingegeben.

3.10 Statistik

Die statistische Auswertung erfolgte mit dem Statistikprogramm SPSS Statistics 19. Die grafische Darstellung der Mediane erfolgte mit den in SPSS verfügbaren Diagrammen. Für den Nachweis einer signifikanten Korrelation unter den Messwerten wurden aufgrund einer zuvor bestimmten fehlenden Normalverteilung nicht-parametrische Tests angewendet. Der Mann-Whitney-U-Test für unverbundene Stichproben wurde zur Bestimmung des Signifikanzniveaus durchgeführt und die Quartile 25% und 75% mit angegeben. Aufgrund des Problems des multiplen Testens (4 primäre Endpunkte) wurde eine Bonferroni Korrektur vorgenommen und das Signifikanzniveau auf von 5% auf 1,25% ($p < 0,0125$) gesenkt. Zusätzlich wurde der Rangsummentest nach Spearman als Test auf zweiseitige Korrelationen der einzelnen Messergebnisse durchgeführt.

4 Ergebnisse

4.1 Allgemeine Anamnese der Patienten

Das Alter der Patienten betrug in beiden Gruppen im Median 66 Jahre (Quartilen = Q25: 68 / Q75: 60) und war für jedes Paar der Fall-Kontroll-Studie in Geburtsjahr und Geschlecht identisch. Der BMI lag in der Gruppe mit Simvastatin-Einnahme im Median bei 25,40 (Q25: 24,27 / Q75: 28,19). Für die Männer mit Simvastatin-Einnahme betrug der BMI im Median 25,08 für die Frauen 25,40. Für die Gruppe ohne Simvastatin-Einnahme betrug der BMI im Median 25,52 (Q25: 24,24 / Q75: 28,39). Für die Männer lag der Median des BMI bei 26,46, für die Frauen bei 24,31. Es konnte anhand des Mann-Whitney-U-Tests bei unabhängigen Stichproben kein signifikanter Unterschied zwischen Statin-Dosis und BMI sowie dem Geschlecht festgestellt werden (Abb.13).

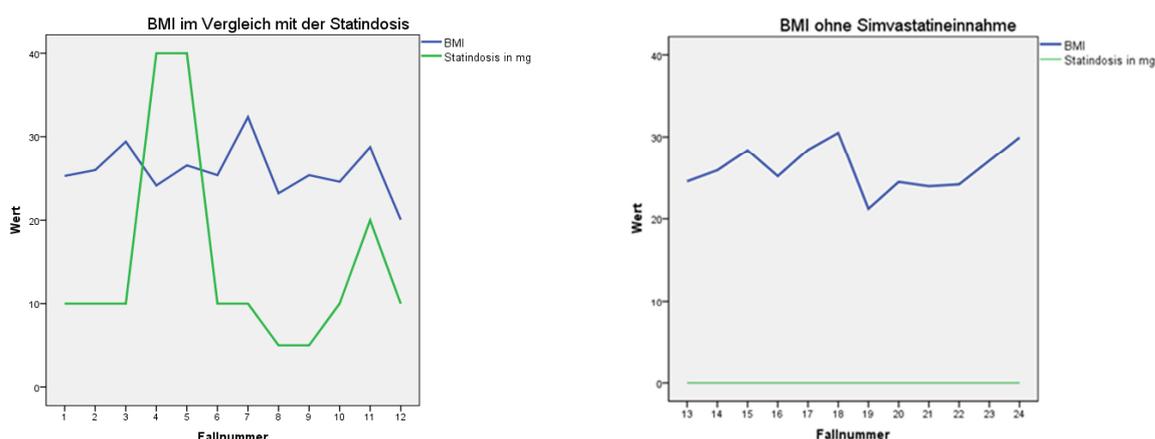


Abb. 13: **Der BMI mit und ohne Simvastatin-Einnahme**

Der allgemeine Zustand mit den Abstufungen gut, reduziert und schlecht wurde als gut von allen Patienten angegeben (Tab.2).

Tab. 2 **Allgemeinerkrankungen I bei Patienten mit und ohne Simvastatin-Einnahme**

Simvastatin-Einnahme: Ja / Nein			Allgemeiner Zustand	Kardiologische Erkrankungen			Pulmonale Erkrankungen	
				gut	nein	ja, Hypertonus	ja, Herzklappenfehler	nein
Ja	Geschlecht	Männlich	6	4	1	1	5	1
		Weiblich	6	5	1	0	6	0
	Gesamt		12	9	2	1	11	1
nein	Geschlecht	Männlich	6	5	1	0	6	0
		Weiblich	6	6	0	0	6	0
	Gesamt		12	11	1	0	12	0

Unter den Patienten mit Simvastatin-Einnahme gaben je ein männlicher Proband und eine weibliche Probandin einen leichten Hypertonus an, ein Proband wies einen Herzklappenfehler, der keiner antibiotischen Prophylaxe bedurfte, auf. In der Kontrollgruppe gab ein Proband einen leichten Hypertonus an. Nur ein Proband aus der Gruppe mit Simvastatin-Einnahme war an einer Tuberkulose erkrankt, die bereits ausgeheilt war.

Tab. 3 **Allgemeinerkrankungen II bei Patienten mit und ohne Simvastatin-Einnahme**

Simvastatin-Einnahme: Ja / Nein		Diabetes mellitus		Arterio-Venöse Verschlusskrankheit	Hepatische Erkrankungen	Neurologische Erkrankungen	
		nein	Ja, Typ 2				nein
Ja	Geschlecht	Männlich	5	1	6	6	6
		Weiblich	6	0	6	6	6
	Gesamt	11	1	12	12	12	
Nein	Geschlecht	Männlich	6	0	6	6	6
		Weiblich	6	0	6	6	6
	Gesamt	12	0	12	12	12	

Ein Proband unter Simvastatin-Einnahme litt an Diabetes mellitus Typ 2, der mit Metformin-Gaben eingestellt war. Keiner der Probanden litt an einer arterio-venösen Verschlusskrankheit, einer hepatischen oder einer neurologischen Erkrankung. Nichtbeantwortung wurde als Nein gewertet (Tab.3).

Tab. 4 **Allgemeinerkrankungen III bei Patienten mit und ohne Simvastatin-Einnahme**

Simvastatin-Einnahme: Ja / Nein		Alkoholabusus		Tabakkonsum		
		ja, 1-2 Gläser Wein am Tag	nein	ja	nein	
Ja	Geschlecht	Männlich	3	3	1	5
		Weiblich	4	2	0	6
	Gesamt	7	5	1	11	
Nein	Geschlecht	Männlich	5	1	0	6
		Weiblich	4	2	1	5
	Gesamt	9	3	1	11	

Der Tabakkonsum betrug in beiden Gruppen 8,3%, wovon in der Statin-Gruppe ein Proband und in der Kontrollgruppe eine Probandin nicht mehr als 5 Zigaretten am Tag rauchten. Der regelmäßige Konsum von Alkohol konnte mit Nein: „kein Alkoholkonsum“ und Ja: „regelmäßiger Alkoholkonsum“ beantwortet werden. Um den Alkoholkonsum und die Gefährdungsgrenze definieren zu können, wurden die Probanden weiter nach „1-2 Gläser Wein am Tag“ und „mehr als 1-2 Gläser Wein am Tag“ befragt (Anderson 1990). 58,3% der Patienten der Statin-Gruppe bejahten die Frage im Vergleich zu 75% positiven Antworten der Kontrollgruppe-Patienten, wobei kein Proband eine größere Trinkmenge als „1-2 Gläser Wein am Tag“ angab (Tab.4).

Tab. 5 Allgemeinerkrankungen VI bei Patienten mit und ohne Simvastatin-Einnahme

Simvastatin-Einnahme: Ja / Nein	Geschlecht	Allergien	Häufigkeit	Prozent
Ja	Männlich	ja (Birken/Pollen), (Penicillin, Pollen, Lebensmittel)	2	33,3%
	Weiblich	ja (Hausstaub, Katzenhaare, Haselnüsse, Pfifferlinge), (Heuschnupfen, Schuppenflechte)	2	33,3%
nein	Männlich	ja (Pollen Gräser, Birke, Katzenhaar, Aspirin)	1	16,7%
	Weiblich	ja (Myrrhe),(Penicillin),(Konservierungsstoffe, Erdbeeren)	3	50,0%
Gesamt			8	33,3%

Allergien wurden von jeweils 4 Probanden in der Simvastatin-Gruppe und der Gruppe ohne Simvastatin-Einnahme angegeben. In beiden Gruppen sowie insgesamt litten 33,3% der Probanden unter Atopien. Dabei handelte es sich um Allergien gegen Birken, Penicillin, Pollen, Lebensmittel, Hausstaub, Katzenhaare, Haselnüsse, Pfifferlinge, Heuschnupfen, Gräser, Aspirin, Myrrhe, Konservierungsstoffe und Erdbeeren (Tab.5).

4.2 Statineinnahme und Einnahmezeitraum

Der Median der Simvastatin-Dosis betrug 10 mg (Q25: 10,00 / Q75: 17,50) und war für beide Geschlechter in der Statin-Gruppe gleich. 58,3% nahmen eine tägliche Dosis von 10 mg, 16,7 % 5 mg, 16,7 % 40 mg und 8,3 % 20 mg Simvastatin, mit einer Einnahmezeit im Median von 22 Monaten (Tab.6).

Tab. 6 Simvastatin-Dosis und Einnahmezeitraum

	Statindosis in mg	Einnahmezeit in Monaten	Statindosis in mg	Häufigkeit	Prozent
Patienten: 12			5	2	16,7
Median	10	22	10	7	58,3
			20	1	8,3
			40	2	16,7
			Gesamt	12	100

4.3 Gingiva- und Parodontal-Indices

4.3.1 Letzte Parodontitis-Therapie, PZR in Monaten und Erstmanifestation der Parodontitis in Jahren

Patienten mit Simvastatin-Einnahme zeigten im Median eine Erstmanifestation der Parodontitis vor 5,5 Jahren (Q25: 0,25 / Q75: 16,25), die Patienten der Kontrollgruppe vor 8,5 Jahren (Q25: 5,0 / Q75: 16,75). Die letzte professionelle Zahnreinigung beim Hauszahnarzt lag für beide Gruppen mit ihren Medianen dicht beieinander mit 10,5 Monaten (Q25: 2,75 / Q75: 16,75) für die Simvastatin-Einnahme und 12 (Q25: 5,25 / Q75: 18) für die Gruppe ohne Einnahme.

Tab. 7 Letzte Parodontitis-Therapie, PZR in Monaten und Erstmanifestation der Parodontitis in Jahren

Simvastatin-Einnahme:		Letzte PA-Behandlung (Monate)	Letzte PZR (Monate)	Erstmanifestation der Parodontitis in Jahren
Ja	Median	24,00	10,50	5,50
Nein	Median	0,00	12,00	8,50

Ein Unterschied bestand in den Medianen für die letzte Parodontitis-Behandlung in Monaten, die für die Gruppe mit Simvastatin-Einnahme bei 24 Monaten (Q25: 0,00 / Q75: 60,00) und für die Gruppe ohne Einnahme bei 0 Monaten (Q25: 0,00 / Q75: 16,75) lag (Tab.7, Abb.14).

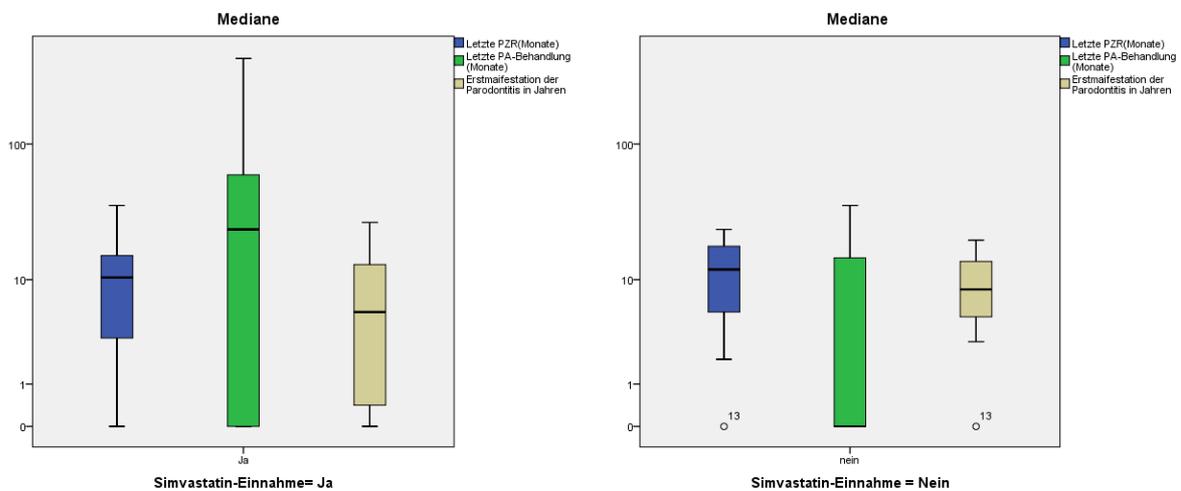


Abb. 14: Letzte PA-Therapie, PZR in Monaten und Erstmanifestation der Parodontitis in Jahren:

4.3.2 Plaque Index und Gingiva Index nach Sillness und Loe

Bei einem leicht geringeren Plaque Index nach Sillness und Loe in der Gruppe mit Simvastatin-Einnahme mit 1,16 (Q25: 0,99 / Q75: 1,54) im Vergleich zur Gruppe ohne Einnahme mit 1,4 (Q25: 1,16 / Q75: 1,65) ergab sich ein Gingivaindex nach Sillness und Loe für die Gruppe mit Simvastatin-Einnahme im Median von 1,3 (Q25: 0,93 / Q75: 1,8) und für die Gruppe ohne Einnahme von 1,26 (Q25: 1,1 / Q75: 1,56) (Tab.8).

Tab. 8 Plaque Index und Gingivaindex nach Sillness und Loe mit und ohne Simvastatin-Einnahme

		GI (Gingivaindex)	PLI (Plaque Index)
N	Gültig	12	12
	Median	1,26	1,40

Simvastatin-Einnahme: **Nein**

		GI (Gingivaindex)	PLI (Plaque Index)
N	Gültig	12	12
	Median	1,30	1,16

Simvastatin-Einnahme: **Ja**

Die Patienten bewegten sich mit einem Gingiva-Index von 1,26–1,3 in einem Bereich von Grad 1-2 nach Sillness und Loe - geringe Entzündung mit leichten Farb- und Oberflächenveränderungen bis zum Beginn einer mäßigen Entzündung. Die Plaque-Indices von 1,16 und 1,4 bewegten sich ebenfalls in einem Bereich von Grad 1-2 nach Sillness und Loe - kaum sichtbare Plaque und Beginn einer mäßigen Plaqueablagerung auf den Zahnflächen und entlang des Gingivarandes, die mit dem Auge sichtbar sind; der Interdentalraum ist nicht ausgefüllt.

Ein Unterschied zeigte sich zwischen Männern und Frauen: so betragen für die Simvastatin-Einnahme Gingiva- und Plaque-Index für Männer im Median 1,44 (Quartile = Q25: 1,08 / Q75: 1,77) und 1,51 (Q25: 1,30 / Q75: 1,80), für die Frauen lagen die Mediane bei 1,27 (Q25: 0,75 / Q75: 1,85) und 1,03 (Q25: 0,37 / Q75: 1,14). Für die Gruppe ohne Simvastatin-Einnahme lagen Gingiva- und Plaque-Index für Männer bei 1,27 (Q25: 1,00 / Q75: 2,10) und 1,52 (Q25: 0,99 / Q75: 1,79) und für die Frauen bei 1,21 (Q25: 1,10 / Q75: 1,40) und 1,34 (Q25: 1,26 / Q75: 2,99) (Abb.15).

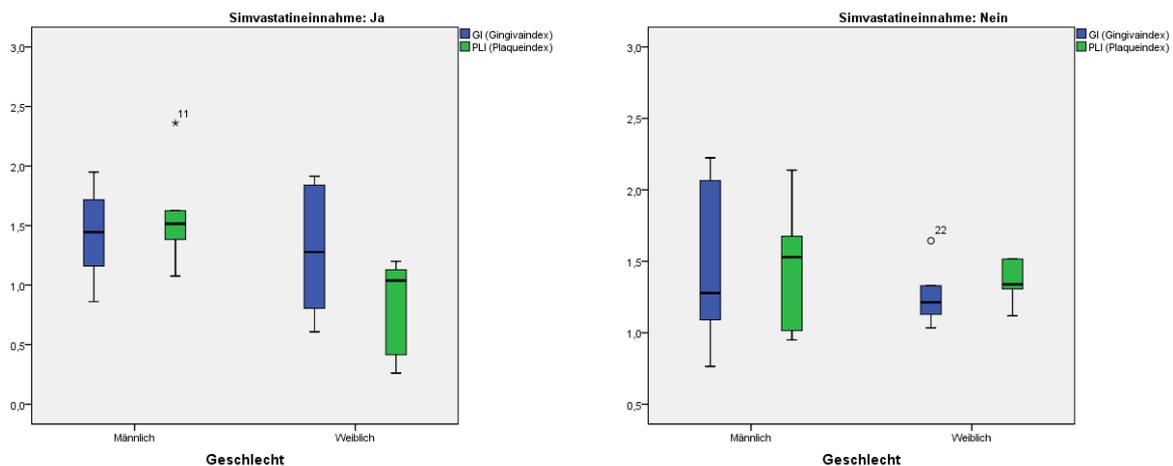


Abb. 15: Plaque Index und Gingivaindex nach Sillness und Loe mit und ohne Simvastatin-Einnahme nach Geschlecht verteilt

Ein signifikanter Unterschied in der gingivalen Entzündung, der auf eine Simvastatin-Einnahme hätte zurückgeführt werden können, wurde nicht beobachtet.

