

Diplomarbeit

**Matrix-Metalloproteinase 8 Chair-Side Tests:
Sensitivität und Rolle im klinischen Alltag**

eingereicht von

Dr.med.univ. Stefan Gutmann

zur Erlangung des akademischen Grades

Doktor der Zahnheilkunde

(Dr. med. dent.)

an der

Medizinischen Universität Graz

ausgeführt an der

**Universitätsklinik für Zahnmedizin und Mundgesundheit
Klinische Abteilung für Zahnerhaltung, Parodontologie und
Zahnersatz**

unter der Anleitung von

Univ.Ass. Dr. Behrouz Arefnia

Univ.Prof.Dr. Michael Haas

Eidesstattliche Erklärung

Ich erkläre ehrenwörtlich, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig und ohne fremde Hilfe verfasst habe, andere als die angegebenen Quellen nicht verwendet habe und die den benutzten Quellen wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen als solche kenntlich gemacht habe.

Graz, am 14.08.2018

Dr.med.univ. Stefan Gutmann, eh

Danksagungen

In erster Linie möchte ich meinen Eltern, Rudolf und Josefine, meine Dankbarkeit aussprechen. Sie haben mich, ohne zu zögern, nach dem Studium der Humanmedizin auch in meinem Zweitstudium Zahnmedizin bedingungslos unterstützt – das ist nicht selbstverständlich, ich rechne euch das hoch an!

Auch meiner lieben Freundin, Gerrit, möchte ich danken. Es war sicher nicht immer einfach, als berufstätige Panterin, mit einem Studenten zusammenzuleben – Danke für dein Verständnis!

Vielen lieben Dank auch an meine Cousine und Taufpatin, Anita Katz, für die sprachliche Korrektur meiner Arbeit – ohne dich wären meine Betreuer und ich verzweifelt!

Dr. Behrouz Arefnia und Univ.Prof.Dr. Michael Haas möchte ich für die Überlassung des Themas und die unkomplizierte Betreuung meiner Arbeit danken. Die raschen Korrekturen und die Hilfestellungen bei der Literatursuche haben zum Erfolg meiner Arbeit entscheidend beigetragen – Danke euch beiden!

Zusammenfassung

Einleitung: Parodontale Erkrankungen sind bereits jetzt ein ernsthaftes Problem unserer Gesellschaft, und werden mit einer prognostizierten demographischen Entwicklung in Richtung älterer Menschen zunehmen. Es besteht, vor allem durch die Forschungsergebnisse der letzten Jahrzehnte, ein nicht zu verleugnender Zusammenhang zwischen Mundgesundheit und systemischen Erkrankungen. Da die Parodontitis eine irreversible Erkrankung ist, die man zwar nicht heilen, aber durch therapeutische Maßnahmen in Ihrem Fortschreiten stoppen kann, ist die Prophylaxe und Früherkennung von großer Bedeutung.

Material und Methoden: Es wurden insgesamt 123 Patienten und Patientinnen mittels PGU, PST und MMP8 – Test (Periomarker®) untersucht. PGU und MMP8 wurden Chair-Side ermittelt, der PST wurde am Institut für Krankenhaushygiene und Mikrobiologie untersucht.

Ergebnisse: Es besteht ein statistisch signifikanter Zusammenhang zwischen MMP8 und PGU. Zwischen PGU und PST, sowie zwischen PST und MMP8 konnte kein statistisch signifikanter Zusammenhang beobachtet werden.

Diskussion: In der Literatur werden verschiedenste Messmethoden von MMP8 beschrieben. Ein unterschied in den Testverfahren ist die Gewinnung des Probematerials. Entnimmt man Proben aus Sulcusfluid oder Mundwasser (vgl. Periomarker®) korrelieren die Ergebnisse sowohl miteinander, als auch mit gängigen Parodontalindices sehr gut. Speichel hat sich als nicht zuverlässig für die Testung von MMP8 Werten bei Parodontitis erwiesen, vor allem bei Rauchern/Raucherinnen und Exrauchern/Exraucherinnen. Parodontitis-Schnelltest, die auch von nicht-zahnärztlichem Personal anzuwenden sind, haben sich ebenfalls als zuverlässig erwiesen.

Schlussfolgerung: Auch wenn die MMP8-Testung, vor allem im zahnmedizinischen Bereich seine Limitationen hat, kann es als unterstützendes, diagnostisches Verfahren verwendet werden. Die MMP8-Schnelltests könnten sich im nicht-zahnärztlichen, medizinischen Bereich durchsetzen. Ein Home-Monitoring von Parodontitispatienten und Parodontitispatientinnen oder die Suche von entzündlichen

Kofaktoren bei systemischen Erkrankungen durch Humanmediziner und Humanmedizinerinnen könnten wirkungsvolle Einsatzgebiete werden.

Abstract

Introduction: Periodontal diseases are already a serious problem of our society and will increase with a predicted demographic trend towards older people. There is an undeniable connection between oral health and systemic diseases, especially as a result of the research of recent decades. Although periodontal disease is an irreversible disease that cannot be cured, but can be stopped by therapeutic measures in its progression, the prophylaxis and early detection is of great importance.

Methods: 123 patients with PGU, PST and MMP8 - Test (Periomarker®) were examined. PGU and MMP8 were determined chair-side, the PST was genetically examined at the Institute for Hygiene and Microbiology of Graz.

Results: There is a statistically significant relationship between MMP8 and PGU. No statistically significant correlation could be observed between PGU and PST, and between PST and MMP8.

Discussion: The literature describes various measurement methods of MMP8. A difference in the test procedure is the isolation of the sample material. Taking samples from sulcus fluid or mouthrinse (see Periomarker®), the results correlate well with each other, as well as with common periodontal indices. Saliva has proven to be unreliable for testing MMP8 values in periodontitis, especially among smokers and ex-smokers. Periodontitis chair-side-tests, also useable by non-dental personnel, have proven to be reliable.

Conclusion: Although MMP8 testing, especially in the dental field, has its limitations, it can be used as a supportive diagnostic procedure. The MMP8 chair-side-tests could prevail in the non-dental medical field. A home monitoring of periodontitis patients or the search of inflammatory cofactors in systemic diseases by physicians could be effective applications.

Inhaltsverzeichnis

Zusammenfassung	3
Abstract	5
Inhaltsverzeichnis	6
Abbildungsverzeichnis	9
Tabellenverzeichnis	10
1. Einleitung	11
1.1 Anatomie und Physiologie des Zahnhalteapparates.....	12
1.2 Einteilung parodontaler und periimplantärer Erkrankungen.....	15
1.3 Gingivitis	15
1.3.1 Definition	15
1.3.2 Klinik	16
1.3.3 Histologie und Pathogenese	16
1.4 Parodontitis	17
1.4.1 Definition	17
1.4.2 Klinik und Einteilung.....	18
1.4.3 Histologie	20
1.5 Diagnosestellung	20
1.5.1 Behandlungskonzept	20
1.5.2 Indices/Befunderhebung	21
1.6 Entzündungsreaktion.....	32
1.6.1 Entzündungsmediatoren	32
1.7 Erweiterte Diagnostik.....	34
1.7.1 MMP8	34
1.7.2 Interleukin-1-Genpolymorphismus	35
2. Material und Methoden	38
3. Ergebnisse	40
4. Diskussion.....	44
5. Schlussfolgerung.....	49
6. Literaturverzeichnis	50

Glossar und Abkürzungen

AAP	American Academy of Periodontology
ADA	American Dental Association
API	Approximalraum-Plaque-Index
BOP	Bleeding on Probing
C-XC	Chemokin (Signalprotein aus der Gruppe der Zytokine)
CPITN	community periodontal index of treatment needs
DMS	Deutsche Mundgesundheitsstudie
DNA	Desoxyribonukleinsäure
ELISA	Enzyme-linked Immunosorbent Assay
GI	Gingival Index
IFMA	Immunfluorometrischer Assay
IL	Interleukine
IFMA	Immunofluorometric Method
LADS	Leucocyte-Adhesion-Deficiency Syndrome
MMP	Matrix-Metalloproteasen
NUG	Nekrotisierende ulzerierende Gingivitis
NUP	Nekrotisierende ulzerierende Parodontitis
PBI	Papillen-Blutungs-Index
PCR	Polymerase-Kettenreaktion
PDI	Periodontal Disease Index
PGU	Parodontale Grund Untersuchung

PI	Plaque Index
PSI	Parodontaler Screening Index
PST	Periodontal Susceptibility Test (Interleukin Risikotest der Firma Interleukin Genetics)
SNP	Single Nucleotide Polymorphism
TNF α	Tumornekrosefaktor alpha
TIMP	Tissue Inhibitor of Metalloproteinases
WHO	Weltgesundheitsorganisation

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: 5. Deutsche Mundgesundheitsstudie (DMS V)(<u>1</u>).....	12
Abbildung 2: Schematische Darstellung des Zahnes mit Zahnhalteapparat (nach Rateitschak)(<u>2</u>).	14
Abbildung 3: PBI – Papillenblutungsindex nach Saxer und Mühlemann (Quelle: Rataitschak) (<u>2</u>)	24
Abbildung 4: WHO Sonde (<u>3</u>)	28
Abbildung 5: IL-1-Genpolymorphismus (Quelle: Rateitschak) (<u>2</u>).....	36
Abbildung 6: Durchführungsanweisung MMP8 Chaisidetest (lt. GSK-Gebro)	38
Abbildung 7: Ergebnisgraphik PGU/MMP8.....	40
Abbildung 8: Ergebnisgraphik PGU/PST	42

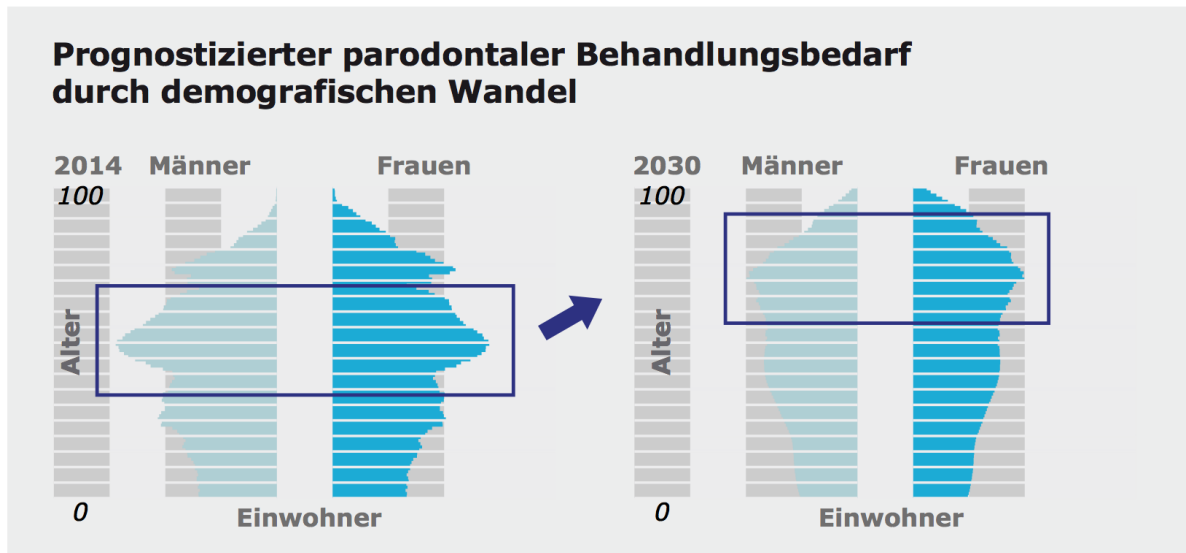
Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Behandlungskonzept bei Parodontalerkrankungen an der Universitätsklinik für Zahnmedizin und Mundgesundheit in Graz(4).....	21
Tabelle 2: Gradeinteilung Plaqueindex (PI) nach Silness und Loe (5).....	23
Tabelle 3:Gradeinteilung Gingivalindex (GI) nach Silness und Loe (5)	25
Tabelle 4: Gradeinteilung Periodontal Disease Index (PDI) nach Ramfjord(6).....	27
Tabelle 5: Gradeinteilung Community Periodontal Index of Treatment Needs (CPITN) nach Ainamo (WHO) (7)	29
Tabelle 6: Gradeinteilung Parodontaler Screening Index (PSI) nach AAP und ADA (2)	30
Tabelle 7: Gradeinteilung Parodontale Grunduntersuchung (PGU) (8)	31
Tabelle 8: Ergebnistabelle PGU/MMP8	40
Tabelle 9: Ergebnistabelle PGU/PST	41
Tabelle 10: Ergebnistabelle PST/MMP8	43

1. Einleitung

Erkrankungen des Zahnhalteapparats, Parodontitis und Gingivitis, sind ein ernsthaftes Problem unserer Gesellschaft. Die 5. Deutsche Mundgesundheitsstudie 2014 (1) zeigt, dass parodontale Erkrankungen auch ein Problem des fortschreitenden Alters sind. So haben bei dieser Erhebung 9 von 10 der älteren Senioren (vgl. Altersgruppe zwischen 75 und 100 Jahre) eine Sondierungstiefe von mehr als 4mm, was bei aktueller Klassifikation der parodontalen Erkrankungen als Parodontitis gewertet wird. Aufgrund der prognostizierten demographischen Entwicklung der nächsten Jahrzehnte werden die Patientinnen und Patienten mit Parodontalerkrankungen zunehmen (siehe Abbildung 1).

Mit zunehmendem Alter steigt die Anzahl an Parodontitispatienten und Parodontitispatientinnen in der Bevölkerung. 15 – 20% der Erwachsenen leiden an einer chronischen Parodontitis. Dies ist vor allem auch deshalb problematisch und von gesundheitspolitischer Bedeutung, da Patienten und Patientinnen mit Parodontalerkrankungen ein erhöhtes Risiko für Komorbiditäten wie Diabetes Mellitus, kardiovaskuläre Erkrankungen und Schlaganfälle aufweisen (9)(10) (11).



Parodontalerkrankungen sind altersassoziiert. Moderate und schwere Parodontalerkrankungen bei jüngeren Erwachsenen (35- bis 44-Jährige) heute: 51,6 Prozent und bei jüngeren Senioren (65- bis 74-Jährige) heute: 64,6 Prozent. Im Jahr 2030 wird der Großteil der Bevölkerung Senioren sein. Trotz abnehmender Prävalenzen ist daher derzeit mit einer Zunahme des parodontalen Behandlungsbedarfs zu rechnen.

Abbildung 1: 5. Deutsche Mundgesundheitsstudie (DMS V)

Da die Parodontitis nach heutigem Stand der Wissenschaft als irreversible Erkrankung gilt, ist die Prophylaxe und frühzeitige Diagnostik umso wichtiger. Diese Diplomarbeit möchte daher den Nutzen eines schnellen, einfachen und günstigen Risikotests zur Diagnostik von Erkrankungen des Zahnhalteapparates kritisch beleuchten.

1.1 Anatomie und Physiologie des Zahnhalteapparates

Der Begriff Parodont beschreibt 4 verschiedene Gewebearten, die gemeinsam den Zahnhalteapparat bilden: Gingiva, Wurzelzement, Alveolarknochen und Desmodont. Das Desmodont verbindet die beschriebenen Strukturen über Faserzüge miteinander. Um die pathologischen Vorgänge der einzelnen Gewebe zu verstehen, sollte man über den gesunden Zahnhalteapparat Bescheid wissen.

Die Gingiva reicht von der mukogingivalen Grenzlinie (Linea Girlandiformis) bis zum Zahnhals und bildet mit dem Saumeepithel eine wichtige epitheliale Barrierefunktion zwischen der Mundhöhle und der Aufhängung des Zahnes im Alveolarfortsatz des Ober- beziehungsweise Unterkiefers.

Die gesunde Gingiva erscheint blassrosa, unverschieblich und gestipelt (2). Die Gingiva kann physiologischer Weise einen dicken Phänotyp (stark gestipelt, derb und dick) oder einen dünnen Phänotyp (kaum gestipelt, zart und dünn) aufweisen (3) (4).