4.3.3 Bleeding on Probing (BOP)

Die Mediane für BOP lagen für die Gruppe mit Simvastatin-Einnahme bei 41,26% (Q25: 25,04 / Q75: 48,11) und ohne Einnahme bei 22,59% (Q25: 10,41 / Q75: 35,28). Die Unterschiede in der Verteilung zwischen den Gruppen (Mann-Whitney-U-Test für unabhängige Stichproben) unterschieden sich voneinander mit einer Signifikanz von $p < 0,013$. In der Gruppe mit Simvastatin-Einnahme betrug der Median für die Männer 41,57% (Q25: 25,86 / Q75: 48,41). Für die Frauen lag der Median bei 39,13% (Q25: 24,86 / Q75: 47,22). In der Gruppe ohne Simvastatin-Einnahme betrug der Median für

die Männer 16,94% (Q25: 8,33 / Q75: 22,41). Für die Frauen lag der Median bei 31,02% (Q25: 22,70 / Q75: 35,71). In der Gruppe ohne Simvastatin-Einnahme lagen die Männer mit ihrem Median deutlich unter den Frauen im Vergleich zur Gruppe mit Simvastatin-Einnahme (Tab.9, Abb.16)

Tab. 9 Bleeding on Probing in Prozent mit und ohne Simvastatin-Einnahme und Aufteilung nach Geschlecht

Simvastatin-Einnahme: Ja / Nein		Geschlecht	Median	Quartil 25	Quartil 75
Ja		Männlich	41,57%	25,86%	48,41%
		Weiblich	39,13%	24,86%	47,22%
		Insgesamt	41,26%	25,94%	48,11%
Nein		Männlich	16,94%	8,33%	22,41%
		Weiblich	31,02%	22,70%	35,71%
		Insgesamt	22,59%	10,41%	35,28%

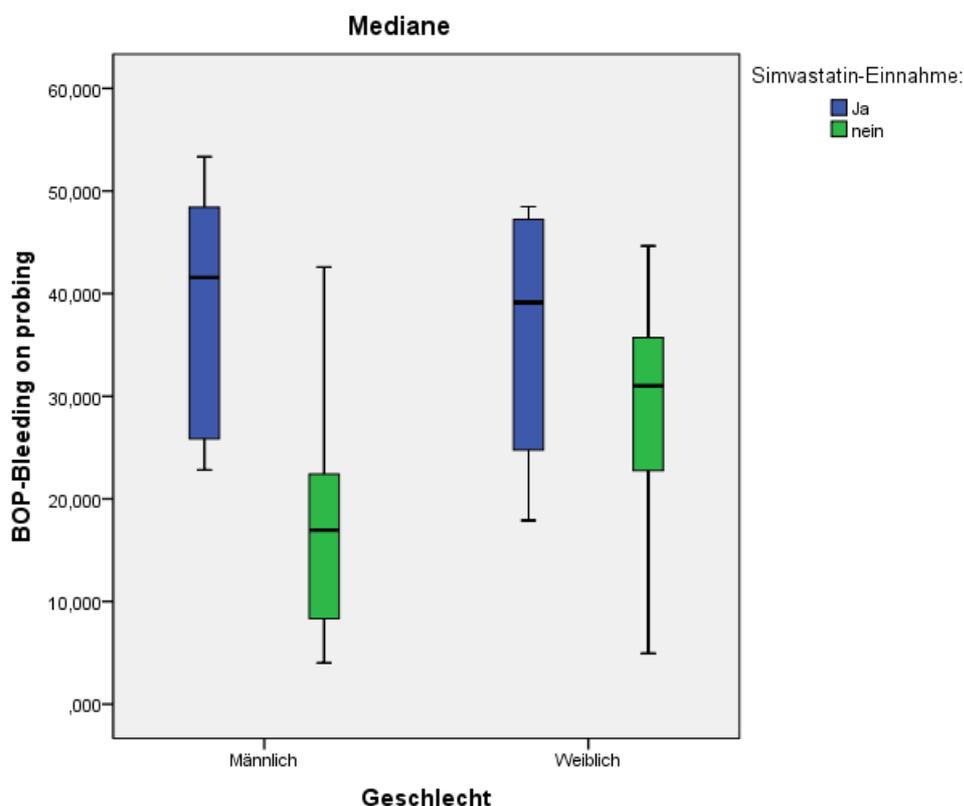


Abb. 16: Verteilung der Mediane von Bleeding on Probing aller Zähne nach Geschlecht und Simvastatin-Einnahme

4.3.4 Parodontal Index

Die Taschentiefen mesial der Zähne 16 und 26 betragen in der Gruppe mit Simvastatin-Einnahme im Median an Zahn 16 4,00 mm (Q25: 3,00 / Q75: 4,75) und an Zahn 26 4,00 mm (Q25: 3,00 / Q75: 4,00). Die marginalen parodontalen Sulki dieser Taschen waren die Entnahmestellen für das Sulkusfluid zur Bestimmung der Konzentrationen von IL-6, IL-8, MMP-9 und VEGF. In der Gruppe ohne Simvastatin-Einnahme betragen die Messwerte im Median an Zahn 16 4,50 mm (Q25: 3,62 / Q75: 5,00) und an Zahn 26 4,00 mm (Q25: 3,00 / Q75: 4,75). Die Werte für den klinischen Attachment-Verlust betragen in der Gruppe mit Simvastatin-Einnahme im Median an Zahn 16 4,00 mm (Q25: 3,00 / Q75: 5,00) und an Zahn 26 4,00 mm (Q25: 4,00 / Q75: 5,75). In der Gruppe ohne Simvastatin-Einnahme betragen die Messwerte im Median an Zahn 16 5,00 mm (Q25: 5,00 / Q75: 7,00) und an Zahn 26 6,00 mm (Q25: 4,00 / Q75: 7,00) (Tab.10).

Tab. 10 Mediane der parodontalen Taschentiefen und CAL an den Entnahmезähnen 16 und 26 für Sulkusfluid in mm

Simvastatin-Einnahme: Ja / Nein		Taschentiefe 16 in mm	Taschentiefe 26 in mm	CAL 16 in mm	CAL 26 in mm
Ja	Median	4,00 mm	4,00 mm	4,00 mm	4,00 mm
Nein	Median	4,5 mm	4,00 mm	5,00 mm	6,00 mm

Die Taschentiefen und der klinische Attachment-Verlust (Calixto et al.) an den Zähnen 16 und 26 unterschieden sich zwischen den Gruppen mit und ohne Simvastatin-Einnahme nicht signifikant (Tab.10, Abb.17).

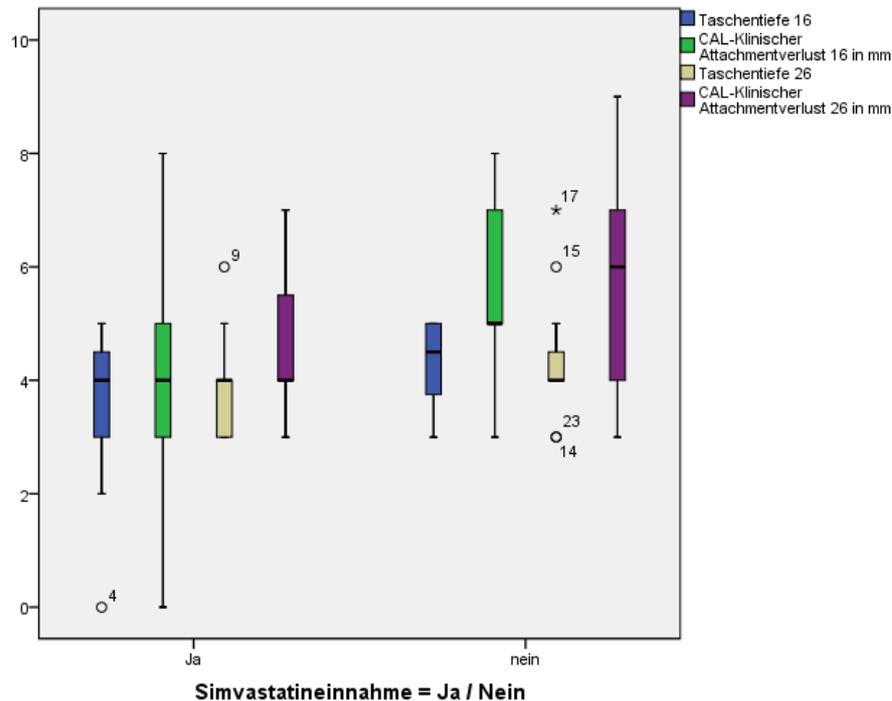


Abb. 17: **Taschentiefen und CAL an den Zähnen 16 und 26 in mm**

Die Mediane der parodontalen Taschentiefen aller Zähne lagen für die Gruppen mit und ohne Simvastatin-Einnahme dicht zusammen bei 3,25 mm (Q25: 3,16 / Q75: 3,58) und 3,09 mm (Q25: 2,78 / Q75: 3,69). Der klinische Attachment-Verlust lag für die Gruppen mit und ohne Simvastatin-Einnahme bei 4,26 mm (Q25: 3,62 / Q75: 6,28) und 5,76 mm (Q25: 3,69 / Q75: 8,96) (Tab.11).

Tab. 11 **Mediane der parodontalen Taschentiefen und des klinischen Attachment-Verlusts aller Zähne in mm**

Simvastatin-Einnahme: Ja / Nein		PD-Taschentiefe Gesamt	CAL-Klinischer Attachmentverlust
Ja	Median	3,25 mm	4,26 mm
	N	12	12
Nein	Median	3,09 mm	5,76 mm
	N	12	12

Die Mediane der parodontalen Taschentiefen und des klinischen Attachment-Verlusts aller Zähne unterschieden sich zwischen Frauen und Männern nicht signifikant (Abb.18).

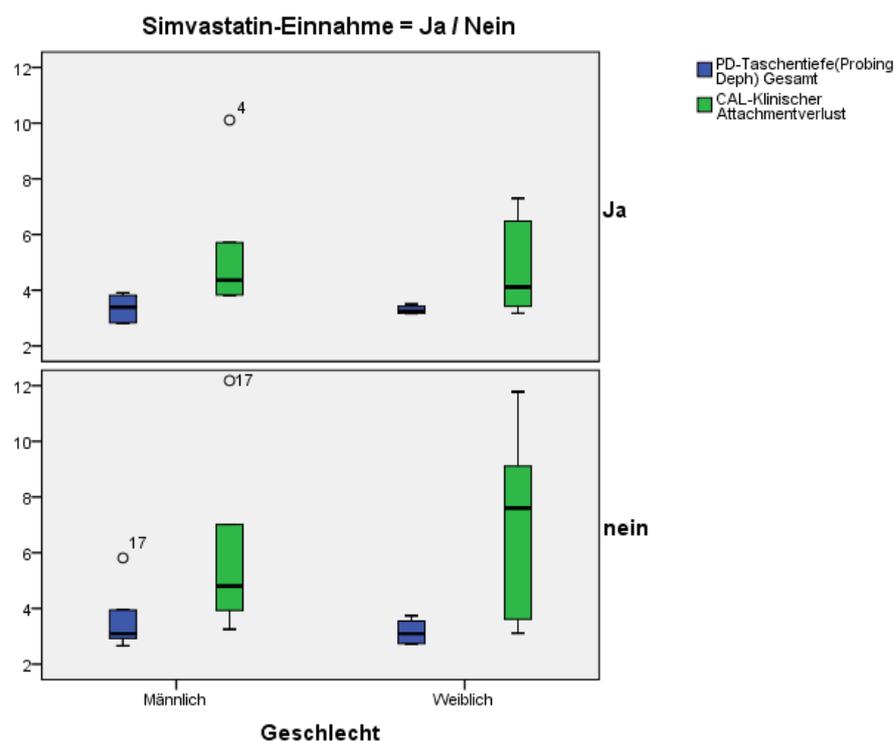


Abb. 18: **Verteilung der Mittelwerte der Taschentiefen aller Zähne nach Geschlecht und Simvastatin-Einnahme**

4.4 Quantifizierung der entnommenen Sulkusflüssigkeit mit dem Periotron® 8000

Die Analyse des für 30 Sekunden in den Sulkus eingebrachten Periopapers® durch das Periotron® 8000 ergab an den Zähnen 16 und 26 in der Gruppe mit Simvastatin-Einnahme im Median die elektronischen Messwerte 60,00 (Q25: 31,25 / Q75: 99,50) und 69,00 (Q25: 38,50 / Q75: 94,5). An den Zähnen 16 und 26 in der Gruppe ohne Simvastatin-Einnahme wurden im Median die elektronischen Messwerte 98,50 (Q25: 76,75 / Q75: 126,75) und 65,50 (Q25: 40,50 / Q75: 93,00) gemessen. Die Periotron-Werte wurden mittels zuvor angefertigter Standard-Eichkurve und polynomaler Regression vierter Ordnung in μl umgerechnet. Die Gruppe mit Simvastatin-Einnahme ergab für die Zähne 16 und 26 Messwerte im Median von 0,43 μl (Q25: 0,23 / Q75: 0,72) und 0,50 μl (Q25: 0,28 / Q75: 0,68). In der Gruppe ohne Simvastatin-Einnahme ergaben sich Messwerte im Median von 0,71 μl (Q25: 0,55 / Q75: 0,91) für Zahn 16 und für Zahn 26 0,52 (Q25: 0,29 / Q75: 3,58) (Tab.12, Abb.19).

Tab. 12 Periotron® 8000-Messungen im Median an den Zähnen 16 und 26 nach Simvastatin-Einnahme und Geschlecht aufgeteilt

Simvastatin-Einnahme: Ja / Nein		Geschlecht		Erste Periotron-Messung an Zahn 16	Erste Periotron-Messung an Zahn 26
Ja	Männlich	Median	38,50	58,50	
	Weiblich	Median	68,00	81,00	
Nein	Männlich	Median	94,50	65,50	
	Weiblich	Median	120,00	69,00	

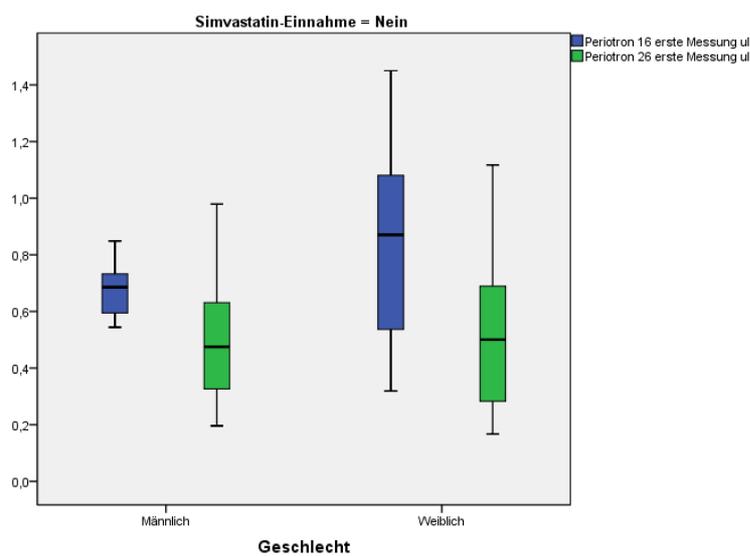
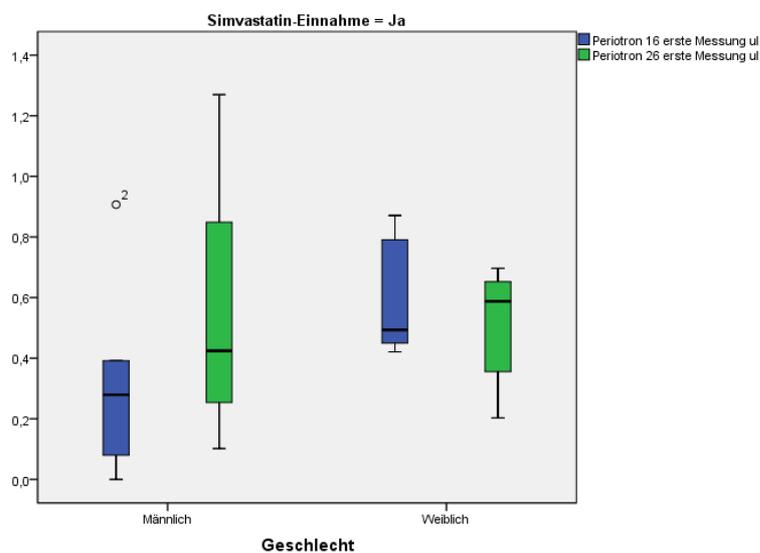


Abb. 19: Entnommenes Sulcusfluid an den Zähnen 16 und 26 in µl aufgeteilt nach Simvastatin-Einnahme und Geschlecht

4.5 Interleukin-6- und Interleukin-8 Konzentrationen im Sulcusfluid

4.5.1 IL-6- und IL-8 Konzentrationen an den Zähnen 16 und 26

Die Messungen an Zahn 16 ergaben in der Gruppe mit Simvastatin-Einnahme für IL-6 im Median 2,68 ng/ml (Q25: 2,05 / Q75: 4,94) und in der Gruppe ohne Einnahme 2,27 ng/ml (Q25: 1,64 / Q75: 3,24). Für IL-8 in der Gruppe mit Simvastatin-Einnahme ergab die Messung an Zahn 16 148,51 ng/ml (Q25: 91,62 / Q75: 213,92) und in der Gruppe ohne Einnahme 140,59 ng/ml (Q25: 92,03 / Q75: 265,61). Die Unterschiede zwischen den Gruppen an Zahn 16 waren für IL-6 mit $p < 0,325$ und für IL-8 mit $p < 0,644$ nicht signifikant (Tab.13).

Tab. 13 **IL-6- und IL-8 Konzentrationen an 16 mit und ohne Simvastatin-Einnahme**

Simvastatin-Einnahme: Ja / Nein		Taschentiefe 16	Periotron16 erste Messung μ l	IL6 Erste Probe Messung in ng/ml	IL8 Erste Probe Messung in ng/ml
Ja	Median	4,00 mm	0,43	2,68	148,51
Nein	Median	4,50 mm	0,71	2,27	140,59

Die Messungen an Zahn 26 ergaben in der Gruppe mit Simvastatin-Einnahme für IL-6 2,55 ng/ml (Q25: 1,36 / Q75: 4,52) und in der Gruppe ohne Einnahme 1,81 ng/ml (Q25: 1,68 / Q75: 3,96). Für IL-8 in der Gruppe mit Simvastatin-Einnahme ergab die Messung an Zahn 26 99,05 ng/ml (Q25: 76,54 / Q75: 173,19) und in der Gruppe ohne Einnahme 145,82 ng/ml (Q25: 72,15 / Q75: 246,06). Die Unterschiede zwischen den Gruppen an Zahn 26 waren für IL-6 mit $p < 0,622$ und für IL-8 mit $p < 0,603$ nicht signifikant (Tab.14).

Tab. 14 **IL-6- und IL-8 Konzentrationen an 26 nach Simvastatin-Einnahme**

Simvastatin-Einnahme: Ja / Nein		Taschentiefe 26 in mm	Periotron26erste Messung μ l	IL6 Zweite Probe Messung in ng/ml	IL8 Zweite Probe Messung in ng/ml
Ja	Median	4,00	0,50	2,55	99,05
Nein	Median	4,00	0,47	1,82	145,82

4.5.2 Gesamt-Messungen von IL-6 und IL-8 im Vergleich mit der gesunden Kontrolle

Die Gesamt-Mediane der Entnahme-Zähne 16 und 26 für IL-6 und IL-8 in der Sulkusflüssigkeit betragen für Patienten mit Simvastatin-Einnahme 3,08 ng/ml (Q25: 2,13 / Q75: 3,92) und 121,74 ng/ml (Q25: 94,06 / Q75: 190,82). Patienten ohne eine kontinuierliche Simvastatin-Therapie lagen bei 2,06 ng/ml (Q25: 1,84 / Q75: 3,14) für IL-6 und 132,43 ng/ml (Q25: 84,05 / Q75: 378,42) für IL-8 (Tab.15).