Das Wurzelzement weist eine Besonderheit im funktionellen Verband des Zahnhalteapparates auf: Es ist sowohl Teil des Zahnes, als auch Teil des Parodonts (5) (6) (7) .

Beim Wurzelzement unterscheidet man histologisch zwischen verschiedenen Arten. Es ist für die Verankerung des Zahnes in der Alveole verantwortlich (8).

Der Alveolarknochen ist, wie auch in vielen Teilen des Skeletts, aus einer äußeren Kompakta und einer inneren Spongiosa aufgebaut. Der Alveolarfortsatz im Ober- und Unterkiefer ist abhängig von der Bezahnung der Kiefer. Sobald keine Zähne vorhanden sind, atrophiert er (8).

Die desmodontalen Fasern verbinden sämtliche Gewebe des Zahnhalteapparates miteinander und sorgen somit für die bindegewebige Aufhängung (8).

Der Alveolarknochen und die umliegenden Gewebe unterliegen ständigen Umbauprozessen, die als physiologische Reaktion auf veränderte Zug- und

Druckbeanspruchungen gelten und sich im Gleichgewicht halten. Williams nennt dieses Gleichgewicht Gewebemöostase (9).

Sobald das Gewebe derartigen Belastungen ausgesetzt ist, dass es nicht mehr fähig ist, entsprechend reaktiv gegenzusteuern, beginnt bereits der Krankheitsprozess (Parodontitis) (8).

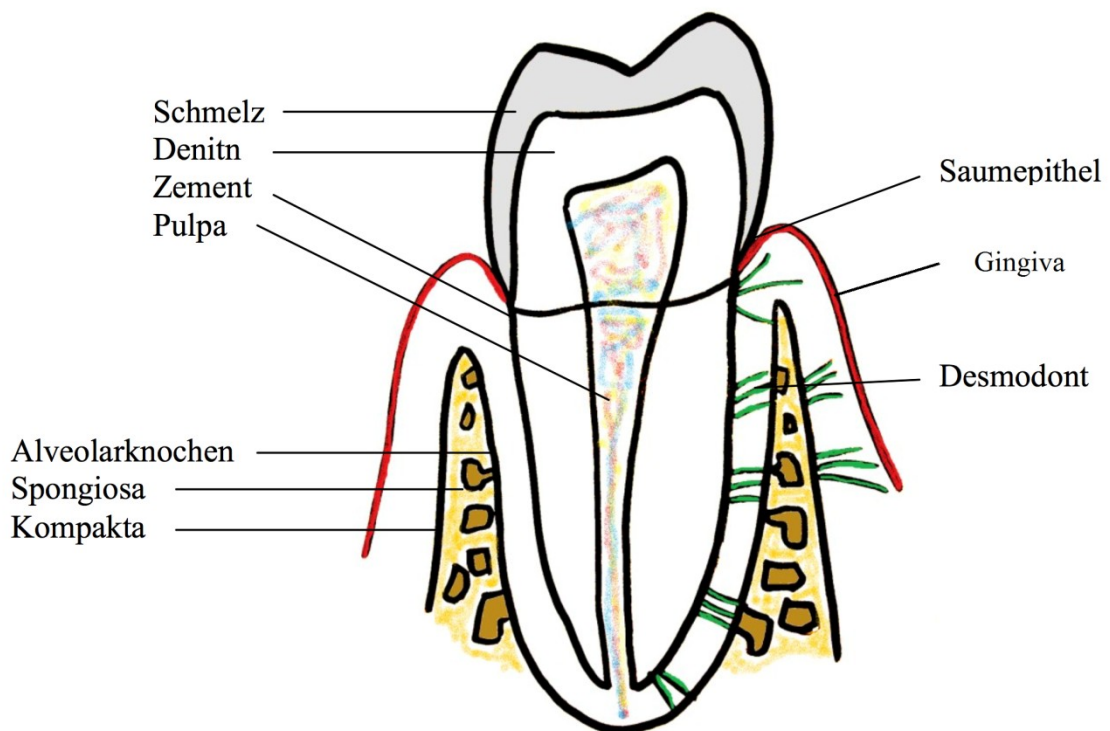


Abbildung 2: Schematische Darstellung des Zahnes mit Zahnhalteapparat (nach Rateitschak).

1.2 Einteilung parodontaler und periimplantärer Erkrankungen

Parodontal gesund und gingivale Erkrankungen	Parodontitis	Andere Ursachen parodontaler Erkrankung
1) Parodontal und gingival gesund	1) Nekrotisierende Parodontalerkrankungen	1) Systemische Ursachen
2) Gingivitis Biofilm-induziert	2) Parodontitis	2) Parodontaler Abszess und Paro-Endoläsion
3) Gingivitis nicht Biofilm-induziert	3) Manifestation systemischer Erkrankungen	3) Mukogingivale Ursachen
		4) Okklusales Trauma
		5) Zahnbezogene und prothetische Faktoren
Periimplantäre Erkrankungen		
1) periimplantär gesund 2) periimplantäre Mukositis	3) Periimplantitis	4) Periimplantäre Infekte des Hart- bzw. Weichgewebes

Tabelle 1: Einteilung parodontaler und periimplantärer Erkrankungen

1.1 Gingivitis

1.1.1 Definition

Die Gingivitis beschreibt eine Entzündung des marginalen Zahnfleisches, die zumeist

bakteriell verursacht ist und als unspezifische Mischinfektion gilt (10).

Um eine reproduzierbare und präzise Diagnostik zu ermöglichen, bedarf es zur Einteilung der Gingivitis Indices (detaillierte Beschreibung siehe Punkt 1.5.2) (8).

1.1.2 Klinik

Eine Abgrenzung zwischen gesundem Zahnfleisch und Gingivitis zu finden, ist schwer. Klinisch gesund wirkende Gingiva zeigt in vielen Fällen, nach histologischer Untersuchung, Spuren einer Entzündung. Dies verwundert auch wenig, da apathogene oder wenig pathogene Erreger (grampositive Kokken und Stäbchen) ständige Bewohner der Mundhöhle sind und die Gingiva mit ihren Abwehrmechanismen ein klinisches Auftreten einer Entzündung bekämpft (8).

Eine Gingivitis kann Vorläufer einer Parodontitis sein. Es gibt aber auch Fälle, bei denen unbehandelte Zahnfleischentzündungen über Jahre stationär geblieben sind (11).

Bei starker Gingivitis kann es zur Ausbildung von Pseudotaschen, durch Schwellung und Gewebshyperplasie, kommen. Man spricht zwar noch nicht von echten parodontalen Taschen, da es noch nicht zum Gewebeverlust gekommen ist, aber der Zahnhalteapparat befindet sich in einer Vorstufe. Durch die Pseudotaschen wird ein Milieu geschaffen, in dem sich parodontopathogene, anaerobe Mikroorganismen vermehren können (8).

1.1.3 Histologie und Pathogenese

Die Kardinalsymptome der Gingivitis sind Rötung, Schwellung, Blutung, Strukturveränderungen, Verlust der Gewebsadaptation zu den Zähnen und eine erhöhte Menge von Sulkusfluid (12) (13) . Die Entwicklung einer Gingivitis verlangt

die Anwesenheit von Plaque (10). Histopathologische Untersuchungen haben ergeben, dass 3 Stadien der Gingivitis zu unterscheiden sind (14) (15) (16).

Die frühe Gingivitis ist eine akute Entzündungsreaktion mit Anwesenheit von neutrophilen Granulozyten, Fibroblastenveränderungen, Gefäßveränderungen und Kollagenverlust. Diese initialen Prozesse entstehen einerseits durch die Chemotaxis der neutrophilen Granulozyten bei Bakterienanwesenheit und andererseits durch direkte Gefäßveränderungen, wie die Aktivierung des Kininsystems, des Komplementsystems oder des Arachidonsäurepfades, ausgelöst durch bakterielle Produkte (17) (18).