Tab. 15 **IL-6 und IL-8 Gesamtmessungen mit und ohne Simvastatin-Einnahme**

Simvastatin-Einnahme: Ja / Nein		IL6 Gesamt- Messung in ng/ml	IL8 Gesamt-Messung in ng/ml
Ja	Median	3,08	121,74
Nein	Median	2,06	132,43

Für die doppelt gemessene gesunde Kontrolle lag der Median für IL-6 bei 0,41 ng/ml (Q25: 0,30 / Q50: 0,41) sowie für IL-8 bei 30,50 ng/ml (Q25: 27,26 / Q50: 30,50) (Abb.20).

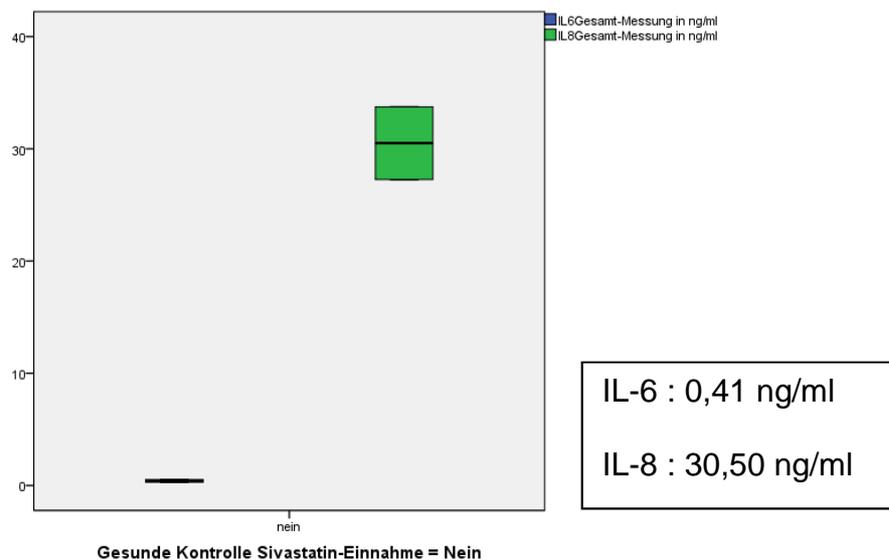


Abb. 20: **Gesunde Kontrolle ohne Simvastatin-Einnahme**

Simvastatin-behandelte Patienten zeigten keinen signifikanten Unterschied in den IL-6- und IL-8 Konzentrationen (Mann-Whitney-U-Test: IL-6: $p < 0,218$, IL-8: $p < 0,773$, Signifikanzniveau lag bei 0,0125 (Abb.21, 22)).

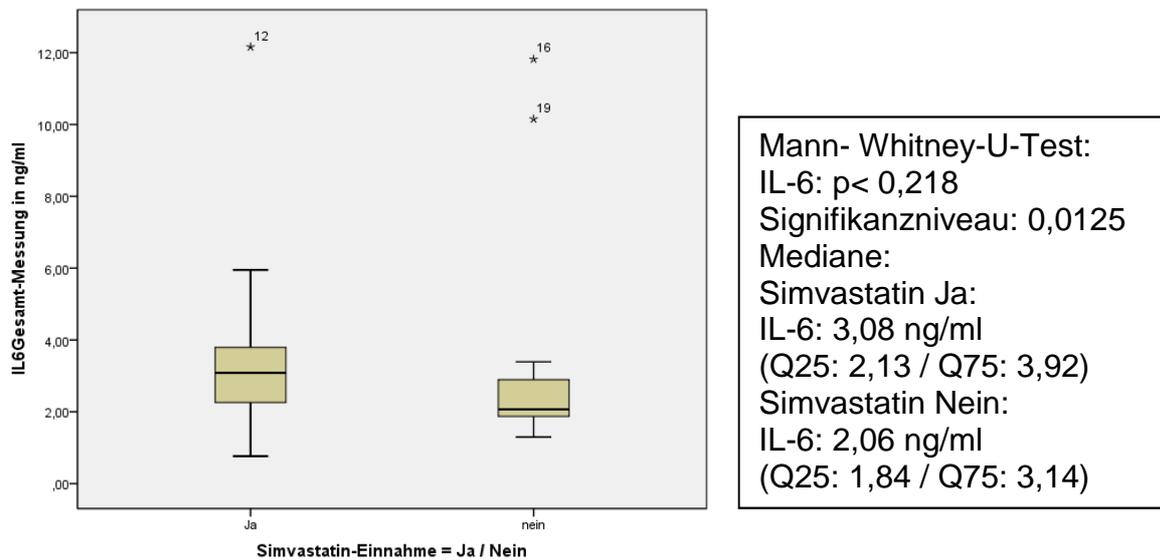


Abb. 21: IL-6-Gesamtmessung mit und ohne Simvastatin-Einnahme

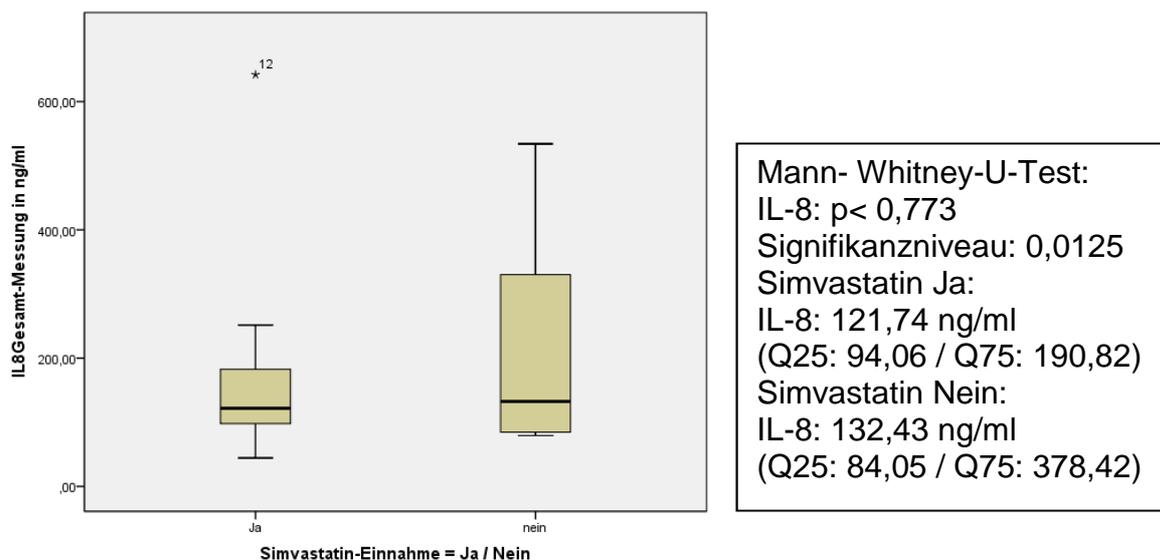


Abb. 22: IL-8-Gesamtmessung mit und ohne Simvastatin-Einnahme

4.6 VEGF und MMP-9 Konzentrationen im Sulkusfluid

4.6.1 VEGF und MMP-9 Konzentrationen an den Zähnen 16 und 26

Die Messungen an Zahn 16 ergaben in der Gruppe mit Simvastatin-Einnahme für VEGF im Median 6,63 ng/ml (Q25: 0,00 / Q75: 15,23) und in der Gruppe ohne Einnahme 12,03 ng/ml (Q25: 0,00 / Q75: 17,57). Für MMP-9 in der Gruppe mit Simvastatin-Einnahme ergab die Messung an Zahn 16 22,21 µg/ml (Q25: 16,87 / Q75: 47,02) und in der Gruppe ohne Einnahme 19,87 µg/ml (Q25: 11,67 / Q75: 36,00). Die Unterschiede zwischen den Gruppen an Zahn 16 waren für VEGF mit $p < 0,556$ und für MMP-9 mit $p < 0,379$ nicht signifikant (Tab.16).

Tab. 16 **VEGF und MMP-9 Konzentrationen an 16 nach Simvastatin-Einnahme**

Simvastatin-Einnahme: Ja / Nein		Taschentiefe 16	Periotron16 erste Messung µl	VEGF Erste Probe Messung in ng/ml	MMP-9 Erste Probe Mes- sung in µg/ml
Ja	Median	4,00	0,43	6,63	22,21
Nein	Median	4,50	0,71	12,03	19,87

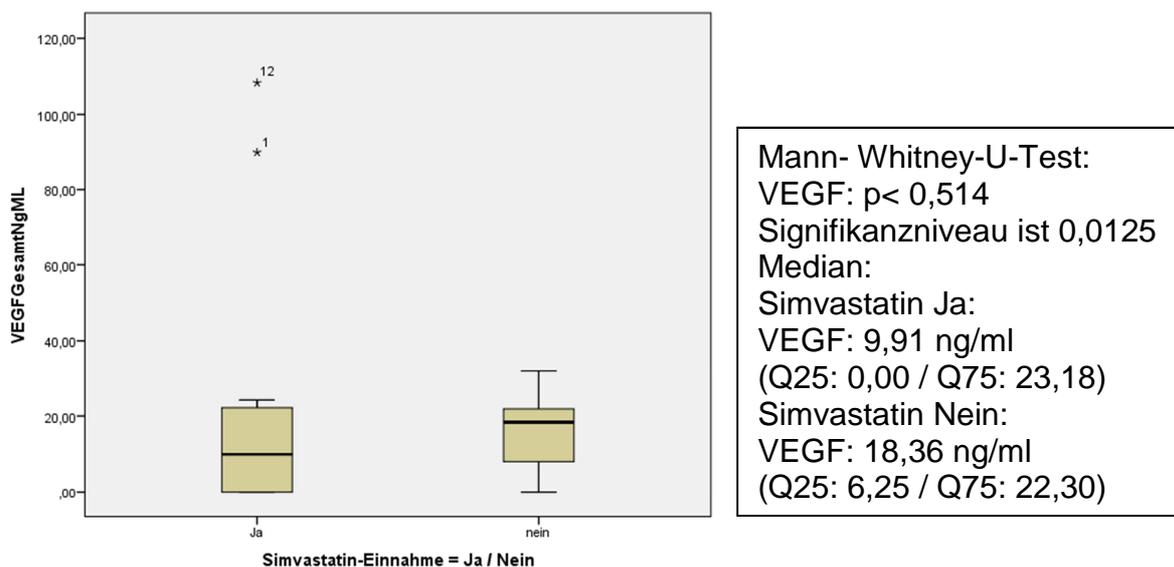
Die Messungen an Zahn 26 ergaben in der Gruppe mit Simvastatin-Einnahme für VEGF 9,82 ng/ml (Q25: 0,00 / Q75: 25,15) und in der Gruppe ohne Einnahme 19,71 ng/ml (Q25: 0,00 / Q75: 23,06). Für MMP-9 in der Gruppe mit Simvastatin-Einnahme ergab die Messung an Zahn 26 31,02 µg/ml (Q25: 10,30 / Q75: 45,32) und in der Gruppe ohne Einnahme 25,13 µg/ml (Q25: 20,42 / Q75: 67,11). Die Unterschiede zwischen den Gruppen an Zahn 26 waren für VEGF mit $p < 0,932$ und für MMP-9 mit $p < 0,551$ nicht signifikant (Tab.17).

Tab. 17 **VEGF und MMP-9 Konzentrationen an 26 nach Simvastatin-Einnahme**

Simvastatin-Einnahme: Ja / Nein		Taschentiefe 26 in mm	Periotron26 erste Messung μ l	VEGF Zweite Probe Messung in ng/ml	MMP-9 Zweite Probe Messung in μ g/ml
Ja	Median	4,00	0,50	9,82	31,02
Nein	Median	4,00	0,47	19,17	25,13

4.6.2 VEGF und MMP-9 Gesamt-Messungen im Vergleich mit der gesunden Kontrolle und weitere Messwerte

Die Messungen an Zahn 16 und 26 ergaben als zusammengefasste Gesamt-Mediane in der Gruppe mit Simvastatin-Einnahme für VEGF 9,91 ng/ml (Q25: 0,00 / Q75: 23,18) und in der Gruppe ohne Einnahme 18,36 ng/ml (Q25: 6,25 / Q75: 22,30) (Abb.23).

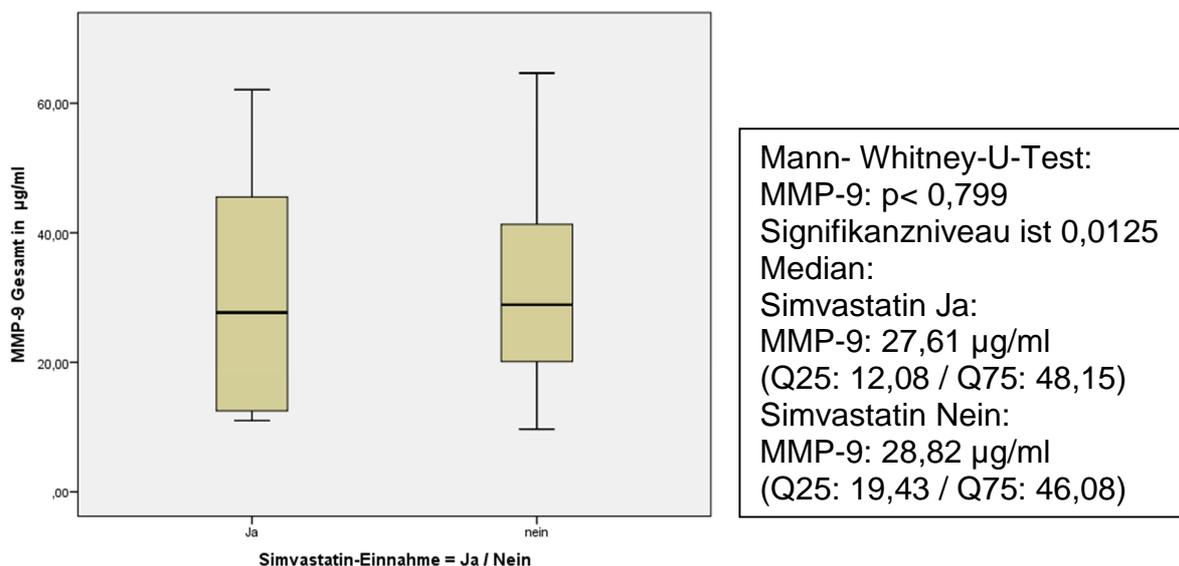
Abb. 23: **VEGF Gesamt-Konzentration mit und ohne Simvastatin-Einnahme**

Für MMP-9 in der Gruppe mit Simvastatin-Einnahme ergab die Messung den Gesamt-Median 27,61 μ g/ml (Q25: 12,08 / Q75: 48,15) und in der Gruppe ohne Einnahme 28,82 μ g/ml (Q25: 19,43 / Q75: 46,08) (Tab.18).

Tab. 18 **VEGF und MMP-9 Gesamtmessungen mit und ohne Simvastatin-Einnahme**

Simvastatin-Einnahme: Ja / Nein		VEGF Gesamt- Messung in ng/ml	MMP-9 Gesamt-Messung in µg/ml
Ja	Median	9,91	27,61
Nein	Median	18,36	28,82

Die Unterschiede zwischen den Gruppen waren für VEGF mit $p < 0,514$ und für MMP-9 mit $p < 0,799$ nicht signifikant (Abb.23, 24).

Abb. 24: **MMP-9 Gesamtmessung mit und ohne Simvastatin-Einnahme**

Für die doppelt gemessene gesunde Kontrolle lag der Median für VEGF bei 5,40 ng/ml (Q25: 5,24 / Q50: 5,40) sowie für MMP-9 bei 6,70 µg/ml (Q25: 5,89 / Q50: 6,70) (Abb.25).

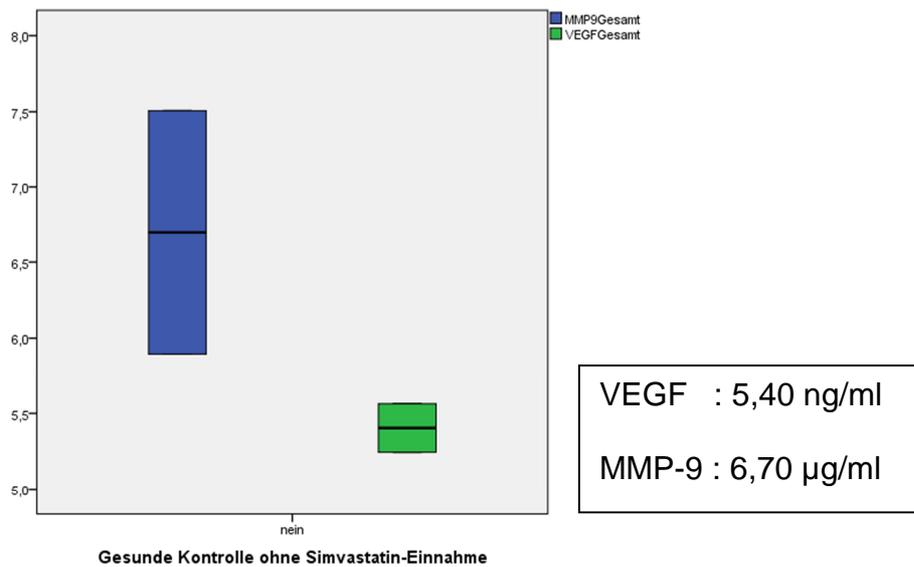


Abb. 25: **Gesunde Kontrolle ohne Simvastatin-Einnahme**

Für den BMI, das Alter, den Gingiva Index und den Plaque Index nach Silness und Loe, die PD und den CAL konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen mit und ohne Simvastatin-Einnahme festgestellt werden. Einzig das BOP zeigte zwischen den Gruppen mit und ohne Simvastatin-Einnahme einen leicht signifikanten Unterschied mit $p < 0,013$. Die Gruppe mit Simvastatin-Einnahme zeigte deutlich höhere Prozentwerte für BOP (Tab.19).

Tab. 19 **Vergleich der Mediane zwischen den Gruppen mit und ohne Simvastatin-Einnahme**

Simvastatin-Einnahme: Ja / Nein	BMI	Alter	GI (Gingivaindex)	PLI (Plaqueindex)	PD- Taschentiefe Gesamt	CAL-Klinischer Attachmentverlust	Bleeding on probing
Ja	25,40	66	1,30	1,16	3,25	4,26	41,25
Nein	25,52	66	1,25	1,40	3,09	5,76	22,59

Der Test auf zweiseitige Korrelationen nach Spearman mit einem Signifikanzniveau von $p < 0,01$ (zweiseitig) ergab für die Taschentiefe und den BMI, den Plaqueindex und die letzte PZR, die Taschentiefe und den klinischen Attachment-Verlust, die letzte PZR und die IL-8 Gesamtmessung, den Gingivaindex und der MMP-9 Gesamtmessung und IL-6 und IL-8 eine signifikante Korrelation der jeweils beiden Messergebnisse (Tab.20).

Tab. 20 Korrelation nach Spearman mit zweiseitiger signifikanter Beeinflussung einzelner Messergebnisse

	BMI	Letzte PZR	GI (Gingivaindex)	PLI (Plaueindex)	PD-Taschentiefe Gesamt	CAL-Klinischer Attachment-verlust	BOP-Bleeding on probing	IL6 in ng/ml	IL8 in ng/ml	MMP-9 Gesamt in $\mu\text{g/ml}$
BMI	1 ,	0,215 0,324	0,044 0,84	0,093 0,673	,690** 0	0,255 0,241	-0,178 0,415	-0,271 0,21	-0,019 0,93	-0,036 0,87
Letzte PZR(Monate)	0,215 0,324	1 ,	0,41 0,052	,548** 0,007	0,336 0,117	0,25 0,25	0,193 0,376	-0,125 0,57	-,558** 0,006	0,132 0,547
GI (Gingivaindex)	0,044 0,84	0,41 0,052	1 ,	,448* 0,032	0,049 0,823	-0,267 0,218	0,177 0,418	-0,019 0,932	-0,369 0,083	,530** 0,009
PLI (Plaueindex)	0,093 0,673	,548** 0,007	,448* 0,032	1 ,	0,259 0,232	,440* 0,036	-0,153 0,485	-0,042 0,851	-0,368 0,084	0,236 0,278
PD-Taschentiefe Gesamt	,690* 0	0,336 0,117	0,049 0,823	0,259 0,232	1 ,	,535** 0,008	0,102 0,644	-0,164 0,456	-0,164 0,454	0,186 0,396
CAL-Klinischer Attachment-verlust	0,255 0,241	0,25 0,25	-0,267 0,218	,440* 0,036	,535** 0,008	1 ,	-0,216 0,321	-0,169 0,441	-0,123 0,578	0,075 0,733
IL6Gesamt-Messung in ng/ml	-0,271 0,21	-0,125 0,57	-0,019 0,932	-0,042 0,851	-0,164 0,456	-0,169 0,441	0,04 0,858	1 ,	,592** 0,003	-0,195 0,373
IL8Gesamt-Messung in ng/ml	-0,019 0,93	-,558** 0,006	-0,369 0,083	-0,368 0,084	-0,164 0,454	-0,123 0,578	-0,41 0,052	,592** 0,003	1 ,	-0,39 0,066
MMP-9 Gesamt in $\mu\text{g/m}$	-0,036	0,132	,530**	0,236	0,186	0,075	0,137	-0,195	-0,39	1

** . Die Korrelation ist auf dem 0,01 Niveau signifikant (zweiseitig).

* . Die Korrelation ist auf dem 0,05 Niveau signifikant (zweiseitig).

5 Diskussion

5.1 Material und Methoden

5.1.1 Studiendesign

In dieser Studie wurden die Konzentrationen von IL-6 und IL-8 im Sulkusfluid von Patienten, die an chronischer Parodontitis erkrankt sind, gemessen. Eine Gruppe (n=12) nahm aufgrund einer Hyperlipidämie unterschiedliche Dosierungen von Simvastatin (5-40 mg am Tag / im Median 10 mg am Tag) ein. Aktuelle Studien haben ebenfalls die Wirkung einer systemischen Statin-Einnahme auf die chronische Parodontitis untersucht (Fajardo et al. 2010; Fentoglu et al. 2011a; Fentoglu et al. 2011b). In dieser Studie nahmen alle Verum-Probanden Simvastatin ein, dessen Wirkung auf die chronische Parodontitis und die als inflammatorische Botenstoffe wirkenden Zytokine und Chemokine bereits in klinischen *in vivo*- und *in vitro* Studien nachgewiesen wurde (Calixto et al. 2011; Ismail 2006; Lin et al. 2009; Lindy et al. 2008; Nassar et al. 2009; Pauly et al. 2009; Pradeep und Thorat 2010; Sakoda et al. 2006; Seto et al. 2008; Sundararaj et al. 2008; Thunyakitpibal und Chaisuparat 2004; Vaziri et al. 2007). Der Vergleich von zwei fast identischen Gruppen mit chronischer Parodontitis und systemischer Simvastatin-Einnahme einer Gruppe und deren Wirkung auf die klinischen und biochemischen inflammatorischen Parameter IL-6, IL-8, MMP-9 und VEGF der chronischen Parodontitis wurde bisher noch nicht untersucht. Eine prospektive randomisierte klinische Studie zur Wirkung von lokal in die parodontale Tasche appliziertem Simvastatin zeigte signifikante Unterschiede zugunsten der Gruppe mit Parodontitis-Therapie und Simvastatin-Applikation im Vergleich zur Gruppe mit ausschließlicher Parodontitis-Therapie. Die Beobachtung einer ausschließlichen Simvastatin-Applikation ohne mechanisches Debridement (mit Scaling und Root-Planning im Rahmen einer Parodontitis-Therapie), das eine Traumatisierung und Wundheilung des Gewebes beinhaltet, erfolgte nicht (Pradeep und Thorat 2010). In der Studie von Fentoglu et al. (Fentoglu et al. 2011a) wurden die Ist-Konzentrationen von IL-6 und die klinischen Parameter der chronischen Parodontitis bei Patienten (n=5) mit (10-20 mg/d) und ohne Atorvastatin-Einnahme (n=28) und chronischer Parodontitis gemessen. Angaben zu den weiteren Rezeptierungen der gesamten Statin-Gruppe mit chronischer Parodontitis (n=23) erfolgten nicht. In

der Studie von Fentoglu et al. erfolgte die Auswahl und Einteilung der Studienteilnehmer wie in der vorliegenden Pilot-Studie / Fall-Kontroll Studie, wo sich Alter, Geschlecht, Allgemeinmedizinischer- und Parodontal-Zustand der Gruppen entsprachen (Fentoglu et al. 2011a). Die doppelten Proben einer parodontal-gesunden Patientin mit einem Alter von 56 Jahren dienten in der vorliegenden Studie als Vergleichs-Kontrolle. Die Darstellung der Daten dieser Studie erfolgte als Mediane mit den Quartilen 25 und 75. Die statistische Analyse wurde mittels deskriptiver Statistik und dem Mann-Whitney-U-Test für die univariate Analyse quantitativer Faktoren durchgeführt. Für die Berechnung der statistischen Signifikanz wurde aufgrund der vier primären Endpunkte eine Bonferroni-Korrektur des p-Werts von 0,05 auf 0,0125 vorgenommen. Für die weiteren erhobenen Messwerte wurde zur Analyse der gegenseitigen Beeinflussung eine bivariate Korrelation nach Spearman berechnet.

5.1.2 Probanden

Da keine placebokontrollierte Doppelblindstudie durchgeführt werden konnte, wurden Patienten der Fettstoffwechsel-Ambulanz der Charité mit chronischer Parodontitis und Simvastatin-Einnahme aufgrund einer Hyperlipidämie entsprechend den strengen Ausschluss-Kriterien ausgewählt und randomisiert in die Studie aufgenommen. Die Probanden der Kontrollgruppe wurden den Verum-Patienten mit möglichst gleichen Parametern zugeordnet. Da alle Patienten eine Woche vor der Sulkusfluid-Entnahme eine professionelle Zahnreinigung und eine Instruktion über die Mundhygienemaßnahmen erhielten, war zum Zeitpunkt der Probenentnahme von nahezu gleichen oralen Hygiene-Verhältnissen auszugehen.

Das Alter der Patienten wurde entsprechend der Auswahlkriterien für die chronische Parodontitis für beide Gruppen im Median mit 66 Jahren gewählt. Wie von Brauckhoff et al. beschrieben (Brauckhoff et al. 2009) steigt ab dem 45. Lebensjahr die Häufigkeit der Parodontitis an. Laut DMS IV steht bei Sondierungstiefen von ≥ 4 mm – auch von nur einem Zahn - ein Behandlungsbedarf fest. So waren im Jahr 2005 84,6% der Erwachsenen (35-44 Jahre) in Deutschland parodontal erkrankt. Männer leiden häufiger unter einer chronischen Parodontitis, daher sollten beide Gruppen zu 50% aus Männern und Frauen bestehen und der Unterschied zwischen Männern und Frauen betrachtet werden. Bei den Senioren in Deutschland (>65 Jahre) haben mehr als 55% der Zähne Ta-

schentiefen >5 mm (Brauckhoff et al. 2009), welches die Wahrscheinlichkeit, unter den älteren Patienten mit Simvastatin-Einnahme Patienten mit chronischer Parodontitis zu finden, erhöhte. Es wurden 24 Patienten untersucht, kein Patient musste nachträglich von der Studie ausgeschlossen werden.

5.2 Klinische Ergebnisse

Die Sulkusfluid-Proben wurden bei jedem Patienten mesio-bukkal von einem Parodontium an den ersten Molaren jedes Quadranten entnommen. In die Analyse des Sulkusfluids wurden wie in anderen Studien beschrieben nur zwei Proben der Zähne 16 und 26 je Proband einbezogen (Ehlers et al. 2008; Reinhardt et al. 1993). Die Periotron-Mediane von 60,00 und 69,00 für Sulkusfluid an den Entnahmezähnen 16 und 26 in der Gruppe mit Simvastatin-Einnahme und 98,50 und 65,50 in der Gruppe ohne Simvastatin-Einnahme entsprachen den vom Hersteller des Periotron[®] 8000 angegebenen Werten für eine moderate (41-80) bis schwere (81-200) Entzündung der Gingiva. Die Mediane der Gingiva-Indizes nach Sillness und Loe beider Gruppen mit 1,30 und 1,26 lagen im Bereich 1–2, das einer geringen Entzündung bis zum Beginn einer mäßigen Entzündung der Gingiva entspricht. Die Plaque-Indizes von 1,16 mit Simvastatin-Einnahme und 1,40 ohne Einnahme bewegten sich ebenfalls in einem Bereich von Grad 1-2 nach Sillness und Loe und können mit den Gingiva-Indizes sowie mit den Periotron-Werten in Verbindung gebracht werden (Sillness und Loe 1966). In beiden Gruppen lag eine chronische Parodontitis mit Medianen für die Taschentiefen an den Zähnen 16 und 26 von 4,00 mm und 4,00 mm mit Simvastatin-Einnahme und 4,50 mm und 4,00 mm ohne Simvastatin-Einnahme vor. Die Mediane der parodontalen Taschentiefen aller Zähne lagen für die Gruppen mit und ohne Simvastatin-Einnahme dicht zusammen bei 3,25 mm und 3,09 mm, der klinische Attachment-Verlust betrug für die Gruppen 4,26 mm und 5,26 mm. Dies entspricht, gemäß der zuvor erwähnten Einteilung der Parodontitis, einer schweren generalisierten Parodontitis in beiden Gruppen (Armitage 1999). Der Zusammenhang zwischen einer Zunahme von Sulkusfluid und der Zunahme des Schweregrads der parodontalen Entzündung wurde durch evidenzbasierte Untersuchungen in der Literatur belegt und stellt sich in dieser Untersuchung ebenfalls dar (Griffiths 2003).

In klinischen Studien konnte gezeigt werden, dass den Zytokinen IL-6 und IL-8 eine Schlüsselrolle für die Entstehung und die Progression der chronischen Parodontitis zufällt (Offenbacher 1996; Page et al. 1997). IL-6 unterstützt den Übergang von der akuten Entzündung zur chronischen entzündlichen Erkrankung und steuert zusammen mit TNF- α und IL-1 die akute Entzündungsreaktion im Parodont (Hirano et al. 1986; Hodge et al. 2005; Jones 2005; Naugler und Karin 2008; Rose-John et al. 2006; Schuett et al. 2009). IL-6 ist ein pleiotropes Zytokin, das die Immunglobulin-Sekretion durch humane B-Lymphozyten stimuliert, T-Zellen aktiviert, die Synthese und Sekretion von Akute-Phase-Proteinen durch Hepatozyten stimuliert und die Komplement-Kaskade aktiviert (Revel 1989). Seine Hauptaufgabe besteht in der Beeinflussung der Differenzierung von B-Lymphozyten zu Plasmazellen, die vorherrschenden infiltrierenden Zellen in einer etablierten und fortgeschrittenen Parodontitis (Page und Schroeder 1976) Von besonderer Bedeutung ist die Fähigkeit von IL-6 die Knochenresorption zu induzieren, sowohl allein als auch in Verbindung mit anderen Knochen auflösenden Komponenten (Mundy 1991). IL-8 wird als Reaktion auf proinflammatorische Stimuli wie IL-1, TNF- α und LPS von Bakterien produziert. Es lockt neutrophile Granulozyten an den Ort der Entzündung und aktiviert diese (Hack et al. 1997; Matsushima et al. 1992; Miller und Krangel 1992; Oppenheim et al. 1991; Taub und Oppenheim 1993). IL-8, das von einer Vielzahl von Zellen produziert wird (polymorphkernige Leukozyten, Monozyten, Makrophagen und Fibroblasten), spielt eine wichtige Rolle bei der Ansammlung von Leukozyten an den Orten der Entzündung (Matsushima et al. 1992), die Erhöhung dieses Zytokins führt zu einer vermehrten Bildung von GCF in entzündeten parodontalen Taschen im Vergleich zu gesunden Stellen (Tsai et al. 1995). Eine hohe Konzentration im Sulcusfluid stellt die Schwere der parodontalen Erkrankung dar (Zhu und Liu 2010).

Dies bestätigte sich in vorliegender Studie im Vergleich zwischen der gesunden Kontrolle und den beiden Gruppen mit und ohne Simvastatin-Einnahme. Die Mediane für IL-6 lagen bei chronischer Parodontitis in der Statin- und Nicht-Statin-Gruppe bei 3,08 ng/ml und 2,06 ng/ml, bei Gesamtmedianen für parodontale Taschentiefen von 3,25 mm und klinischem Attachment-Verlust von 4,26 mm in der Gruppe mit Simvastatin-Einnahme und 3,09 mm und 5,76 mm in der Gruppe ohne Einnahme. Die Mediane für IL-8 lagen bei chronischer Parodontitis in der Statin- und Nicht-Statin-Gruppe bei 121,74 ng/ml und 132,43 ng/ml, bei Gesamtmedianen für parodontale Taschentiefen von 3,25 mm und

klinischem Attachment-Verlust von 4,26 mm in der Gruppe mit Simvastatin-Einnahme und 3,09 mm und 5,76 mm in der Gruppe ohne Einnahme. Für die doppelt gemessene gesunde Kontrolle lag der Median für IL-6 bei 0,41 ng/ml sowie für IL-8 bei 30,5 ng/ml. Hier zeigten sich deutliche Unterschiede für die Konzentrationen von IL-6 und -8 zwischen der gesunden Kontrolle und Patienten mit chronischer Parodontitis. Aufgrund der geringen Fallzahl der Kontrolle und des Pilot-Studiencharakters war der Unterschied mit $p < 0,317$ jedoch nicht signifikant. Die kleineren Taschentiefen und der geringere klinische Attachment-Verlust in der Gruppe mit Simvastatin-Einnahme ließe eine geringere IL-6 und -8 Konzentration im Sulkusfluid erwarten. Die Ergebnisse zeigten jedoch, dass die IL-6-Konzentration im Sulkusfluid von Patienten mit Simvastatin-Einnahme trotz geringerer Taschentiefen und CAL höher war als bei Patienten ohne Simvastatin-Einnahme, der Unterschied war jedoch nicht signifikant (IL-6: $p < 0,218$). Dieser Anstieg der Konzentration von IL-6 unter Simvastatin-Einnahme passt zu dem von Stein et al. beobachteten, konzentrationsabhängigen Entzündungsanstieg durch eine Dosiserhöhung von 0,5 mg/µl auf 2,2 mg/µl Simvastatin, das in topischer Form als Methylzellulosegel auf die Mandibula von Ratten appliziert wurde (Stein et al. 2005). In der Studie von Fentoglu et al. über die Wirkung von Atorvastatin wurde Ähnliches beobachtet. Die Autoren konnten eine signifikant höhere Konzentration von IL-6 im Sulkusfluid von Patienten mit systemischer Atorvastatin-Einnahme messen im Vergleich zu Patienten mit chronischer Parodontitis und gleichen Taschentiefen sowie gleichen Messwerten für CAL (Fentoglu et al. 2011a).

IL-8 ist ein Marker für den Schweregrad der Parodontitis, die Konzentration im Sulkusfluid korreliert mit der gemessenen parodontalen Taschentiefe (Zhu und Liu 2010). Die Mediane für IL-8 in der Gruppe ohne Simvastatin-Einnahme an den Zähnen 16 (140,59 µg/ml) und 26 (145,82 µg/ml) zeigten im Vergleich zu der Gruppe mit Einnahme, deren Werte an den Zähnen 16 (148,51 µg/ml) und 26 (99,05 µg/ml) insgesamt kleiner waren, einen nicht signifikanten Trend zu höheren Messwerten. Dieses könnte durch die tieferen parodontalen Taschen (4,50 mm und 4,00 mm) an den Zähnen 16 und 26 in der Gruppe ohne Simvastatin-Einnahme im Vergleich mit der Gruppe mit Einnahme (4,00 mm und 4,00 mm) erklärt werden. Auch die Simvastatin-Einnahme kommt als Erklärung für die gemessenen geringeren IL-8-Konzentrationen in Frage.

Simvastatin zeigte bei Patienten mit rheumatoider Arthritis einen signifikanten inhibitorischen Effekt *in vitro* auf die Produktion von IL-6 und IL-8 sowie die durch TNF- α induzierte Zellproliferation von humanen Fibroblasten, die eine Ähnlichkeit mit Synovialzellen aufweisen. Yokota et al. beschreiben, dass schon geringe Dosierungen von 0.05–10 μ M Simvastatin signifikante Effekte zeigten und vermuten, dass die Wirkung durch eine Reduzierung der Isoprenoide Farnesyl-Pyrophosphat und Geranylgeranyl-Pyrophosphat sowie deren reduzierte Bindung an die Signal-Proteine Ras und Rho34 wie von Takemoto et al. beschrieben vermittelt wird. Dieser Effekt soll die von ihnen beobachtete reduzierte Expression von IL-6 und IL-8 durch Synovialzellen zur Folge haben (Takemoto und Liao 2001; Yokota et al. 2006). Diese Beobachtung konnte in vorliegender *in vivo* Studie nicht bestätigt werden.