1.2 Parodontitis

1.2.1 Definition

Wie sein Suffix es bereits vermuten lässt, handelt es sich bei der Parodontitis um eine entzündliche Erkrankung, bei der es, wie bei jedem anderen entzündlichen Prozess im Körper zu einer klassischen wie komplexen Entzündungsreaktion kommt. Es werden verschiedenste Botenstoffe und Enzyme ausgeschüttet, die in Interaktion mit Toxinen und anderen Virulenzfaktoren treten, und so ein pathologisches Ungleichgewicht der Kräfte zugunsten des parodontalen Gewebsabbau auslösen (12)(13).

Die Parodontitis ist eine bakteriell ausgelöste, multifaktorielle Erkrankung, der meist eine Gingivitis vorausgeht. Es gibt auch Gingivitisfälle, die nicht in eine Parodontitis münden. Für das Ausmaß der Erkrankung sind die Virulenz der Mikroorganismen und die darauffolgende Wirtsantwort entscheidend (8).

1.2.2 Klinik und Einteilung

Die American Academy of Periodontology hat im Jahr 1999 folgende, bis Juli 2018 gültige, Einteilung von Parodontalerkrankungen getroffen. Die Unterscheidungsmerkmale werden unter den jeweiligen Diagnosen kurz beschrieben (19):

I. Gingivale Erkrankungen

Siehe Punkt 1.2

II. Chronische Parodontitis

Diese Form zeigt sich als langsam voranschreitend (20), kann weiter eingeteilt werden in lokalisiert/generalisiert (Verteilung) oder in leicht/moderat/schwer (Schweregrad) (21). Klinisch präsentiert sich die chronische Parodontitis mit Zahnwanderung und Mobilität der betroffenen Zähne.

III. Aggressive Parodontitis

Sie kann auch bezüglich ihrer Verteilung (lokalisiert/generalisiert) eingeteilt werden (20) (21). Besonders bei dieser Form ist, dass der Patient/die Patientin bei Krankheitsausbruch klinisch gesund ist, die Gewebszerstörung rasch voranschreitet und dass es zu einer familiären Häufung der Betroffenen kommt (20) (22). Bei mikrobiologischen Untersuchungen kommt es häufig zum Nachweis von parodontopathogenen Leitkeimen wie z.B. *Aggregatibacter Actinomycetemcomitans* (22).

IV. Parodontitis als Manifestation einer Systemerkrankung

Unter diesen Punkt fallen Parodontitisfälle die in Zusammenhang mit Allgemeinerkrankungen auftreten. Sie werden nach ihrem Auslöser eingeteilt in Bluterkrankungen und genetische Störungen. Die folgende Auflistung enthält ausschließlich Erkrankungen, bei denen ein evidenter Zusammenhang mit einer Parodontitis gesichert ist:

- Bluterkrankungen
 1. Erworbene Neutropenie
 2. Leukämie
 3. Andere

- Genetische Störungen
 4. Familiäre oder zyklische Neutropenie
 5. Down-Syndrom
 6. Leucocyte-Adhesion-Deficiency Syndrome (LADS)
 7. Papillion-Lefèvre-Syndrom
 8. Chediak-Higashi-Syndrom
 9. Histiocytose-Syndrom oder Eosinophiles Granulom
 10. Glykogenspeicher-Syndrom
 11. Infantile genetische Agranulozytose
 12. Cohen-Syndrom
 13. Ehlers-Danlos-Syndrom, Typen IV und VIII
 14. Hypophosphatasie
 15. Andere (19)

V. Nekrotisierende Parodontalerkrankungen

Diese kommen relativ selten vor und werden unterteilt in nekrotisierende, ulzerierende Gingivitis (NUG) und nekrotisierende, ulzerierende Parodontitis (NUP). Die NUG zeigt sich mit gingivalen Nekrosen und Schmerzen(22) (23) , die NUP präsentiert sich mit Weichgewebnekrosen, Knochenverlust und schnellem Abbau des Parodontiums (24).

VI. Abszesse des Parodonts

Die Einteilung der Abszesse erfolgt wiederum anhand ihrer Lokalisation (gingival/parodontal/perikoronar) (20). Als Auslöser können teilweise eruptierte Sapientes, Essensreste oder eine unbehandelte Parodontitis sein (25).

VII. Parodontitis im Zusammenhang mit endodontalen Läsionen

Unter diesen Punkt fallen kombinierte Entzündungen des Parodonts und der Pulpa, unabhängig von ihrer initialen Ätiologie. Es kann sowohl ein endodontologisches Problem eine Parodontitis hervorrufen, als auch umgekehrt. In manchen Fällen entwickeln sich die Krankheitsbilder unabhängig voneinander(19).

VIII. Entwicklungsbedingte oder erworbene Deformationen und Zustände

Hierunter versteht man verschiedene Faktoren, die eine Ausbreitung von gingivalen- beziehungsweise parodontalen Entzündungen begünstigen. Zum Beispiel dentogene Faktoren (Begünstigung der Plaqueretention), Schleimhautverhältnisse, Veränderungen der Mukosa auf zahnlosen Kieferkämme oder okklusale Traumata (19).

1.2.3 Histologie

Müller – Glauser und Schroeder beschreiben das Taschenepithel als sehr dünn, teils ulzerierend, durchwandert von polymorphkernigen neutrophilen Granulozyten. Die Basallamina zum Bindegewebe hin ist teilweise defekt. Im subepithelialen Bindegewebe befinden sich Entzündungszellen, die einen Kollagenverlust bedingen. In entzündlichen Schüben findet man Mikroabszesse und Eiter. Im fortgeschrittenen Stadium sieht man Knochenresorptionen und ersatzweise Ausbildung von fibrösen Bindegewebe (14).

1.3 Diagnosestellung

1.3.1 Behandlungskonzept

An der Universitätsklinik für Zahnmedizin und Mundgesundheits in Graz wird folgendes Stufenschema als Behandlungskonzept für Patienten und Patientinnen mit Parodontalerkrankungen angewandt:

- 1) Diagnostik – Planung
- 2) Initiale Therapie – Endodontie – funktionelle Therapie
- 3) Reevaluation
- 4) Erweiterte Diagnostik – Risikoprofil
- 5) Definitiver Behandlungsplan

6) Parodontalchirurgie – regenerative Techniken

- 7) Kieferorthopädie, Chirurgie
- 8) Implantattherapie
- 9) Prothetisch-restaurative Versorgung

10) Erhaltungstherapie - Recall

Tabelle 2: Behandlungskonzept bei Parodontalerkrankungen an der Universitätsklinik für Zahnmedizin und Mundgesundheit in Graz

1.3.2 Indices/Befunderhebung

Indices dienen dem Behandler und der Behandlerin als reproduzierbare Kriterien, die den Status Quo zu Beginn und den Erfolg oder Misserfolg der Behandlung eines jeden Patienten und einer jeden Patientin individuell dokumentieren.

Im Folgenden werden die gebräuchlichsten Indices für die individuelle Patienten- und Patientinnenbehandlung aufgezählt und erklärt Als wissenschaftliche Quelle

dient das Standardwerk der Parodontologie im deutschsprachigen Raum von Wolf und Rateischak (2).

1.3.2.1 Plaqueindices

PI – Plaque Index nach O’Leary:

O’Leary publizierte bereits im Jahr 1972 unter dem Titel „The plaque control record“ einen Index zur Quantifizierung von Plaque. Er unterteilt jeden Zahn in 4 Messbereiche (mesial, distal, bukkal, oral), färbt die Plaque an und unterscheidet mit ja/nein das Vorhandensein. Die Ergebnisse eines ganzen Gebisses werden in folgende Formel eingetragen um einen prozentuellen Wert der mit Plaque belegten Zahnflächen zu erreichen (15):

$$PI = \frac{\text{Anzahl der Stellen mit Plaque}}{\text{Anzahl der gemessenen Stellen}} \times 100$$

API - Approximalraum-Plaqueindex nach Lange:

Lange publizierte im Jahr 1977 erstmals den API. Nach Anfärben wird mittels ja/nein Entscheidung beurteilt, ob die Approximalflächen mit Plaque belegt sind oder nicht. Die Ergebnisse werden wiederum mit einer Formel errechnet, um einen prozentuellen Wert des Plaque-Befalls des Gebisses zu erhalten (16):

$$API = \frac{\text{Anzahl der Stellen mit Plaque}}{\text{Anzahl der gemessenen Stellen}} \times 100$$