Ein signifikanter Unterschied bestand in vorliegender Studie zwischen den Gruppen mit und ohne Simvastatin-Einnahme für das BOP ($p < 0,013$). Der Median in der Gruppe mit Simvastatin-Einnahme lag mit 41,26% deutlich über dem Median ohne Einnahme, der 22,59% ergab. Kein signifikanter Unterschied bestand in den Konzentrationen für VEGF zwischen den Gruppen mit und ohne Simvastatin-Einnahme ($p < 0,514$). Ein leichter Trend für einen erhöhten Median von VEGF im Sulkusfluid ohne Simvastatin-Einnahme stellte sich bei Betrachtung der Mediane dar: mit Simvastatin-Einnahme betrug der Wert VEGF: 9,91 ng/ml, ohne Simvastatin-Einnahme betrug der Wert VEGF: 18,36 ng/ml. Eine vermehrte Ausschüttung des VEGF durch die Aortic Smooth Muscle Cell Line-A10 *in vitro* und eine erhöhte VEGF-Plasmakonzentration *in vivo* im Tierversuch wurde von Takenaka et al. dosisabhängig unter Simvastatin-Einnahme beschrieben. Sie beschrieben einen Effekt von Simvastatin auf die Mitogen-Activated-Protein (MAP) -kinase p44/42, die für eine VEGF-Konzentrationserhöhung verantwortlich ist. VEGF induziert die endotheliale Proliferation, fördert die Zellwanderung und hemmt die Zell-Apoptose. *In vivo* induziert VEGF die Angiogenese sowie eine erhöhte Permeabilität der Blutgefäße (Takenaka et al. 2003). Kureishi et al. konnten zeigen, dass Simvastatin-Gaben *in vitro* die Proteinkinase Akt/PKB in Endothelzellen aktivierte, diese durch eine Phosphorylierung von eNOS zu einer gesteigerten Stickoxid (NO) Produktion führte und zu einer verbesserten Überlebensrate bei Endothelzellen führte. Eine erhöhte NO-Konzentration verringerte die Thrombozyten-Anlagerung an das Endothel von Gefäßen, die Entzündung von Endothelzellen und erhöhte die Smooth Muscle Cell-Proliferation in

Gefäßen, welches zu einer verbesserten Perfusion der umgebenden Gewebe führte. Die Autoren zeigten ebenfalls im Tierversuch, dass Simvastatin-Gaben ähnlich wie VEGF-Gaben die Gefäßneubildung im Gewebe förderte (Kureishi et al. 2000). Maeda et al. konnten *in vitro* zeigen, dass die VEGF-Sekretion durch die nicht-transformierte Zelllinie (MCT3T3-E1) mittels Gabe von 10^{-6} M Simvastatin in das Kulturmedium gesteigert werden konnte (Maeda et al. 2003). Diese Beobachtungen können durch die vorliegende Studienergebnisse nicht bestätigt werden.

Auch in der Studie von Fentoglu et al. wurde in der Gruppe mit Atorvastatin-Einnahme und chronischer Parodontitis im Vergleich mit den systemisch gesunden Gruppen ohne Atorvastatin-Einnahme und mit chronischer Parodontitis bei gleichen klinischen Messwerten für die chronische Parodontitis ein signifikant höherer Wert für BOP ($p < 0,001$) gemessen. Die Autoren interpretierten ihre Beobachtung damit, dass der Grad der Verschlechterung des Fettstoffwechsels mit einer Parodontitis vergesellschaftet ist und die Hyperlipidämie das Entzündungsgeschehen zusätzlich durch ihre inflammatorische Komponente beeinflusst (Fentoglu et al. 2011a). Die vermehrte Ausschüttung von VEGF durch Anreicherung von Simvastatin im parodontalen Gewebe und nicht im Sulcusfluid sowie die zusätzliche Ausschüttung von weiteren Entzündungsmediatoren in das Plasma durch die Hyperlipoproteinämie können als Erklärung für die erhöhten BOP-Messwerte dienen. Eine Wirkung von Simvastatin auf die Parodontitis konnte von Saxlin und Kollegen bei vorhandener Plaque-Akkumulation und/oder BOP retrospektiv beobachtet werden. Sie folgerten, dass Simvastatin nur bei bereits vorhandenen parodontalen Entzündungszeichen wie Plaque und vermehrtem BOP seine antiinflammatorische Wirkung entfalten kann, da bei Fehlen dieser Parameter mehr vertiefte parodontale Taschen unter Simvastatin-Einnahme retrospektiv beobachtet wurden (Saxlin et al. 2009). In vorliegender Studie beobachteten wir das Gegenteil. In der Gruppe mit Simvastatin-Einnahme lag bei fast gleichen Medianen für die Gesamt-Taschentiefe wie in der Gruppe ohne Simvastatin-Einnahme und fast gleichen Medianen für den Gesamt-Gingiva- und den Gesamt-Plaque-Index ein signifikant höherer Wert für BOP in der Gruppe mit Simvastatin-Einnahme vor. In vorliegender Studie konnte die Beobachtung von Saxlin und Kollegen nicht bestätigt werden und es besteht die Vermutung, dass Simvastatin unabhängig von der parodontalen Entzündung wie von anderen Autoren

beschrieben (Kureishi et al. 2000; Takenaka et al. 2003) eine erhöhte VEGF Ausschüttung bewirkt und klinisch zu erhöhten Werten für BOP führt.

Die Mediane der Konzentrationen von MMP-9 im Sulkusfluid lagen mit 27,61 µg/ml (Simvastatin-Einnahme) und 28,82 µg/ml ohne (Simvastatin-Einnahme) dicht beieinander, und es bestand mit $p < 0,799$ kein signifikanter Unterschied. Ein deutlicher Unterschied zeigte sich gegenüber der gesunden Kontrolle mit einer MMP-9 Konzentration von 6,7 µg/ml. Der Unterschied war mit $p < 0,317$ jedoch nicht signifikant. Es lag eine erhöhte MMP-9 Konzentration im Sulkusfluid bei chronischer Parodontitis gegenüber Gesunden vor wie in früheren Studien beschrieben (Pozo et al. 2005; Rai et al. 2008; Soder et al. 2006). Ein direkter Einfluss von Simvastatin auf die Ausschüttung von MMP-9 wie von (Thunyakitpisal und Chaisuparat 2004) dargestellt, konnte in dieser Untersuchung nicht bestätigt werden.

Die Dosierungen von 5-40 mg Simvastatin ergaben bei den Probanden im Median einen Wert von 10 mg/Tag. Simvastatin zeigte in einer anderen Untersuchung nach der First Pass-Elimination in der Leber eine Plasmakonzentration von 5% bei einer zeitlich begrenzten maximalen Konzentration nach 2 Stunden von 10^{-9} bis 10^{-7} M Simvastatin im Plasma von gesunden Patienten, die 40 mg als einmalige Dosis einnahmen. Die Konzentrationsangaben von Simvastatin im Plasma lagen bei 4,9–13,4 ng/ml mit einer Eliminations-Halbwertszeit von 3,5 - 3,6 Stunden (Yang et al. 2003). Najib et al. berichteten nach der Einnahme von 40 mg Simvastatin-Zocor® über Simvastatin Plasmakonzentrationen von 3,24 ng/ml \pm 1,73 nach 1,80 \pm 1,24 Stunden, wobei es sich bei Zocor® um das Medikament handelte, das auch die Patienten vorliegender Studie einnahmen. Der aktive Metabolit, der die HMG-Co A Reduktase inhibiert, zeigte nach 4,24 \pm 1,33 Stunden eine maximale Konzentration von 0,73 ng/ml \pm 0,63 (Najib et al. 2003). Die Molare Masse von Simvastatin ist 418,57 g \times mol⁻¹ und umgerechnet auf eine Plasmakonzentration von 10^{-7} M Simvastatin nach der Einnahme von 40 mg ergibt sich eine Konzentration von 0,041857 µg/ml im Plasma. Im Sulkusfluid bei einer wie von Sakoda und Kollegen beschriebenen 10- bis 100-fachen Anreicherung von Pharmaka im Parodontalspalt gegenüber dem Plasma, ergibt sich nach Beobachtungen von Najib et al. bei einer Einnahme von 10 mg Simvastatin-Zocor® eine maximale Konzentration von 0,081 µg/ml Simvastatin im Sulkusfluid und 0,01825 µg/ml des aktiven hydrolysierten Inhibitors (Najib et al. 2003; Sakoda et al. 2006). Legt man die von Yang et al. im Plas-

ma gemessenen maximalen Konzentrationen von Simvastatin zugrunde, dann ergeben sich bei einer 100-fachen Konzentration im Sulkusfluid nach der Einnahme von 10 mg Simvastatin maximale Werte von 0,335 µg/ml Simvastatin (Sakoda et al. 2006; Yang et al. 2003). Wir nehmen an, dass im Sulkusfluid nach der Einnahme einer Dosis von 10 mg Simvastatin eine entsprechend hohe Plasmakonzentration von Simvastatin pro ml vorlag, die in den oben erwähnten *in vitro* Studien eine signifikante Reduktion der Zytokine IL-6 und IL-8 bewirkte. Ein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen mit und ohne Simvastatin-Einnahme *in vivo* konnte in dieser Studie nicht beobachtet werden. In der Studie von Pradeep et al. wurden 1,2 mg Simvastatin / 0,1 ml Methylzellulose-Gel nach mechanischer Wurzelreinigung und -Glättung im Rahmen einer Parodontaltherapie topisch in den Parodontalspalt appliziert. Nach zwei Stunden führte dies zu Konzentrationen von maximal 11,43 ± 0,0027 µg/ml Simvastatin im Sulkusfluid. Nach 7 Tagen lag die Konzentration bei 2,46 ± 0,36 µg/ml, sie beobachteten nach 6 Monaten bei einer Simvastatin-Freisetzung von 30 Tagen einen signifikanten Rückgang des Gingivaindex, des klinischen Attachment-Verlusts und des Knochenabbaus im Vergleich mit der Kontrollgruppe ohne Simvastatin-Einnahme. Die Autoren vermuteten eine Erhöhung der Expression von BMP-2 während der Knochenheilung, anti-entzündliche Effekte und eine verstärkte Angiogenese während der Wundheilung als Grund für die besseren Heilungsergebnisse in der Gruppe mit Simvastatin-Applikation (Pradeep und Thorat 2010).

Eine durch IL-1 α induzierte Sezernierung von IL-6 und IL-8 durch Epithelzellen *in vitro*, konnte durch Simvastatin-Gaben von 10^{-6} – 10^{-8} M dosisabhängig reduziert werden, wobei die höheren Simvastatin-Konzentrationen eine deutlichere Senkung der IL-6- und IL-8 Konzentration *in vitro* bewirkten. Dieser Effekt konnte durch die Gabe von Mevalonat oder Geranylgeranyl Pyrophosphat rückgängig gemacht werden (Sakoda et al. 2006). Eine signifikante Zellproliferation von humanen PDL-Zellen, die Aktivität der alkalinen Phosphatase, und ein Anstieg der Expression von Osteopontin konnten *in vitro* durch Gabe von 10^{-8} - 10^{-7} M Simvastatin von Yazawa et al. beobachtet werden. Sie beschrieben, dass die enterale Einnahme von 20 mg Simvastatin zu optimal wirksamen Konzentrationen von 10^{-8} M im Plasma führt. Es konnte durch Zugabe von Mevalonat *in vitro* eine Aufhebung der Wirkung von Simvastatin beobachtet werden (Yazawa et al. 2005). Die geringe Bioverfügbarkeit von Simvastatin wird auf den durch das Isoenzym

Cytochrome P450 (CYP) 3A4 gesteuerten First-Pass Metabolismus im Darm und in der Leber zurückgeführt. Die großen bis um den Faktor 10 schwankenden interindividuellen Unterschiede in der Plasmakonzentration von Simvastatin sind auch auf Unterschiede in der Aktivität des umwandelnden Enzyms CYP3A4 zurückzuführen (Kim et al. 2011). Interessant ist, dass Simvastatin ein Prodrug ist und das nach der enzymatischen *in vivo* Hydrolyse des Lactonrings durch CYP 3A4 beta-Hydroxysäure Mevinolinsäure entsteht, die ihre blockierende Wirkung auf die HMG-CoA-Reduktase ausübt sowie auf die Cholesterinsynthese und den Mevalonat-Stoffwechsel. In den bereits publizierten *in vitro* Studien über Simvastatin und die Wirkung von Simvastatin auf Entzündungsmediatoren und den Knochen, wurde hauptsächlich nur das auf die HMG-CoA-Reduktase unwirksame Prodrug Simvastatin verwendet und nicht der aktive Säuremetabolit. Es stellt sich die Frage, wie es hier zu einer signifikanten nachgewiesenen entzündungshemmenden Wirkung kommen konnte, obwohl nur eine sehr geringe Hydrolyse von Simvastatin in anderen Geweben bzw. keine Hydrolyse zum aktiven Metaboliten *in vitro* stattfand (Calixto et al. 2011; Ismail 2006; Thunyakitpisal und Chaisuparat 2004; Wu et al. 2008). Paradoxerweise ergab die Zugabe von Mevalonat *in vitro* eine Reduktion der entzündungshemmenden Wirkung von Simvastatin, obwohl nicht mit einer Wirkung auf die Cholesterin-Synthese und den Mevalonat-Stoffwechsel durch das inaktive Simvastatin zu rechnen ist (Sakoda et al. 2006). Ma et al. verwendeten aktiviertes Simvastatin *in vitro* im Tierversuch zur Knochenaugmentation von Extraktions-Alveolen zusammen mit β -Tricalciumphosphat, da sie vermuteten, dass die geringe lokale Enzymkonzentration den Hauptteil des Simvastatins in der unwirksamen Lacton-Form belassen würde. Sie konnten eine signifikante Verbesserung in der Knochenheilung durch lokale Simvastatinapplikation des aktiven Metaboliten und keine Wirkung durch die systemische Simvastatin-Einnahme im Tierversuch beobachten (Ma et al. 2008). Sugiyama et al. konnten anhand einer humanen Osteosarkom-Zell-Line *in vitro* zeigen, dass die Gabe von Mevalonat die zuvor durch Simvastatin induzierte Expression von BMP-2 komplett inhibierte. Ein Zusammenhang, wie durch die Blockade der HMG Co-A Reduktase eine vermehrte Expression von BMP-2 entsteht, konnte von ihnen nicht geklärt werden (Sugiyama et al. 2000). Die bereits 1999 von Mundy et al. veröffentlichte Untersuchung konnte schon zeigen, dass Simvastatin *in vitro* und *in vivo* einen signifikanten Effekt auf die Expression von BMP-2 mRNA und die Knochenproliferation hat. Auch die enterale

Einnahme von Simvastatin, allerdings in höheren Dosen als im therapeutischen Bereich, führte im Tierversuch an Ratten zu signifikanten Verbesserungen der Knochendichte (Mundy et al. 1999).

Die oben beschriebenen Wirkungsweisen und die Effekte von Simvastatin und seinem aktiven Metaboliten bestätigen und widersprechen sich teilweise in unterschiedlichen Untersuchungen zu der Wirkung auf Entzündungen, Entzündungsfaktoren und den Knochen. Die Untersuchungen zur Wirkungsweise zeigen Effekte des aktiven Metaboliten, von Simvastatin als Prodrug sowie der systemischen enteralen Einnahme von Simvastatin und dem in der Leber und im Darm synthetisierten aktiven Metaboliten. Ergebnisse aus *in vitro* Untersuchungen lassen sich nicht oder nur teilweise auf die klinische Situation übertragen. Ein vollständiges und umfassendes Verständnis des Wirkmechanismus liegt bisher nicht vor und bedarf weiterer Untersuchungen. Simvastatin scheint viele unterschiedliche Faktoren form- und konzentrationsabhängig zu beeinflussen. Eine vollständige Beschreibung der Wirkungsweise sowie der Abläufe auf der Ebene der Signalmoleküle im Parodont, wie zum Beispiel die Wirkungsweise von Simvastatin auf die kleinen G-Proteine Rho und Rac, liegt bis heute noch nicht vor.

Ergebnisse aus Studien über die Wirkung der kleinen G-Proteine legen die Vermutung nahe, dass deren Beeinflussung über die Blockierung der HMG-Co-A Reduktase eine Erklärung für die antientzündliche Wirkung von Simvastatin geben könnte. Die Phagozytose von mit Komplement opsonierten Partikeln durch Makrophagen wird durch den Makrophagen-Rezeptor CR3 vermittelt und hängt mit dem G-Protein / GTPase Rho zusammen. Der CR3-Rezeptor, ein Integrin, befindet sich an der Oberfläche von Makrophagen in nicht aktivierter Form. Inflammatorische Botenstoffe können das Integrin aktivieren. Dazu gehören Lipopolysaccharide, TNF- α und Platelet activating factor. Eine verminderte Synthese von Mevalonat führt zu einer reduzierten Synthese dieses Rezeptors und zu einer geringeren Entzündungsaktivität (Bar-Sagi und Hall 2000; Caron et al. 2000). Eine weitere Studie gab ebenfalls einen Hinweis auf die Wirkungsweise von Simvastatin in Bezug auf die Signalproteine Rho und Ras. *In vitro* konnte an menschlichen Bronchialzellen eine durch die Zugabe von 300 ng/l bakteriellen LPS verstärkte Kontraktionsfähigkeit durch die Gabe von 1 μ M Simvastatin aufgehoben werden. Gaben von Geranyl-Geranyl-Pyrophosphat und Farnesyl-Pyrophosphat, Metaboliten des Mevalonat-Stoffwechsels, verstärkten die Wirkung von LPS auf die Bronchokonstriktion. Die

Gaben ihrer Inhibitoren schwächten diese Reaktion ab. Es bestand ein direkter Zusammenhang mit der Blockierung des Mevalonat-Stoffwechsels durch Simvastatin, der entzündlichen Wirkung von bakteriellen Lipopolysacchariden und der Signalübertragung einer Immunantwort durch die kleinen GTPasen / G-Proteine Rho und Ras (Cazzola et al. 2011). An Cholangiozyten aus Gallenkanälchen der Leber führte die bakteriell induzierte Wirkung von LPS zu einer Aktivierung des Toll-like Rezeptors mittels der GTPase Ras, das zu einer schnellen Erhöhung der Konzentration von IL-6 führte (O'Hara et al. 2011). Es besteht ein nachgewiesener Zusammenhang zwischen einer hemmenden Wirkung von Simvastatin über die Inhibierung der HMG-Co-A Reduktase und die verminderte Synthese von Mevalonat auf die Synthese der GTPasen Ras und Rho. Simvastatin reduziert die Wirkung von bakteriellen Lipopolysacchariden unter anderem auf die durch N-Ras vermittelte erhöhte Ausschüttung von IL-6 und bewirkt eine geringere durch Makrophagen induzierte Entzündungsaktivität aufgrund einer reduzierten CR3-Rezeptorsynthese über eine Hemmung der GTPase Rho.