Plaqueindex (PI) nach Silness und L e:

Silness und L e messen für ihren Index die ungefärbte, getrocknete Plaque am Gingivalrand. Die Einteilung erfolgt, wie in Tabelle 2 ersichtlich, in 4 Graden (5):

Grad 0	Keine Plaque am Gingivarand
Grad 1	Keine Plaque auf den ersten Blick sichtbar, am Rand lässt sich jedoch mit der Sonde Plaque abstreifen
Grad 2	Plaque mit bloßem Auge sichtbar in mäßiger Ansammlung am Gingival-Rand und auf der benachbarten Zahnoberfläche
Grad 3	Viel Plaque entlang des Gingiva-Randes und in den Interdentalr�aumen; angrenzende Zahnoberfläche ebenfalls mit viel Plaque behaftet

Tabelle 3: Gradeinteilung Plaqueindex (PI) nach Silness und L e

1.3.2.2 Gingivitisindices

BOP - Blutung auf Sondierung (bleeding on probing) nach Ainamo und Bay:

Analog zu den Messstellen beim PI werden 4 Stellen am Zahn sondiert. Kann eine Blutung ausgelöst werden, wird das mit einer 1 (Ja) markiert, bleibt eine Blutung aus, mit einer 0 (Nein). Die Ergebnisse werden wiederum mit einer Formel errechnet um den prozentuellen Anteil der blutenden (=entz undeten) Messstellen in einem Gebiss zu erhalten (7).

Anzahl der blutenden Stellen

$BOP = \frac{\text{Anzahl aller Messstellen}}{\text{Anzahl aller Messstellen}} \times 100$

PBI – Papillenblutungsindex nach Saxer und Mühlemann:

Es wird der Sulkus jedes einzelnen Zahnes sondiert bzw. ausgestrichen und die darauffolgende Blutungsneigung in 4 Grade (Siehe Abbildung 3) unterteilt. Zur Zeitersparnis ist es möglich, die Zähne im 1. und 3. Quadranten nur von oral und die Zähne im 2. und 4. Quadranten nur von vestibulär zu sondieren. Der PBI kann als Blutungszahl (Summe aller Werte) und als Index (durchschnittlicher Schweregrad) angegeben werden (17).



Abbildung 3: PBI – Papillenblutungsindex nach Saxer und Mühlemann (Quelle: Rataitschak))

GI – Gingivalindex nach Silness und Loe:

Der Gingivalindex differenziert in 4 Graden das Vorhandensein bzw. das Ausmaß einer Entzündung. Er wird an 6 ausgewählten Zähnen (16, 12, 24, 36, 32, 44), jeweils fazial, oral, mesial und distal bestimmt und folgendermaßen eingeteilt (5):

Grad 0	normale Gingiva, keine Entzündung und keine Verfärbung, keine Blutung.
Grad 1	geringe Entzündung, leichte Farbveränderung, geringe Oberflächenveränderung, KEINE Blutung.
Grad 2	mäßige Entzündung, Rötung, Schwellung, Blutung bei Sondierung auf Druck
Grad 3	starke Entzündung, starke Rötung und Schwellung, Tendenz zu Spontanblutungen, eventuell Ulzerationen.

Tabelle 4:Gradeinteilung Gingivalindex (GI) nach Silness und Loe

1.3.2.3 Parodontalindizes

Indices zur individuellen Stratifizierung der Parodontitis sind für epidemiologische Studien entwickelt worden und im Grunde genommen auch nur für diese Anforderung brauchbar. Das Problem liegt darin, dass die Parodontitis als multifaktorielle Erkrankung zu umfassend ist um alle wichtigen Marker und Untersuchungsergebnisse in einen Index zu vereinigen.

Da es darüber hinaus wenig Sinn macht, einen komplizierten Index zu erstellen, der annähernd alles umfasst, aber aufgrund der Komplexität vom Behandler oder von der Behandlerin nicht angewendet wird, hat man sich auf den Kompromiss,

einfacherer Indices, die im Folgenden beschrieben werden, geeinigt.

In der täglichen Praxis darf der Wert dieser Indices aber nicht unterschätzt werden, dienen sie doch als schnelle, stichprobenartige Befunde mit guter Vortestwahrscheinlichkeit. Anhand einer ersten, schnellen Untersuchung wird dann entschieden, ob es notwendig ist, den Patienten oder die Patientin weiter parodontal zu untersuchen bzw. zu behandeln (2).

PDI – Periodontal Disease Index nach Ramfjord:

Der PDI wird nur mittels 6 Zähnen (sogenannte Ramfjord-Zähne: 16, 21, 24, 36, 41 und 44) bestimmt. Laut Ramfjord geben diese ausgewählten Zähne einen repräsentativen Überblick über das Gesamtgebiss. Fehlen diese Zähne, können sie durch ihre Nachbarzähne ersetzt werden. In diesem Index werden sowohl die Gingivitis, als auch der Verlust an parodontalem Gewebe mit je 3 Graden beschrieben (siehe Tabelle 4). Zur Einteilung der Parodontitis wird der Attachmentverlust (Distanz von Schmelz-Zement-Grenze und Taschenfundus) verwendet. Der PDI eignet sich ausschließlich für epidemiologische Studien (2) (6).

Gesund	
Grad 0	Entzündungsfreiheit, keine Veränderung der Gingiva
Parodont	
Grad 1	Leichte bis mäßige Gingivitis an einzelnen Stellen der Gingiva
Grad 2	Leichte bis mäßige Gingivitis an der Gingiva rund um den Zahn
Grad 3	Schwere Gingivitis, Rötung, Blutung, Ulzeration
Grad 4	Attachmentverlust bis 3mm von der Schmelz-Zement-Grenze gemessen
Grad 5	Attachmentverlust von 3-6mm
Grad 6	Attachmentverlust über-6mm

Tabelle 5: Gradeinteilung Periodontal Disease Index (PDI) nach Ramfjord

CPITN – Community Periodontal Index of Treatment Needs nach Ainamo (WHO):

Der CPITN gilt als Meilenstein in der Parodontitisbefundung. Zum ersten Mal hat man nicht nur den Grad von Gingivitis und Parodontitis über Blutung beziehungsweise Taschentiefe eingeteilt, sondern auch die Behandlungsnotwendigkeit des jeweiligen Schweregrades vorgeschlagen (siehe Tabelle 5) (7)(3).

Gemeinsam mit der Publikation des CPITN hat die WHO eine standardisierte Untersuchungssonde vorgeschlagen, um die Sondierungstiefe der Tasche für den CPITN reproduzierbar darzustellen. Die Sonde (sogenannte WHO) sieht folgendermaßen aus:



Abbildung 4: WHO Sonde

Als Spitze der Sonde dient eine kleine Kugel mit 0,5mm Durchmesser. Das schwarze Band markiert den Bereich zwischen 3,5 und 5,5mm. Sondiert werden sollte mit einem Druck von 20 – 25 Pond (3).

	CPITN – Codes	CPITN Behandlungsnotwendigkeit
Grad 0	gesund	häusliche Mundhygiene (home care)
Grad 1	Bluten beim Sondieren - BOP	orale Hygieneinstruktion
Grad 2	Zahnstein supra- und subgingival iatrogene marginale Irritation	1 + Zahnsteinentfernung/Scaling
Grad 3	Tasche seicht, bis zu 5mm	1 + 2 + komplexe Therapie
Grad 4	Tasche tiefer, ab 6mm	

Tabelle 6: Gradeinteilung Community Periodontal Index of Treatment Needs (CPITN) nach Ainamo (WHO)

PSI – Parodontaler Screening Index nach AAP und ADA:

Die American Academy of Periodontology (AAP) und die American Dental Association (ADA) haben im Jahr 1992 erstmals den Parodontalen Screening Index (PSI) publiziert, welcher als modifizierter CPITN gilt. Ziel war eine noch schnellere Früherfassung der Parodontitis. Er unterteilt sich ebenfalls in 5 Grade (siehe Tabelle 6), wobei der unterschied darin besteht, dass bei Zähnen mit Grad 3 oder 4 – Befall ein vollständiger Parodontalstatus, inklusive Röntgenstatus, erhoben werden muss. Die Entscheidung, wann ein Spezialist oder eine Spezialistin zur Behandlung hinzugezogen werden sollte wird mit dem PSI ebenfalls erleichtert (2).