Bisphosphonate der 2. und 3. Generation hemmen die Farnesyldiphosphatsynthase, ein Enzym auf dem Weg vom Mevalonat zur Cholesterol-Synthese, das die Umwandlung von Geranylpyrophosphat zu Farnesylpyrophosphat steuert. Es konnte durch Experimente *in vitro* gezeigt werden, dass durch die Zugabe von Geranyl-Geranyl-Pyrophosphat und Farnesyl-Pyrophosphat die inhibitorische Wirkung der Bisphosphonate auf Osteoklasten und den vermehrten Knochenabbau aufgehoben wurde (van Beek et al. 1999; Ziebart et al. 2011). Hier scheint ein ebenfalls über die verminderte Synthese und Signalwirkung der G-Proteine vermittelter Effekt, der unter der Wirkung von Simvastatin durch die veränderte Signaltransduktion ähnlich abläuft, vorzuliegen und ebenfalls durch Zugabe von Geranyl-Geranyl-Pyrophosphat rückgängig gemacht werden kann. Eine genaue Analyse dieser ähnlichen Wirkmechanismen und deren Effekt auf den Knochenabbau und das umliegende parodontale Gewebe sollte weiter untersucht werden.

6 Schlussfolgerung

Der genaue Wirkmechanismus von Simvastatin auf die chronische Parodontitis ist noch nicht vollständig durch klinische Studien dargestellt worden. Besonders auf zellulärer Ebene und im Bereich der Kommunikation der Zellen mittels Signalmolekülen ist eine umfassende Beschreibung der durch Simvastatin veränderten Signalkaskaden bisher nur teilweise gelungen. Die Simvastatin-Menge, die Applikationsform -systemisch oder lokal- und die Beschaffenheit des Gewebes scheinen eine wichtige Rolle bei der Behandlung der chronischen Parodontitis mit Simvastatin zu spielen. In dieser Pilot-Studie konnten keine antiinflammatorischen Effekte der Einnahme einer Standard-Dosis Simvastatin auf die klinischen Entzündungsparameter und die Konzentrationen von IL-6, IL-8, VEGF und MMP-9 im parodontalen Sulkusfluid von Patienten mit chronischer Parodontitis gezeigt werden. Es konnte ein signifikanter Unterschied im BOP zwischen den Gruppen mit und ohne Simvastatin-Einnahme festgestellt werden, wobei sich hier bei Simvastatin-Einnahme verstärkte BOP zeigte. Worauf dieser Effekt zurückzuführen ist, konnte in dieser Untersuchung nicht abschließend geklärt werden. Vermutlich führt Simvastatin zu einer erhöhten Neovaskularisation im Gewebe, die sich in vorliegender Untersuchung nicht in einer erhöhten VEGF-Konzentration im Sulkusfluid darstellte. Unterschiede für die Konzentrationen von IL-6, IL-8, VEGF und MMP-9 zeigten sich bei Probanden mit chronischer Parodontitis und der parodontal gesunden Kontrolle, die wesentlich niedrigere Werte aufwies. Bis heute fehlen große multizentrische prospektive randomisierte klinische Studien über Simvastatin und dessen Anwendung bei chronischer Parodontitis, um einen positiven pleiotropen Effekt einer systemischen Simvastatin-Einnahme bzw. einer lokalen Simvastatin-Applikation auf die chronische Parodontitis nachweisen zu können und die Wirkmechanismen auf molekularbiologischer Ebene zu entschlüsseln. Diese Erkenntnisse wären auch für die Behandlung von anderen chronischen Entzündungszuständen mit Simvastatin hilfreich. Gerade die bereits untersuchte Wirkung von Simvastatin auf die Knochenheilung bietet vielfältige Möglichkeiten eines Einsatzes im Zusammenhang mit Maßnahmen der gesteuerten Knochenregeneration.

7 Zusammenfassung

7.1 Einführung

Die Interleukine (IL) IL-6 und IL-8, die an der akuten und chronischen Entzündung beteiligt sind, liegen bei chronischer Parodontitis im Sulkus in erhöhter Konzentration vor. Diese Zytokine und Entzündungsmediatoren veranlassen die Ausschüttung von Matrixmetalloproteinasen (MMP-9), die abbauend auf die extrazellulären Gewebsabschnitte und den umgebenden Knochen wirken. Simvastatin ist ein HMG-Co A Reduktase-Inhibitor, der bei Störungen des Fettstoffwechsels und zur Vorbeugung von Herz-Kreislauf-Erkrankungen bei Risikogruppen eingesetzt wird. Klinisch retrospektive Untersuchungen sowie *in vitro* Studien und *in vivo* Tierversuchsstudien konnten einen protektiven Effekt vor einer Progression der Parodontitis und eine Verminderung des Knochenabbaus sowie eine Erhöhung von VEGF im Knochen mit erhöhter Knochenapposition nachweisen. Ziel dieser Studie war der Nachweis einer entzündungshemmenden Wirkung durch eine Simvastatin-Standardtherapie auf die chronische Parodontitis beim Menschen.

7.2 Methoden

In die Studie eingeschlossen wurden 24 an chronischer Parodontitis erkrankte Patienten, wovon 12 Patienten der Verum-Gruppe seit mindestens 3 Monaten das Medikament Simvastatin einnahmen. Die tägliche Dosis variierte zwischen 5 mg/d und 40 mg/d und betrug im Median 10 mg/d. Die Patienten der Kontrollgruppe nahmen wie die der Verum-Gruppe keine immunmodulatorischen Medikamente ein und wurden als Fall-Kontroll-Studie in Alter, Geschlecht und Parodontalzustand der Verum-Gruppe zugeordnet. 7 Tage nach Erhebung des Parodontalstatus und professioneller Zahnreinigung wurde an den ersten Molaren eines jeden Quadranten zweimal Sulkusfluid entnommen und quantifiziert. Die Analyse der Sulkusflüssigkeit erfolgte nach Homogenisierung mittels handelsüblicher Sandwich-Enzymimmunoassays. Für alle Bestimmungen wurden Doppelmessungen durchgeführt, für die statistische Analyse wurden die berechneten Mediane verwandt. Zwei Proben einer gesunden Person dienten als Kontrolle.

7.3 Ergebnisse

Die Patienten waren im Median 66 Jahre alt, die Krankheitsdauer hinsichtlich der Parodontitis betrug im Median 5,5 Jahre für die Statin-Behandelten und 7,7 Jahre für die Patienten ohne Simvastatintherapie. Die Gruppen unterschieden sich nicht hinsichtlich Geschlechterverteilung, Alter, Größe, Gewicht und Parodontitis-Behandlungsdauer. Die Konzentrationen in der Sulkusflüssigkeit für IL-6 und IL-8 betragen für Patienten mit Simvastatin-Einnahme im Median 3,08 ng/ml (Q25: 2,13 / Q75: 3,92) und 121,74 ng/ml (Q25: 94,06 / Q75: 190,82). Die Konzentrationen bei Patienten ohne eine kontinuierliche Statin-Therapie lagen bei 2,06 ng/ml (Q25: 1,84 / Q75: 3,14) für IL-6 und 132,43 ng/ml (Q25: 84,05 / Q75: 378,42) für IL-8. In der Gruppe mit Simvastatin-Einnahme ergaben die Messungen für MMP-9 im Median 27,61 µg/ml (Q25: 12,08 / Q75: 48,15) und in der Gruppe ohne Einnahme 28,82 µg/ml (Q25: 19,43 / Q75: 46,08). Für VEGF betragen die Mediane der Konzentrationen in der Gruppe mit Simvastatin-Einnahme 9,91 ng/ml (Q25: 0,00 / Q75: 23,18) und in der Gruppe ohne Einnahme 18,36 ng/ml (Q25: 6,25 / Q75: 22,30). Für die gesunden Kontrollen lagen die IL-6-Konzentrationen im Median bei 0,41 ng/ml, für IL-8 bei 30,5 ng/ml, für VEGF bei 5,40 ng/ml (Q25: 5,24 / Q50: 5,40) sowie für MMP-9 bei 6,70 µg/ml (Q25: 5,89 / Q50: 6,70). Für BOP zeigte sich zwischen den Gruppen mit Simvastatin-Einnahme (41,26%) und ohne Einnahme (22,59%) ein signifikanter Unterschied. Statin-behandelte Patienten zeigten keine signifikanten Unterschiede für die Konzentrationen von IL-6, IL-8, VEGF und MMP-9. Deutliche nicht signifikante Unterschiede zeigten sich im Hinblick auf die gesunde Kontrolle. Korrelationen mit Krankheitsdauer, Alter oder BMI waren nicht vorhanden.

7.4 Diskussion

Signifikante Unterschiede von IL-6 und IL-8, MMP-9 und VEGF im Sulkusfluid von Patienten mit chronischer Parodontitis unter Simvastatin-Therapie im Vergleich zu Patienten ohne Simvastatin-Medikation konnten in dieser Pilotstudie nicht nachgewiesen werden. Die Einnahme von Simvastatin führte bei gleichen parodontalen Verhältnissen in den Vergleichsgruppen, anders als bei früheren Untersuchungen, bei einer geringeren Konzentration von VEGF im Sulkusfluid zu einer signifikanten Erhöhung von BOP. Hier zeigte sich ein neuer Effekt von Simvastatin auf die chronische Parodontitis. Die gesunde Kontrolle zeigte jedoch wie erwartet deutlich niedrigere Konzentrationen von IL-6, IL-

8, MMP-9 und VEGF im Vergleich zu beiden an chronischer Parodontitis erkrankten Gruppen. Ob eine Erhöhung der Dosis, die Dauer der Einnahme und die Applikationsart möglicherweise einen positiven Effekt auf die chronische Parodontitis haben könnten, konnte in vorliegender Studie nicht geklärt werden.

8 Summary

8.1 Introduction

Interleukins (IL) IL-6 and IL-8 which are involved in acute and chronic inflammation in chronic periodontitis are increased in the gingival crevicular fluid (GCF). These cytokines and inflammatory mediators induce the secretion of Matrix Metalloproteinases (MMP-9) which have a degrading effect on the extracellular tissue and the surrounding bone. Simvastatin is a HMG-CoA reductase inhibitor in treating disorders of lipid metabolism and in preventing cardiovascular disease in high-risk groups. Retrospective studies and clinical *in vitro* and *in vivo* (animal) studies have demonstrated a protective effect against progression of periodontal disease, a reduction in bone breakdown and an increase of VEGF in bone resulting in increased bone apposition.

The aim of this study was to demonstrate an antiinflammatory effect of simvastatin by standard therapy on chronic periodontitis.

8.2 Methods

24 patients with chronic periodontitis were included in the study. 12 of whom were treated with simvastatin (treatment group) for at least 3 months, the remaining 12 patients served as controls. None of the patients received immunomodulating therapy. Patients (treatment group / controls) were matched for age, gender and periodontal status. Seven days after the periodontal status was examined and professional tooth cleaning on the first molars of each quadrant was performed, GCF samples were taken twice and quantified. Analysis of GCF was performed after homogenization using commercial sandwich enzyme immunoassays. Measures were performed twice, for statistical analysis calculated medians were used. Two samples of a healthy person served as controls.

8.3 Results

In 24 patients of the treatment group and controls the median age was 66 years. Median duration with regard to periodontitis was 5,5 years for statin-treated patients and 7,7 years for patients without simvastatin-therapy. Both groups did not differ in gender distribution, age, height, weight and periodontal treatment. Median concentrations in GCF for IL-6 and IL-8 for patients taking simvastatin were 3,08 ng / ml (Q25: 2,13 / Q75: 3,92) and 121,74 ng / ml (Q25: 94,06 / Q75: 190,82). Concentrations in patients without statin therapy were at 2,06 ng / ml (Q25: 1,84 / Q75: 3,14) for IL-6 and 132,43 ng / ml (Q25: 84,05 / Q75: 378,42) for IL-8. In the group receiving simvastatin MMP-9 amounted to a median of 27,61 ug / ml (Q25: 12,08 / Q75: 48,15), in the group without statins 28,82 g / ml (Q25: 19,43 / Q75: 46,08). Median concentrations of VEGF in the simvastatin-group were 9,91 ng / ml (Q25: 0 / Q75: 23,18), in the control group 18,36 ng / ml (Q25: 6, 25 / Q75: 22,30).

In healthy controls, median IL-6 concentrations were found to be 0,41 ng / ml, in IL-8 30,5 ng / ml, in VEGF 5,40 ng / ml (Q25: 5,24 / Q50 : 5,40), in MMP-9 6,70 ug / ml (Q25: 5,89 / Q50: 6,70). Statin-treated patients did not show significant differences neither in IL-6 and IL-8 concentrations, nor in VEGF and MMP-9. Significant differences were observed regarding healthy control. No correlations regarding disease duration, age and BMI were found.

8.4 Discussion

In our study simvastatin-therapy has lead to significant increase of BOP. In this pilot study a reduction of IL-6 and IL-8, VEGF and MMP-9 in GCF of patients with chronic periodontitis under simvastatin therapy compared to patients without simvastatin medication could not be detected. The periodontally healthy control showed remarkable lower concentrations regarding IL-6, IL-8, VEGF and MMP-9 compared to two groups suffering from chronic periodontitis. Whether increase of the dose, duration of drug-intake or drug- administration might have a positive effect on chronic periodontitis could not be clarified in the present study.

9 Tabellen und Abbildungen

TAB. 1 RELEVANTE STUDIEN ZUR WIRKUNG VON SIMVASTATIN AUF KNOCHEN UND PARODONTITIS.....	32
TAB. 2 ALLGEMEINERKRANKUNGEN I BEI PATIENTEN MIT UND OHNE SIMVASTATIN-EINNAHME .	55
TAB. 3 ALLGEMEINERKRANKUNGEN II BEI PATIENTEN MIT UND OHNE SIMVASTATIN-EINNAHME	56
TAB. 4 ALLGEMEINERKRANKUNGEN III BEI PATIENTEN MIT UND OHNE SIMVASTATIN-EINNAHME	56
TAB. 5 ALLGEMEINERKRANKUNGEN VI BEI PATIENTEN MIT UND OHNE SIMVASTATIN-EINNAHME	57
TAB. 6 SIMVASTATIN-DOSIS UND EINNAHMEZEITRAUM	58
TAB. 7 LETZTE PARODONTITIS-THERAPIE, PZR IN MONATEN UND ERSTMANIFESTATION DER PARODONTITIS IN JAHREN	58
TAB. 8 PLAQUE INDEX UND GINGIVAINDEX NACH SILLNESS UND LOE MIT UND OHNE SIMVASTATIN-EINNAHME	59
TAB. 9 BLEEDING ON PROBING IN PROZENT MIT UND OHNE SIMVASTATIN-EINNAHME UND AUFTEILUNG NACH GESCHLECHT	61
TAB. 10 MEDIANE DER PARODONTALEN TASCHELTIEFEN UND CAL AN DEN ENTNAHMEZÄHNEN 16 UND 26 FÜR SULKUSFLUID IN MM	62
TAB. 11 MEDIANE DER PARODONTALEN TASCHELTIEFEN UND DES KLINISCHEN ATTACHMENT- VERLUSTS ALLER ZÄHNE IN MM	63
TAB. 12 PERIOTRON® 8000-MESSUNGEN IM MEDIAN AN DEN ZÄHNEN 16 UND 26 NACH SIMVASTATIN-EINNAHME UND GESCHLECHT AUFGETEILT	65
TAB. 13 IL-6- UND IL-8 KONZENTRATIONEN AN 16 MIT UND OHNE SIMVASTATIN-EINNAHME ...	66
TAB. 14 IL-6- UND IL-8 KONZENTRATIONEN AN 26 NACH SIMVASTATIN-EINNAHME	66
TAB. 15 IL-6 UND IL-8 GESAMTMESSUNGEN MIT UND OHNE SIMVASTATIN-EINNAHME	67
TAB. 16 VEGF UND MMP-9 KONZENTRATIONEN AN 16 NACH SIMVASTATIN-EINNAHME.....	69
TAB. 17 VEGF UND MMP-9 KONZENTRATIONEN AN 26 NACH SIMVASTATIN-EINNAHME	70
TAB. 18 VEGF UND MMP-9 GESAMTMESSUNGEN MIT UND OHNE SIMVASTATIN-EINNAHME ...	71
TAB. 19 VERGLEICH DER MEDIANE ZWISCHEN DEN GRUPPEN MIT UND OHNE SIMVASTATIN- EINNAHME	72
TAB. 20 KORRELATION NACH SPEARMAN MIT ZWEISEITIGER SIGNIFIKANTER BEEINFLUSSUNG EINZELNER MESSERGEBNISSE.....	73

ABB. 1: MODIFIZIERTES MODELL DER ÄTIOPATHOGENESE NACH (PAGE UND KORNMAN 1997).	10
ABB. 2: SCHEMATISCHE ÜBERSICHT ÜBER DIE PATHOGENEN PROZESSE DER PARODONTITIS IM SULKUS UND IM GEWEBE, MODIFIZIERT NACH (KINNEY ET AL. 2007).....	22
ABB. 3 PERIOTRON® 8000 ABB. 4 PERIOPAPER®-STREIFEN.....	23
ABB. 5:ÜBERSICHT ÜBER HMG-Co A REDUKTASE-INHIBITOREN.....	25
ABB. 6: SCHEMATISCHE DARSTELLUNG DER BLOCKIERUNG DES SCHLÜSSELENZYMS HMG- COA REDUKTASE DURCH STATINE, MODIFIZIERT NACH (WEITZ-SCHMIDT 2002).....	26
ABB. 7: BEFUNDBOGEN	38
ABB. 8: KALIBRIERUNGSKURVE PERIOTRON® 8000 MIT DEN MITTELWERTEN AUS DEN TESTFLÜSSIGKEITEN SPEICHEL, NaCl 0,9% UND SERUM IN µL (SAIDOWA 2011).	42
ABB. 9: QUANTIKINE® HUMAN IL-6 VERDÜNNUNGSREIHE (HERSTELLERANGABEN R&D SYSTEMS, INC.)	45
ABB. 10: QUANTIKINE® HUMAN IL-8 VERDÜNNUNGSREIHE (HERSTELLERANGABEN R&D SYSTEMS, INC.)	46
ABB. 11: QUANTIKINE® HUMAN MMP-9 VERDÜNNUNGSREIHE (HERSTELLERANGABEN R&D SYSTEMS, INC.)	50
ABB. 12: QUANTIKINE® HUMAN VEGF VERDÜNNUNGSREIHE (HERSTELLERANGABEN R&D SYSTEMS, INC.)	51
ABB. 13: DER BMI MIT UND OHNE SIMVASTATIN-EINNAHME.....	55
ABB. 14: LETZTE PA-THERAPIE, PZR IN MONATEN UND ERSTMANIFESTATION DER PARODONTITIS IN JAHREN:	59
ABB. 15: PLAQUE INDEX UND GINGIVAINDEX NACH SILLNESS UND LOE MIT UND OHNE SIMVASTATIN-EINNAHME NACH GESCHLECHT VERTEILT.....	60
ABB. 16: VERTEILUNG DER MEDIANE VON BLEEDING ON PROBING ALLER ZÄHNE NACH GESCHLECHT UND SIMVASTATIN-EINNAHME.....	61
ABB. 17: TASCHENTIEFEN UND CAL AN DEN ZÄHNEN 16 UND 26 IN MM	63
ABB. 18: VERTEILUNG DER MITTELWERTE DER TASCHENTIEFEN ALLER ZÄHNE NACH GESCHLECHT UND SIMVASTATIN-EINNAHME.....	64
ABB. 19: ENTNOMMENES SULKUSFLUID AN DEN ZÄHNEN 16 UND 26 IN µL AUFGETEILT NACH SIMVASTATIN-EINNAHME UND GESCHLECHT.....	65
ABB. 20: GESUNDE KONTROLLE OHNE SIMVASTATIN-EINNAHME	67
ABB. 21: IL-6-GESAMTMESSUNG MIT UND OHNE SIMVASTATIN-EINNAHME	68
ABB. 22: IL-8-GESAMTMESSUNG MIT UND OHNE SIMVASTATIN-EINNAHME	68
ABB. 23: VEGF GESAMT-KONZENTRATION MIT UND OHNE SIMVASTATIN-EINNAHME.....	70
ABB. 24: MMP-9 GESAMTMESSUNG MIT UND OHNE SIMVASTATIN-EINNAHME	71
ABB. 25: GESUNDE KONTROLLE OHNE SIMVASTATIN-EINNAHME	72

10 Abkürzungen

IL-1 α , β	Interleukin 1 alpha, beta
IL-6, -8	Interleukin-6, -8
TNF- α	Tumornekrosefaktor alpha
TGF- β 1	Transforming growth factor beta 1
TGF- α	Transforming growth factor alpha
PDGF-A	Platelet-derived growth factor subunit A
MMP-8, -9, -13	Matrix Metalloproteinase -8, -9, -13
PGE ₂	Prostaglandin E ₂
VEGF	Vascular endothelial growth factor
TIMPS 1	Tissue inhibitor of metalloproteinases 1
BMP-2	Bone morphogenetic protein 2
LPS	Lipopolysaccharide
mRNA	Messenger Ribonucleinsäure
DMS IV	Deutsche Mundgesundheitsstudie 4
CPI	Community-Periodontal-Index
NHANES	National Health and Nutrition Examination Survey
kDa	Kilo Dalton
GCF	Gingival crevicular fluid
LDL	Low Density Lipoprotein
HDL	High-density lipoprotein
HmG Co-A	3-Hydroxy-3-Methylglutaryl-Coenzym-A-Reduktase
THP-1	Human acute monocytic leukemia cell line 1
PDL- Zellen	Zellen des parodontalen Ligaments
PD	Pocket Depth
CAL	Clinical attachment loss
BOP	Bleeding on Probing
ELISA	Enzyme Linked Immunosorbent Assay
BMI	Body Mass Index
CYP 3A4	Cytochrom P450 3A4
COX-2	Cyclooxygenase-2
CHO	Chinese Hamster Ovary

11 Literaturverzeichnis

- Anderson P. Management of drinking problems. WHO regional publications European series 1990;32:1-168.
- Armitage GC. Development of a classification system for periodontal diseases and conditions. *Ann Periodontol* 1999;4:1-6.
- Bar-Sagi D, Hall A. Ras and Rho GTPases: a family reunion. *Cell* 2000;103:227-38.
- Birkedal-Hansen H. Proteolytic remodeling of extracellular matrix. *Curr Opin Cell Biol* 1995;7:728-35.
- Birkedal-Hansen H. Role of cytokines and inflammatory mediators in tissue destruction. *J Periodontal Res* 1993;28:500-10.
- Birkedal-Hansen H, Moore WG, Bodden MK, et al. Matrix metalloproteinases: a review. *Crit Rev Oral Biol Med* 1993;4:197-250.
- Birkedal-Hansen H, Taylor RE, Zambon JJ, Barwa PK, Neiders ME. Characterization of collagenolytic activity from strains of *Bacteroides gingivalis*. *J Periodontal Res* 1988;23:258-64.
- Boehm TK, Scannapieco FA. The epidemiology, consequences and management of periodontal disease in older adults. *J Am Dent Assoc* 2007;138 Suppl:26S-33S.
- Bolton AE. Biologic effects and basic science of a novel immune-modulation therapy. *Am J Cardiol* 2005;95:24C-9C.
- Booth V, Young S, Cruchley A, Taichman NS, Paleolog E. Vascular endothelial growth factor in human periodontal disease. *J Periodontal Res* 1998;33:491-9.
- Brauckhoff G, Kocher T, Holtfreter B, et al. Mundgesundheits. In: Gesundheitsberichterstattung des Bundes. Berlin: Robert Koch Institut, Statistisches Bundesamt; 2009:1-51.
- Calixto JC, Lima C, Frederico L, Lima R, Anbinder AL. The influence of local administration of simvastatin in calvarial bone healing in rats. *J Cranio-MaxilloFac Surg* 2011;39:215-20.
- Caron E, Self AJ, Hall A. The GTPase Rap1 controls functional activation of macrophage integrin α Mbeta2 by LPS and other inflammatory mediators. *Current biology* : CB 2000;10:974-8.
- Cazzola M, Calzetta L, Page CP, et al. Protein prenylation contributes to the effects of LPS on EFS-induced responses in human isolated bronchi. *American journal of respiratory cell and molecular biology* 2011;45:704-10.

- Chapple IL, Landini G, Griffiths GS, Patel NC, Ward RS. Calibration of the Periotron 8000 and 6000 by polynomial regression. *J Periodontal Res* 1999;34:79-86.
- Chapple IL, Matthews JB, Thorpe GH, et al. A new ultrasensitive chemiluminescent assay for the site-specific quantification of alkaline phosphatase in gingival crevicular fluid. *J Periodontal Res* 1993;28:266-73.
- Cimasoni G. Crevicular fluid updated. *Monogr Oral Sci* 1983;12:III-VII, 1-152.
- Conraads VM, Bosmans JM, Schuerwegh AJ, et al. Effect of short-term treatment with pravastatin on cytokines and cytokine receptors in patients with chronic heart failure due to ischemic and nonischemic disease. *J Heart Lung Transplant* 2005;24:1114-7.
- Cunha-Cruz J, Saver B, Maupome G, Hujoel PP. Statin use and tooth loss in chronic periodontitis patients. *J Periodontol* 2006;77:1061-6.
- Cutler CW, Arnold RR, Schenkein HA. Inhibition of C3 and IgG proteolysis enhances phagocytosis of *Porphyromonas gingivalis*. *J Immunol* 1993;151:7016-29.
- Deinzer R, Mossanen BS, Herforth A. Methodological considerations in the assessment of gingival crevicular fluid volume. *J Clin Periodontol* 2000;27:481-8.
- Delima AJ, Oates T, Assuma R, et al. Soluble antagonists to interleukin-1 (IL-1) and tumor necrosis factor (TNF) inhibits loss of tissue attachment in experimental periodontitis. *J Clin Periodontol* 2001;28:233-40.
- Dinarello CA. Historical insights into cytokines. *Eur J Immunol* 2007;37 Suppl 1:34-45.
- Ebersole JL. Systemic humoral immune responses in periodontal disease. *Crit Rev Oral Biol Med* 1990;1:283-331.
- Ehlers V, Kasaj A, Prescher N, Willershausen B. MMP-8-Messung bei Patienten mit chronischer Parodontitis und Schwangerschaftsgingivitis. *Deutsche Zahnärztliche Zeitschrift Deutscher Ärzte-Verlag, Köln* 2008;63:206-8.
- Endo A. The origin of the statins. 2004. *Atheroscler Suppl* 2004;5:125-30.
- Fajardo ME, Rocha ML, Sanchez-Marin FJ, Espinosa-Chavez EJ. Effect of atorvastatin on chronic periodontitis: a randomized pilot study. *J Clin Periodontol* 2010;37:1016-22.
- Fentoglu O, Koroglu BK, Hicyilmaz H, et al. Pro-inflammatory cytokine levels in association between periodontal disease and hyperlipidaemia. *J Clin Periodontol* 2011a;38:8-16.
- Fentoglu O, Koroglu BK, Kara Y, et al. Serum lipoprotein-associated phospholipase A and C-reactive protein levels in association with periodontal disease and hyperlipidemia. *J Periodontol* 2011b;82:350-9.
- Fiorucci S, Distrutti E, Mencarelli A, et al. Cooperation between aspirin-triggered lipoxin and nitric oxide (NO) mediates antiadhesive properties of 2-(Acetyloxy)benzoic acid 3-

(nitrooxymethyl)phenyl ester (NCX-4016) (NO-aspirin) on neutrophil-endothelial cell adherence. *J Pharmacol Exp Ther* 2004;309:1174-82.

Fives-Taylor P, Meyer D, Mintz K. Characteristics of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* invasion of and adhesion to cultured epithelial cells. *Adv Dent Res* 1995;9:55-62.

Fredrickson DS, Levy RI, Lees RS. The New England Journal of Medicine, Volume 276, January 19, 1967: Fat transport in lipoproteins--an integrated approach to mechanisms and disorders. By Donald S. Fredrickson, Robert I. Levy, Robert S. Lees. *Nutrition reviews* 1987;45:271-3.

Gillespie MJ, Smutko J, Haraszthy GG, Zambon JJ. Isolation and partial characterization of the *Campylobacter rectus* cytotoxin. *Microb Pathog* 1993;14:203-15.

Golub LM, Sorsa T, Lee HM, et al. Doxycycline inhibits neutrophil (PMN)-type matrix metalloproteinases in human adult periodontitis gingiva. *J Clin Periodontol* 1995;22:100-9.

Graves DT, Cochran D. The contribution of interleukin-1 and tumor necrosis factor to periodontal tissue destruction. *J Periodontol* 2003;74:391-401.

Graves DT, Delima AJ, Assuma R, et al. Interleukin-1 and tumor necrosis factor antagonists inhibit the progression of inflammatory cell infiltration toward alveolar bone in experimental periodontitis. *J Periodontol* 1998;69:1419-25.

Greenstein G. The role of bleeding upon probing in the diagnosis of periodontal disease. A literature review. *J Periodontol* 1984;55:684-8.

Griffiths GS. Formation, collection and significance of gingival crevice fluid. *Periodontol* 2000 2003;31:32-42.

Grundy SM, Cleeman JI, Merz CN, et al. A summary of implications of recent clinical trials for the National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel III guidelines. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2004;24:1329-30.

Hack CE, Aarden LA, Thijs LG. Role of cytokines in sepsis. *Adv Immunol* 1997;66:101-95.

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

Hamada S, Fujiwara T, Morishima S, et al. Molecular and immunological characterization of the fimbriae of *Porphyromonas gingivalis*. *Microbiol Immunol* 1994;38:921-30.

Hanemaaijer R, Koolwijk P, le Clercq L, de Vree WJ, van Hinsbergh VW. Regulation of matrix metalloproteinase expression in human vein and microvascular endothelial cells. Effects of tumour necrosis factor alpha, interleukin 1 and phorbol ester. *Biochem J* 1993;296 (Pt 3):803-9.

- Hart TC, Shapira L, Van Dyke TE. Neutrophil defects as risk factors for periodontal diseases. *J Periodontol* 1994;65:521-9.
- Hausmann E, Raisz LG, Miller WA. Endotoxin: stimulation of bone resorption in tissue culture. *Science* 1970;168:862-4.
- Hehlgans T, Pfeffer K. The intriguing biology of the tumour necrosis factor/tumour necrosis factor receptor superfamily: players, rules and the games. *Immunology* 2005;115:1-20.
- Hellwig E, Klimek J, Attin K. Anamnese, Befund und Diagnose bei parodontalen Erkrankungen. In: Einführung in die Zahnerhaltung. 5., überarb. und erw. Aufl. ed. Köln: Dt. Zahnärzte-Verl.; 2010:483-513.
- Hirano T, Yasukawa K, Harada H, et al. Complementary DNA for a novel human interleukin (BSF-2) that induces B lymphocytes to produce immunoglobulin. *Nature* 1986;324:73-6.
- Hodge DR, Hurt EM, Farrar WL. The role of IL-6 and STAT3 in inflammation and cancer. *Eur J Cancer* 2005;41:2502-12.
- Holt SC, Bramanti TE. Factors in virulence expression and their role in periodontal disease pathogenesis. *Crit Rev Oral Biol Med* 1991;2:177-281.
- Horiuchi N, Maeda T. Statins and bone metabolism. *Oral Dis* 2006;12:85-101.
- Ikeda U, Shimada K. Statins and monocytes. *Lancet* 1999;353:2070.
- Ismail FA. Design and in vitro evaluation of polymeric formulae of simvastatin for local bone induction. *Drug Dev Ind Pharm* 2006;32:1199-206.
- Jeffcoat MK, Reddy MS. Progression of probing attachment loss in adult periodontitis. *J Periodontol* 1991;62:185-9.
- Jones SA. Directing transition from innate to acquired immunity: defining a role for IL-6. *J Immunol* 2005;175:3463-8.
- Kiili M, Cox SW, Chen HY, et al. Collagenase-2 (MMP-8) and collagenase-3 (MMP-13) in adult periodontitis: molecular forms and levels in gingival crevicular fluid and immunolocalisation in gingival tissue. *J Clin Periodontol* 2002;29:224-32.
- Kim J, Ahn B-J, Chae H-S, et al. A Population Pharmacokinetic–Pharmacodynamic Model for Simvastatin that Predicts Low-Density Lipoprotein-Cholesterol Reduction in Patients with Primary Hyperlipidaemia. *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology* 2011;109:156-63.
- Kinane DF, Darby IB, Said S, et al. Changes in gingival crevicular fluid matrix metalloproteinase-8 levels during periodontal treatment and maintenance. *J Periodontal Res* 2003;38:400-4.

- Kinney JS, Ramseier CA, Giannobile WV. Oral fluid-based biomarkers of alveolar bone loss in periodontitis. *Ann N Y Acad Sci* 2007;1098:230-51.
- Klose G, Schwabe U. Lipidsenkende Mittel. In: Schwabe U, Paffrath D, eds. *Arzneiverordnungs-Report 2008*. Berlin, Heidelberg: Springer Medizin Verl.; 2008:645-59.
- Kornman KS, di Giovine FS. Genetic variations in cytokine expression: a risk factor for severity of adult periodontitis. *Ann Periodontol* 1998;3:327-38.
- Kureishi Y, Luo Z, Shiojima I, et al. The HMG-CoA reductase inhibitor simvastatin activates the protein kinase Akt and promotes angiogenesis in normocholesterolemic animals. *Nature medicine* 2000;6:1004-10.
- Lamster IB. The host response in gingival crevicular fluid: potential applications in periodontitis clinical trials. *J Periodontol* 1992;63:1117-23.
- Lamster IB, Novak MJ. Host mediators in gingival crevicular fluid: implications for the pathogenesis of periodontal disease. *Crit Rev Oral Biol Med* 1992;3:31-60.
- Lee E, Yang YH, Ho YP, Ho KY, Tsai CC. Potential role of vascular endothelial growth factor, interleukin-8 and monocyte chemoattractant protein-1 in periodontal diseases. *The Kaohsiung journal of medical sciences* 2003;19:406-15.
- Lin SK, Kok SH, Lee YL, et al. Simvastatin as a novel strategy to alleviate periapical lesions. *Journal of Endodontics* 2009;35:657-62.
- Lindy O, Suomalainen K, Makela M, Lindy S. Statin use is associated with fewer periodontal lesions: A retrospective study. *BMC Oral Health* 2008;8:16.
- Listgarten MA. Pathogenesis of periodontitis. *J Clin Periodontol* 1986;13:418-30.
- Loe H, Silness J. Periodontal Disease in Pregnancy. I. Prevalence and Severity. *Acta Odontol Scand* 1963;21:533-51.
- Loe H, Theilade E, Jensen SB. Experimental Gingivitis in Man. *J Periodontol* 1965;36:177-87.
- Lyons JG, Birkedal-Hansen B, Pierson MC, Whitelock JM, Birkedal-Hansen H. Interleukin-1 beta and transforming growth factor-alpha/epidermal growth factor induce expression of M(r) 95,000 type IV collagenase/gelatinase and interstitial fibroblast-type collagenase by rat mucosal keratinocytes. *J Biol Chem* 1993;268:19143-51.
- Ma B, Clarke SA, Brooks RA, Rushton N. The effect of simvastatin on bone formation and ceramic resorption in a peri-implant defect model. *Acta biomaterialia* 2008;4:149-55.
- Maeda T, Kawane T, Horiuchi N. Statins augment vascular endothelial growth factor expression in osteoblastic cells via inhibition of protein prenylation. *Endocrinology* 2003;144:681-92.

- Matrisian LM. The matrix-degrading metalloproteinases. *Bioessays* 1992;14:455-63.
- Matsushima K, Baldwin ET, Mukaida N. Interleukin-8 and MCAF: novel leukocyte recruitment and activating cytokines. *Chem Immunol* 1992;51:236-65.
- Miller MD, Krangel MS. Biology and biochemistry of the chemokines: a family of chemotactic and inflammatory cytokines. *Crit Rev Immunol* 1992;12:17-46.
- Miyasaki KT. The neutrophil: mechanisms of controlling periodontal bacteria. *J Periodontol* 1991;62:761-74.
- Moore WE, Moore LV. The bacteria of periodontal diseases. *Periodontol* 2000 1994;5:66-77.
- Mundy G, Garrett R, Harris S, et al. Stimulation of bone formation in vitro and in rodents by statins. *Science* 1999;286:1946-9.
- Mundy GR. Inflammatory mediators and the destruction of bone. *J Periodontal Res* 1991;26:213-7.
- Najib NM, Idkaidek N, Adel A, et al. Pharmacokinetics and bioequivalence evaluation of two simvastatin 40 mg tablets (Simvast and Zocor) in healthy human volunteers. *Biopharm Drug Dispos* 2003;24:183-9.
- Nassar PO, Nassar CA, Guimaraes MR, et al. Simvastatin therapy in cyclosporine A-induced alveolar bone loss in rats. *J Periodontal Res* 2009;44:479-88.
- Naugler WE, Karin M. The wolf in sheep's clothing: the role of interleukin-6 in immunity, inflammation and cancer. *Trends Mol Med* 2008;14:109-19.
- Nordheim J, Maaz A, Kuhlmeier A, et al. Versorgungsverläufe chronisch kranker älterer Menschen - eine patientenorientierte Analyse zur bedarfsgerechten und wirtschaftlichen Steuerung des Versorgungsgeschehens. *Das Gesundheitswesen* 2005; 67:576.
- O'Hara SP, Splinter PL, Trussoni CE, et al. Cholangiocyte N-Ras protein mediates lipopolysaccharide-induced interleukin 6 secretion and proliferation. *J Biol Chem* 2011;286:30352-60.
- Oates TW, Graves DT, Cochran DL. Clinical, radiographic and biochemical assessment of IL-1/TNF-alpha antagonist inhibition of bone loss in experimental periodontitis. *J Clin Periodontol* 2002;29:137-43.
- Offenbacher S. Periodontal diseases: pathogenesis. *Ann Periodontol* 1996;1:821-78.
- Ogata Y, Enghild JJ, Nagase H. Matrix metalloproteinase 3 (stromelysin) activates the precursor for the human matrix metalloproteinase 9. *J Biol Chem* 1992;267:3581-4.
- Okada Y, Naka K, Kawamura K, et al. Localization of matrix metalloproteinase 9 (92-kilodalton gelatinase/type IV collagenase = gelatinase B) in osteoclasts: implications for bone resorption. *Lab Invest* 1995;72:311-22.