	PSI - Codes	PSI Behandlungsnotwendigkeit
Grad 0	kein Bluten, kein Zahnstein, Band (der WHO – Sonde) zu 100% sichtbar	präventive Behandlung
Grad 1	Bluten , kein Zahnstein oder defekter Zahnrand, Band zu 100% sichtbar	orale Hygieneinstruktion, Plaque- und Belagentfernung
Grad 2	Bluten, Zahnstein , Band zu 100% sichtbar	orale Hygieneinstruktion Subgingivale Plaque- und Zahnsteinentfernung
Grad 3	Band nur zum Teil sichtbar , Sondierungstiefe von 3,5 – 5,5mm	wie Grad 2 + vollständiger parodontal- und Röntgenstatus → eventuell Überweisen ad Spezialisten
Grad 4	Band nicht mehr sichtbar , Sondierungstiefe >6mm	wie Grad 2 und 3 + weitergehende Therapie (z.B.: Parochirurgie) → eventuell Überweisen ad Spezialisten

Tabelle 7: Gradeinteilung Parodontaler Screening Index (PSI) nach AAP und ADA

PGU – Parodontale Grunduntersuchung:

In der Schweiz und in Österreich verwendet man anstatt des PSI die PGU, die ebenso als schneller Screeningtest zur Ermittlung von Gingival- und/oder Parodontalerkrankungen geeignet ist. Es wird, je nach Lehrmeinung, an bis zu 6 Stellen (mesio-bukkal, bukkal, disto-bukkal, mesio-oral, oral, disto-oral) eines Zahnes sondiert und gemessen. Das Gebiss wird in Sextanten unterteilt und jeweils der schlechteste Wert eines Zahnes pro Sextant gibt den jeweiligen PGU – Wert an. Es gibt auch bei diesem Index einen Therapievorschlag nach Gradeinteilung (siehe Tabelle 7). Eine Besonderheit ist, dass man spezielle parodontale Probleme, wie

Furkationsbefall von >3mm, erhöhte Zahnbeweglichkeit oder mukogingivale Probleme, bei Patienten und Patientinnen mit einem * (Stern) markieren kann (2).

	PGU - Codes	PGU Behandlungsnotwendigkeit
Grad 0	1.Farbmarkierung zu 100% sichtbar, Keine Blutung, Kein Zahnstein, keine defekten Restaurationsränder	gesund – adäquate präventive Betreuung
Grad 1	1.Farbmarkierung zu 100% sichtbar, Blutung auf Sondierung, Kein Zahnstein, keine defekten Restaurationsränder	Gingivitis – Mundhygieneinstruktion und Prophylaxe inklusive Eliminierung der Plaque
Grad 2	1. Farbmarkierung zu 100% sichtbar, Blutung auf Sondierung möglich, Zahnstein und/oder defekte Restaurationsränder	Gingivitis – wie Grad 1 mit zusätzlicher subgingivaler Plaqueeliminierung + Entfernung von Zahnstein und Korrektur von plaqueretentiven Restaurationsränder
Grad 3	2.Farbmarkierung nur teilweise sichtbar , Blutung auf Sondierung möglich, Zahnstein und/oder defekte Restaurationsränder möglich	mittelschwere Parodontitis – wie Grad 2 + genaue Parodontaluntersuchung, Therapie jedes betroffenen Sextanten → eventuell Überweisen ad Spezialisten
Grad 4	2.Farbmarkierung verschwindet vollständig, Blutung auf Sondierung möglich, Zahnstein und/oder defekte Restaurationsränder möglich	schwere Parodontitis – umfassender Parodontalstatus und Behandlung durch einen Spezialisten für Parodontologie

Tabelle 8: Gradeinteilung Parodontale Grunduntersuchung (PGU)

1.4 Entzündungsreaktion

In unserem Körper leben unzählige Mikroorganismen und Bakterien, jedoch sind die meisten davon, immerhin 99,9% , sogenannte obligate Anaerobier, die unsere Normalflora bilden - also wichtig für den Organismus sind. Diejenigen, die dem Körper Schaden, werden Pathogene genannt. Sobald diese Pathogene sich im Wirtsorganismus vermehren und ihm schaden, wird das als Infektion bezeichnet (18).

1.4.1 Entzündungsmediatoren

Es gibt eine Vielzahl verschiedener Mediatoren und Mechanismen, die zum klinischen Bild einer Entzündung führen – einige davon sind noch unklar und nicht erforscht. Um den Überblick zu bewahren, konzentriert sich diese Arbeit auf die hier untersuchten Komponenten der parodontalen Entzündung, die Matrix-Metalloproteinasen (MMP) und die Interleukine (IL).

Bei parodontalen Entzündungen kommt es zu einer vermehrten Ausschüttung von proinflammatorischen und katabolen Zytokinen wie Interleukin 1 (IL-1) und Tumornekrosefaktor α (TNF α). Diese aktivieren weiter Zytokine wie IL-6 und Prostaglandine, sowie die gewebsdestruierenden MMP's. IL-1 und TNF α sind insbesondere am Knochenabbau beteiligt, indem der Abbau beschleunigt und die Neubildung gehemmt werden (2).

1.4.1.1 Matrix-Metalloproteinasen

MMP's sind gewebsdestruierende Enzyme, die in 5 Klassen aufgeteilt werden können (12,19):

- 1) Kollagenasen (MMP 1, 8 und 13)
- 2) Gelatinasen (MMP 2 und 9)
- 3) Stromelysine (MMP 3, 10 und 11)
- 4) membrangebundene MMPs (MMP 14, 15, 16 und 17)
- 5) Andere

Zur Ausschüttung dieser Enzyme kommt es durch die Stimulierung von infiltrierten Zellen des Parodonts durch Bakterien des subgingivalen Biofilms. In der Normalflora werden MMPs durch ihre spezifischen Hemmerden TIMPs kontrolliert. Im Rahmen von Entzündungen wird dieser Mechanismus von Entzündungsmediatoren zugunsten einer Überproduktion an MMPs verschoben (12).

Das Maß an MMPs darf aber nicht ausschließlich als Entzündungsmarker herangezogen werden, da diese Enzyme sowohl pro- als auch antiinflammatorisch vermitteln können (20-23).

Die vermehrte Aktivität und Ausschüttung von MMPs, insbesondere von Gelatinasen und Kollagenasen, konnte bei Parodontitispatienten und Parodontitispatientinnen sowohl in der Gingivalschleimhaut, als auch in Speichel- und Sulkusfluidproben nachgewiesen werden. Als Bekräftigung des direkten Zusammenhanges von MMPs und Parodontalerkrankungen konnte gezeigt werden, dass nach Parodontalbehandlung die Anzahl und Aktivität von MMPs annähernd gleich groß, wie bei parodontal gesunden Patienten und Patientinnen war (24).

1.4.1.2 Interleukine

Nicht alleine das Vorhandensein von Plaque ist entscheidend für das Ausmaß und das Fortschreiten einer parodontalen Erkrankung, es hängt vor allem auch von der individuellen Immunantwort der Patienten und Patientinnen ab.

Interleukine gehören zur Gruppe der Zytokine und sind niedermolekulare, hormonähnliche Peptide oder Glykopeptide. Unter den Interleukinen gibt es sowohl chemotaktische- als auch pro- und antiinflammatorische. Während die meisten Zytokine lokal wirken (IL-10, IL-1RN- antiinflammatorisch), sind einige (IL-1 und IL-6 – beide proinflammatorisch) auch systemisch aktiv (2).

1.5 Erweiterte Diagnostik

1.5.1 MMP8

Matrix-Metalloproteinase 8 ist ein zentraler und wichtiger Faktor bei parodontalen Erkrankungen. Auf dieses Enzym sind 90-95% der kollagenauflösenden Prozesse zurückzuführen (25-27) Es konnte gezeigt werden, dass mit erfolgreicher Parodontitistherapie, sowie medikamentöser Bekämpfung von MMP8 eine Reduktion, sowohl der Parodontitis, als auch der Menge von MMP8 im Speichel erreicht werden kann (24) .