Okamoto T, Akaike T, Suga M, et al. Activation of human matrix metalloproteinases by various bacterial proteinases. *J Biol Chem* 1997;272:6059-66.

Oppenheim JJ, Zachariae CO, Mukaida N, Matsushima K. Properties of the novel proinflammatory supergene "intercrine" cytokine family. *Annu Rev Immunol* 1991;9:617-48.

Page RC. Gingivitis. *J Clin Periodontol* 1986;13:345-59.

Page RC, Kornman KS. The pathogenesis of human periodontitis: an introduction. *Periodontol 2000* 1997;14:9-11.

Page RC, Offenbacher S, Schroeder HE, Seymour GJ, Kornman KS. Advances in the pathogenesis of periodontitis: summary of developments, clinical implications and future directions. *Periodontol 2000* 1997;14:216-48.

Page RC, Schroeder H. Periodontitis in man and other animals. A comparative review. *A Comparative Review Basel and New York: S Karger* 1982.

Page RC, Schroeder HE. Pathogenesis of inflammatory periodontal disease. A summary of current work. *Lab Invest* 1976;34:235-49.

Pashley DH. A mechanistic analysis of gingival fluid production. *J Periodontal Res* 1976;11:121-34.

Pauly S, Luttosch F, Morawski M, et al. Simvastatin locally applied from a biodegradable coating of osteosynthetic implants improves fracture healing comparable to BMP-2 application. *Bone* 2009;45:505-11.

Pohl A, Pohl C, Krause S, Gangler P, Losche W. Hyperlipidemia, atherosclerosis, and oral inflammatory diseases. *Acta Angiologica* 1995:133-7.

Pouliot M, Clish CB, Petasis NA, Van Dyke TE, Serhan CN. Lipoxin A(4) analogues inhibit leukocyte recruitment to *Porphyromonas gingivalis*: a role for cyclooxygenase-2 and lipoxins in periodontal disease. *Biochemistry* 2000;39:4761-8.

Pozo P, Valenzuela MA, Melej C, et al. Longitudinal analysis of metalloproteinases, tissue inhibitors of metalloproteinases and clinical parameters in gingival crevicular fluid from periodontitis-affected patients. *J Periodontal Res* 2005;40:199-207.

Pradeep AR, Prapulla DV, Sharma A, Sujatha PB. Gingival crevicular fluid and serum vascular endothelial growth factor: their relationship in periodontal health, disease and after treatment. *Cytokine* 2011;54:200-4.

Pradeep AR, Thorat MS. Clinical Effect of Subgingivally Delivered Simvastatin in the Treatment of Patients With Chronic Periodontitis: A Randomized Clinical Trial. *J Periodontol* 2010;81:214-22.

Pyorala K, Pedersen TR, Kjekshus J, et al. Cholesterol lowering with simvastatin improves prognosis of diabetic patients with coronary heart disease. A subgroup

- analysis of the Scandinavian Simvastatin Survival Study (4S). *Diabetes Care* 1997;20:614-20.
- Rai B, Kharb S, Jain R, Anand SC. Biomarkers of periodontitis in oral fluids. *J Oral Sci* 2008;50:53-6.
- Reddy MS, Jeffcoat MK. Periodontal disease progression. *Curr Opin Periodontol* 1993;52-9.
- Reinhardt RA, Masada MP, Kaldahl WB, et al. Gingival fluid IL-1 and IL-6 levels in refractory periodontitis. *J Clin Periodontol* 1993;20:225-31.
- Revel M. Host defense against infections and inflammations: role of the multifunctional IL-6/IFN-beta 2 cytokine. *Experientia* 1989;45:549-57.
- Robertson PB, Lantz M, Marucha PT, et al. Collagenolytic activity associated with *Bacteroides* species and *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. *J Periodontal Res* 1982;17:275-83.
- Rose-John S, Scheller J, Elson G, Jones SA. Interleukin-6 biology is coordinated by membrane-bound and soluble receptors: role in inflammation and cancer. *J Leukoc Biol* 2006;80:227-36.
- Rosenson RS, Tangney CC, Casey LC. Inhibition of proinflammatory cytokine production by pravastatin. *Lancet* 1999;353:983-4.
- Saidowa A. Longitudinale Erhebung der Pocket Bleeding Index in Abhängigkeit vom Therapiefortschritt. Germany, Berlin: Charité - Universitätsmedizin Berlin; 2011.
- Sakoda K, Yamamoto M, Negishi Y, et al. Simvastatin decreases IL-6 and IL-8 production in epithelial cells. *J Dent Res* 2006;85:520-3.
- Savage A, Eaton KA, Moles DR, Needleman I. A systematic review of definitions of periodontitis and methods that have been used to identify this disease. *J Clin Periodontol* 2009;36:458-67.
- Saxlin T, Suominen-Taipale L, Knuutila M, Alha P, Ylostalo P. Dual effect of statin medication on the periodontium. *J Clin Periodontol* 2009;36:997-1003.
- Schatzle M, Loe H, Burgin W, et al. Clinical course of chronic periodontitis. I. Role of gingivitis. *J Clin Periodontol* 2003;30:887-901.
- Schenkein H. The pathogenesis of periodontal diseases. Review. *J Periodontol*; 1999 Apr. Report No.: 0022-3492 (Print) 0022-3492 (Linking).
- Schenkein HA. Failure of *Bacteroides gingivalis* W83 to accumulate bound C3 following opsonization with serum. *J Periodontal Res* 1989;24:20-7.

- Schroeder HE, Attstrom R. Effect of mechanical plaque control on development of subgingival plaque and initial gingivitis in neutropenic dogs. *Scand J Dent Res* 1979;87:279-87.
- Schuett H, Luchtefeld M, Grothusen C, Grote K, Schieffer B. How much is too much? Interleukin-6 and its signalling in atherosclerosis. *Thromb Haemost* 2009;102:215-22.
- Seto H, Ohba H, Tokunaga K, et al. Topical administration of simvastatin recovers alveolar bone loss in rats. *J Periodontal Res* 2008;43:261-7.
- Shenker BJ, Tsai CC, Taichman NS. Suppression of lymphocyte responses by *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. *J Periodontal Res* 1982;17:462-5.
- Shenker BJ, Vitale LA, Welham DA. Immune suppression induced by *Actinobacillus actinomycetemcomitans*: effects on immunoglobulin production by human B cells. *Infect Immun* 1990;58:3856-62.
- Silness J, Loe H. Periodontal disease in pregnancy. 3. Response to local treatment. *Acta Odontol Scand* 1966;24:747-59.
- Singer RE, Buckner BA. Butyrate and propionate: important components of toxic dental plaque extracts. *Infect Immun* 1981;32:458-63.
- Sires UI, Griffin GL, Broekelmann TJ, et al. Degradation of entactin by matrix metalloproteinases. Susceptibility to matrilysin and identification of cleavage sites. *J Biol Chem* 1993;268:2069-74.
- Socransky SS, Haffajee AD, Cugini MA, Smith C, Kent RL, Jr. Microbial complexes in subgingival plaque. *J Clin Periodontol* 1998;25:134-44.
- Soder B, Airila Mansson S, Soder PO, Kari K, Meurman J. Levels of matrix metalloproteinases-8 and -9 with simultaneous presence of periodontal pathogens in gingival crevicular fluid as well as matrix metalloproteinase-9 and cholesterol in blood. *J Periodontal Res* 2006;41:411-7.
- Sorsa T, Tjaderhane L, Salo T. Matrix metalloproteinases (MMPs) in oral diseases. *Oral Dis* 2004;10:311-8.
- Stein D, Lee Y, Schmid MJ, et al. Local simvastatin effects on mandibular bone growth and inflammation. *J Periodontol* 2005;76:1861-70.
- Stossel TP. The discovery of statins. *Cell* 2008;134:903-5.
- Sugiyama M, Kodama T, Konishi K, et al. Compactin and simvastatin, but not pravastatin, induce bone morphogenetic protein-2 in human osteosarcoma cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2000;271:688-92.
- Sundararaj KP, Samuvel DJ, Li YC, et al. Simvastatin suppresses LPS-induced MMP-1 expression in U937 mononuclear cells by inhibiting protein isoprenylation-mediated ERK activation. *Journal of Leukocyte Biology* 2008;84:1120-9.

- Takemoto M, Liao JK. Pleiotropic effects of 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme a reductase inhibitors. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2001;21:1712-9.
- Takenaka M, Hirade K, Tanabe K, et al. Simvastatin stimulates VEGF release via p44/p42 MAP kinase in vascular smooth muscle cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2003;301:198-203.
- Tamura T, Nakanishi T, Kimura Y, et al. Nitric oxide mediates interleukin-1-induced matrix degradation and basic fibroblast growth factor release in cultured rabbit articular chondrocytes: a possible mechanism of pathological neovascularization in arthritis. *Endocrinology* 1996;137:3729-37.
- Tanner A, Kent R, Maiden MF, Taubman MA. Clinical, microbiological and immunological profile of healthy, gingivitis and putative active periodontal subjects. *J Periodontal Res* 1996;31:195-204.
- Taub DD, Oppenheim JJ. Review of the chemokine meeting the Third International Symposium of Chemotactic Cytokines. *Cytokine* 1993;5:175-9.
- Tew JG, Marshall DR, Burmeister JA, Ranney RR. Relationship between gingival crevicular fluid and serum antibody titers in young adults with generalized and localized periodontitis. *Infect Immun* 1985;49:487-93.
- Theilade E, Wright WH, Jensen SB, Loe H. Experimental gingivitis in man. II. A longitudinal clinical and bacteriological investigation. *J Periodontal Res* 1966;1:1-13.
- Thunyakitpisal PD, Chaisuparat R. Simvastatin, an HMG-CoA reductase inhibitor, reduced the expression of matrix metalloproteinase-9 (Gelatinase B) in osteoblastic cells and HT1080 fibrosarcoma cells. *J Pharmacol Sci* 2004;94:403-9.
- Tsai CC, Ho YP, Chen CC. Levels of interleukin-1 beta and interleukin-8 in gingival crevicular fluids in adult periodontitis. *J Periodontol* 1995;66:852-9.
- Tsai CC, McArthur WP, Baehni PC, Hammond BF, Taichman NS. Extraction and partial characterization of a leukotoxin from a plaque-derived Gram-negative microorganism. *Infect Immun* 1979;25:427-39.
- van Beek E, Pieterman E, Cohen L, Lowik C, Papapoulos S. Farnesyl pyrophosphate synthase is the molecular target of nitrogen-containing bisphosphonates. *Biochem Biophys Res Commun* 1999;264:108-11.
- Vaziri H, Naserhojjati-Roodsari R, Tahsili-Fahadan N, et al. Effect of simvastatin administration on periodontitis - Associated bone loss in ovariectomized rats. *J Periodontol* 2007;78:1561-7.
- Weitz-Schmidt G. Statins as anti-inflammatory agents. *Trends Pharmacol Sci* 2002;23:482-6.
- Weltärztebund. Deklaration des Weltärztebundes von Helsinki. Ethische Grundsätze für die medizinische Forschung am Menschen. In: Handbuch der Deklarationen,

- Erklärungen und Entschließungen. Deutsche Fassung 2001/2002 ed. Köln: Deutscher Ärzte-Verlag; 2002:104–8.
- Westerlund U, Ingman T, Lukinmaa PL, et al. Human neutrophil gelatinase and associated lipocalin in adult and localized juvenile periodontitis. *J Dent Res* 1996;75:1553-63.
- Wilhelm SM, Collier IE, Marmer BL, et al. SV40-transformed human lung fibroblasts secrete a 92-kDa type IV collagenase which is identical to that secreted by normal human macrophages. *J Biol Chem* 1989;264:17213-21.
- Wilson M, Henderson B. Virulence factors of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* relevant to the pathogenesis of inflammatory periodontal diseases. *FEMS Microbiol Rev* 1995;17:365-79.
- Wu Z, Liu C, Zang G, Sun H. The effect of simvastatin on remodelling of the alveolar bone following tooth extraction. *Int J Oral Maxillofac Surg* 2008;37:170-6.
- Yang H, Feng Y, Luan Y. Determination of Simvastatin in human plasma by liquid chromatography-mass spectrometry. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci* 2003;785:369-75.
- Yazawa H, Zimmermann B, Asami Y, Bernimoulin JP. Simvastatin promotes cell metabolism, proliferation, and osteoblastic differentiation in human periodontal ligament cells. *J Periodontol* 2005;76:295-302.
- Yokota K, Miyazaki T, Hirano M, Akiyama Y, Mimura T. Simvastatin inhibits production of interleukin 6 (IL-6) and IL-8 and cell proliferation induced by tumor necrosis factor-alpha in fibroblast-like synoviocytes from patients with rheumatoid arthritis. *J Rheumatol* 2006;33:463-71.
- Zambon JJ. Periodontal diseases: microbial factors. *Ann Periodontol* 1996;1:879-925.
- Zhu ZY, Liu GQ. Changes of IL-8 and TNF-alpha in gingival crevicular fluid before and after treatment from chronic periodontitis. *Chinese journal of cellular and molecular immunology* 2010;26:1111-2.
- Ziebart T, Koch F, Klein MO, et al. Geranylgeraniol - a new potential therapeutic approach to bisphosphonate associated osteonecrosis of the jaw. *Oral oncology* 2011;47:195-201.

12 Danksagung

Frau Prof. Dr. A. M. Schmidt-Westhausen möchte ich für die Überlassung des Themas herzlich danken. Des Weiteren möchte ich für ihr Interesse am Fortschreiten dieser Arbeit und Ihre Unterstützung der Studie auch in beruflicher Hinsicht danken.

In diesem Zusammenhang möchte ich der Ethikkommission der Medizinischen Fakultät am Campus Benjamin Franklin der Charité für die Genehmigung dieser Studie danken.

Mein Dank gilt auch Dr. T. Grünewald und Dr. P. Purucker, die bei der Planung, Umsetzung und Auswertung der Studie mit Rat und technischer Unterstützung zur Seite standen und Fr. Prof. Dr. Steinhagen-Thiessen und Fr. Dr. Vogt, die mitgeholfen haben Patienten zu rekrutieren.

Herrn Dipl.-Math. K. Lenz vom Institut für Biometrie gilt mein Dank für die Beratung in statistischen Fragen.

Weiterhin möchte ich Fr. Kanitz und allen Kollegen und Freunden danken, die durch ihre Unterstützung zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben.

Besonderer Dank gilt meinen Eltern, meiner Frau Alexandra und meinem Sohn Maximilian Enno.

13 Lebenslauf

"Mein Lebenslauf wird aus datenschutzrechtlichen Gründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht veröffentlicht."

14 Publikationen

1. Meißner S.:
Mit der vierten Dimension
ZM: 101 761-762, 2011
2. Meißner S., Ebhardt H. & Schmidt-Westhausen A.M.:
Mesiodens bei monozygoten Zwillingen: Diagnostik und chirurgische Therapie -
Fallbericht
Dtsch Zahnärztl Z: DZZ, 66(6) D26, 2011
3. Meißner S., Ebhardt H. & Schmidt-Westhausen A.M.:
Mesiodens in monozygotic male twins: Diagnosis and surgical therapy.
Int Poster J Dent Oral Med: 13 Poster 549, 2011
4. Meißner S., Grünewald T. & Schmidt-Westhausen A.M.:
Einfluss von Simvastatin auf die Konzentration von Interleukin-6 und -8 im Sul-
kusfluid bei chronischer Parodontitis
Dtsch Zahnärztl Z: 66(6) D44, 2011
5. Strietzel F.P., Meißner S., Brungsberg B. & Hertel M:
Membrangesteuerte Knochenregeneration mit Kollagenmembranen - eine Neu-
bewertung der Risikofaktoren
Dtsch Zahnärztl Z: 67. Jahrgang D 9, 2012
6. Strietzel F.P., Meißner S., Brungsberg B. & Hertel M.:
Collagen membranes for guided bone regeneration - updated evaluation of risk
factors
Clin Oral Implan Res: 23 224-225, 2012

15 Erklärung

Eidesstattliche Versicherung

„Ich, Simon Meißner, versichere an Eides statt durch meine eigenhändige Unterschrift, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: „Pilotstudie zum Einfluss von Simvastatin auf die Konzentration von Interleukin-6, Interleukin-8, Vascular Endothelial Growth Factor und Matrix Metalloproteinase-9 im Sulkusfluid bei chronischer Parodontitis“ selbstständig und ohne nicht offengelegte Hilfe Dritter verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel genutzt habe. Alle Stellen, die wörtlich oder dem Sinne nach auf Publikationen oder Vorträgen anderer Autoren beruhen, sind als solche in korrekter Zitierung (siehe „Uniform Requirements for Manuscripts (URM)“ des ICMJE -www.icmje.org) kenntlich gemacht. Die Abschnitte zu Methodik (insbesondere praktische Arbeiten, Laborbestimmungen, statistische Aufarbeitung) und Resultaten (insbesondere Abbildungen, Graphiken und Tabellen) entsprechen den URM (s.o) und werden von mir verantwortet. Sämtliche Publikationen, die aus dieser Dissertation hervorgegangen sind und bei denen ich Autor bin, entsprechen den URM (s.o) und werden von mir verantwortet. Die Bedeutung dieser eidesstattlichen Versicherung und die strafrechtlichen Folgen einer unwahren eidesstattlichen Versicherung (§156,161 des Strafgesetzbuches) sind mir bekannt und bewusst.“

Berlin, den 28.03.2013

Simon Meißner