Durch konventionelle Parodontalthherapie kann das Vorkommen von MMP8 im Sulcusfluid bei parodontal gesunden Patienten und Patientinnen verringert werden. Dieser Effekt ist zwar auch bei Parodontitispatienten- und patientinnen nachweisbar, jedoch sind die MMP8 – Werte trotzdem höher als in der gesunden Vergleichsgruppe. Es besteht also ein stark zunehmender direkter und messbarer Zusammenhang zwischen erhöhter MMP8 Konzentration und parodontalen Erkrankungen (28).

Bei MMP8 – Nachweis gibt es zusätzlich zur parodontalen Reinigung auch die Möglichkeit systemisch, medikamentös zu behandeln. Chemisch modifizierte Tetrazykline haben sich als nichtsteroidale, synthetische MMP-Hemmer als besonders wirksam gezeigt (29).

Am Markt findet man vor allem modifiziertes Doxycyclin als Langzeittherapie. In einer niedrigen Dosierung wirkt das Antibiotikum nicht mehr antibakteriell und ruft somit auch vermutlich keine Resistenzen hervor. Die Hauptwirkung besteht in der Hemmung von Zink- und Calciumabhängigen Enzymen, wie die Matrix-Metalloproteinasen. Am häufigsten wird das Präparat unter dem Handelsnamen Periostat® mit 20mg zweimal pro Tag für 90 Tage verschrieben. In dieser Dosierung wirkt es Weichgewebs- und Knochenverlusten entgegen (2).

1.5.2 Interleukin-1-Genpolymorphismus

Interleukin 1 ist einer der wichtigsten allgemeinen Aktivatoren unter den Botenstoffen. Die zugrundeliegenden Gene (IL-1A und IL-1B) liegen auf Chromosom 2 des menschlichen Genoms. Hier kann es zu Mutationen einzelner Basenpaare kommen, sogenannte *single nucleotide polymorphism* – *SNP*. Entscheidend wird diese Mutation bei der Aktivierung von Monozyten durch die Lipopolysaccharide gramnegativer Anaerobier – bei positivem Genpolymorphismus kommt es zur 4 – fachen Ausschüttung, was zu einer entsprechend stärkeren Entzündungsreaktion mit all ihren Folgen (vor allem Gewebsabbau) führt.

Als Definition eines positiven Interleukin-1 Genotyps gilt, wenn man 2 homozygote Allele in einem Gen, oder je ein heterozygotes auf beiden Genen (IL-1A und IL-1B) besitzt (siehe Abbildung 5) (2).

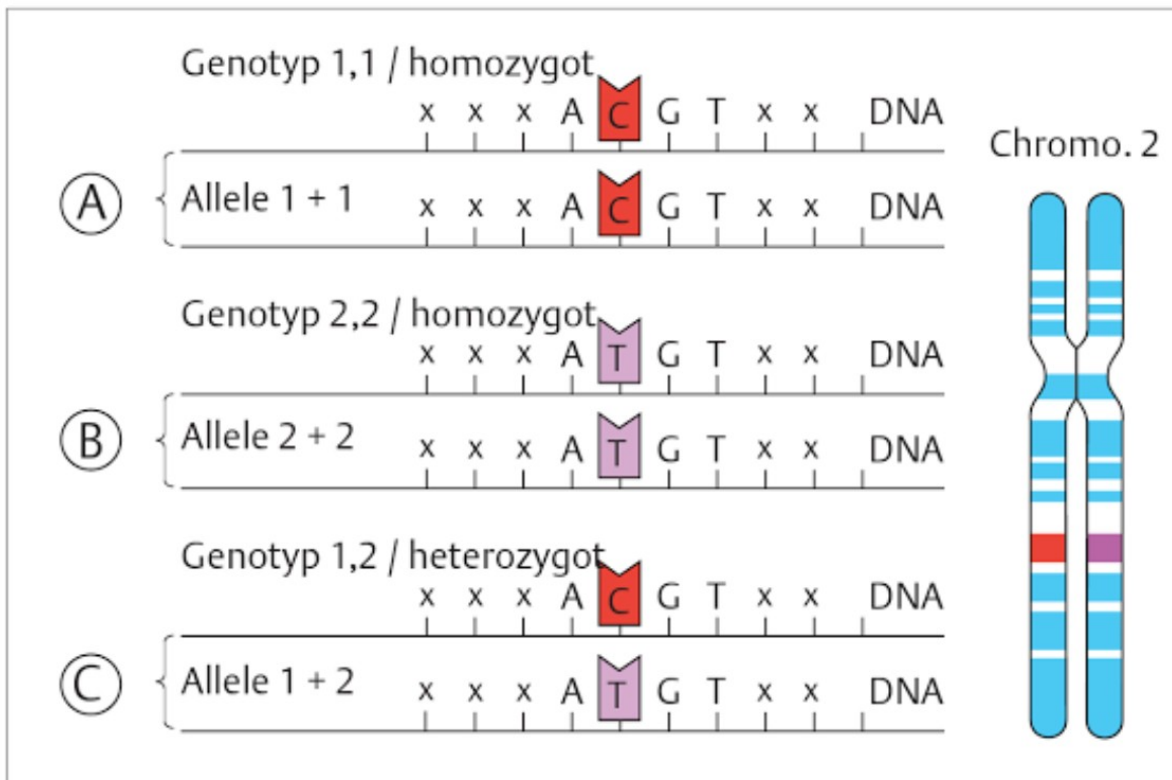


Abbildung 5: IL-1-Genpolymorphismus (Quelle: Rateitschak)

Die erhöhte Entzündungsbereitschaft und das damit höhere Risiko parodontaler Erkrankungen wirkt sich beim IL-1-Genpolymorphismus erst im späteren Erwachsenenalter aus, sofern keine zusätzlichen Risikofaktoren, wie zum Beispiel Rauchen oder Diabetes Mellitus vorhanden sind (30).

Um einen IL-1-Genpolymorphismus festzustellen, muss in einem ersten Schritt DNA mittels Abstrich aus der Wangenschleimhaut entnommen werden. Es handelt sich um einen einfachen DNA Test, da aber die gewonnene Menge an DNA aus dem Schleimhautabstrich spärlich ist, muss diese im Labor mittels Polymerasekettenreaktion (PCR) vervielfältigt werden (2).

Die Gegenüberstellung von Interleukin-1 und seinem Gegenspieler, dem Interleukin-1-Rezeptorantagonist kann eine klinisch verwertbare Einschätzung über die Entzündungsreaktion beim jeweiligen Patienten/bei der jeweiligen Patientin geben.

Genotyp 1: normale IL-1-Produktion, normale IL-1-Rezeptorantagonist-Produktion

Genotyp 2: Überproduktion von IL-1, normale IL-1-Rezeptorantagonist-Produktion

Genotyp 3: Überproduktion von IL-1, erniedrigte IL-1-Rezeptorantagonist-Produktion

Genotyp 4: normale IL-1-Produktion, erniedrigte IL-1-Rezeptorantagonist-Produktion

individuelles Risiko:

Genotyp 1: kein erhöhtes genetisches Risiko für progressive Parodontitis

Genotyp 2: erhöhtes genetisches Risiko für progressive Parodontitis
engmaschigere Kontrollen, bessere Mundhygiene

Genotyp 3: stark erhöhtes genetisches Risiko für progressive Parodontitis

Genotyp 4: Patient mit verminderter genetischer Entzündungshemmung
ungewiss

2. Material und Methoden


Im Rahmen dieser Studie wurden insgesamt 123 Patienten und Patientinnen an der Universitätsklinik für Zahnmedizin und Mundgesundheits Graz hinsichtlich ihrer parodontalen Verhältnisse untersucht.

Jeder Patient und jede Patientin wurde mittels PGU, Matrix-Metalloproteinase-8-Chairsidetest (siehe Abbildung 6) und PST (genetische Untersuchung des Interleukin-1-Genpolymorphismus) untersucht.

Die PGU wurde mittels WHO-Sonde durchgeführt, der MMP8-Chairsidetest mittels Periometer® aMMP8 von GlaxoSmithKline Consumer Healthcare GmbH & Co. KG und für den PST wurde eine gepoolte Probe aus mehreren Parodontaltaschen entnommen und danach am Institut Krankenhaushygiene und Mikrobiologie Graz genetisch untersucht.

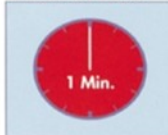
Probenentnahme

1. Vorspülen




Der Mund mit Leitungswasser 30 Sek. lang ausspülen; danach Wasser ausspucken.

2. Eine Min. warten




Eine Minute warten!

3. Einfüllen




Zum Öffnen der Spülung (A) drehen Sie die Verschlusskappe ab. Geben Sie die Lösung vollständig in den beigelegten Becher (B).

4. 30 Sek. spülen



30 Sek. mit der Spülung den Mund, Zähne und Zahnezwischenräume intensiv spülen. Nicht gurgheln!


5. Probe ausspucken



Die Mundspülung soll vollständig in den Becher (B) zurückgespuckt werden. Achten Sie auf ausreichend Flüssigkeit (ca. 5 ml).


Probenanalyse

7. Filter aufschrauben



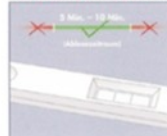
Befestigen Sie den Filter (D) FEST durch Anschrauben an der Spritze (C).

8. Probe auftropfen



Geben Sie genau 3 Tropfen der Probenlösung auf die runde Auftröpfelöffnung der Testkassette (E). Achten Sie darauf, die Spritze NICHT aufzusetzen!

9. Nach 5 Min. ablesen



Lassen Sie die Testkassette auf einer glatten Fläche liegen! Lesen Sie die Probe nach 5 Min. ab. Nach mehr als 10 Min. sollte das Ergebnis nicht mehr abgelesen werden. Achtung: Auch eine leichte Linie ist eine positive Linie!

Mögliche Ergebnisse

Ablesefenster	Testlinie T	Kontrolllinie C	Risiko für parodontalen Gewebeabbau
	-	+	kein Risiko oder sehr geringes Risiko
	+	+	erhöhtes Risiko – Achtung: Auch eine leichte Testlinie ist ein positives Ergebnis!
	+	+	erhöhtes Risiko
	+	-	Ungültiger Test (keine Kontrolllinie) [Bitte gesamtes Prozedere mit neuem Test wiederholen]

- keine Linie sichtbar + Linie sichtbar

Abbildung 6: Durchführungsanweisung MMP8 Chaisidetest

Die untersuchten retrospektiven Daten wurden von 01.02.2011 bis 10.02.2014 an der Universitätsklinik für Zahnmedizin und Mundgesundheit, sowie in einer zahnmedizinischen Ordination im niedergelassenen Bereich erhoben.

Die Ergebnisse wurden von Frau DI Irene Mischak mittels Qui-Quadratstest statistisch ausgewertet.

Es wurden statistisch signifikante Zusammenhänge zwischen PGU und MMP8 Chairsidetest, PGU und PST, sowie MMP8 Chairsidetest und PST untersucht.

3. Ergebnisse

PGU verglichen mit MMP8

PGU	MMP 8		
	negativ	positiv	
0	30	7	37
1	9	6	15
2	1	4	5
3	0	5	5
4	1	18	19
	41	40	81

Tabelle 9: Ergebnistabelle PGU/MMP8

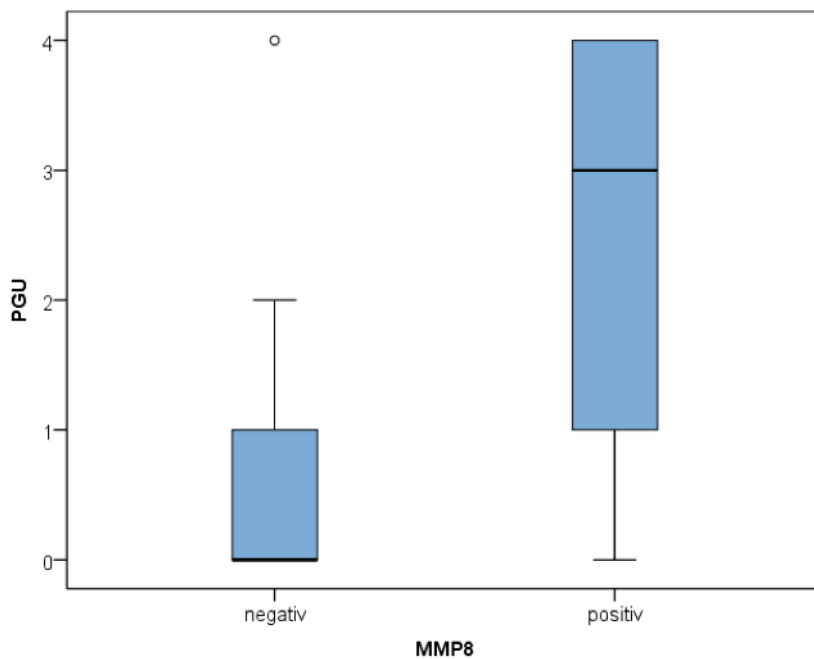


Abbildung 7: Ergebnisgraphik PGU/MMP8

Der *Chi-Quadrat Test* zeigt mit $p < 0,001$ einen signifikanten Zusammenhang zwischen MMP8 und PGU. Bei MMP8 positiv sind deutlich höhere PGU Werte.

PGU verglichen mit PST

PGU	negativ, Genotyp 1	positiv, Genotyp 2	stark positiv, Genotyp 3	positiv, Genotyp 4	
0	11	10	3	5	29
1	4	3	2	5	14
2	0	1	0	1	2
3	1	0	2	1	4
4	6	5	0	4	15
	22	19	7	16	64

Tabelle 10: Ergebnistabelle PGU/PST

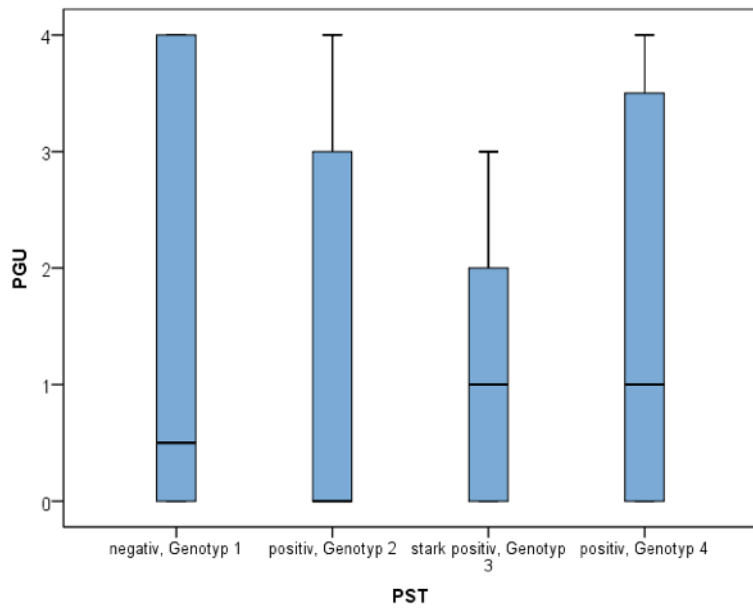


Abbildung 8: Ergebnisgraphik PGU/PST

Der *Chi-Quadrat Test* zeigt mit $p = 0,381$ keinen signifikanten Zusammenhang zwischen MMP8 und PST.

Bei Genotyp 3 sind die PGU Werte etwas niedriger. Aufgrund der niedrigen Fallzahl ist hier keine Aussage möglich.

PST verglichen mit MMP8

PST	MMP8		
	negativ	positiv	
negativ, Genotyp 1	16	16	32
positiv, Genotyp 2	8	18	26
stark positiv, Genotyp 3	5	2	7
positiv, Genotyp 4	9	15	24
	38	51	89

Tabelle 11: Ergebnistabelle PST/MMP8

Der *Chi-Quadrat Test* zeigt mit $p = 0,184$ keinen signifikanten Zusammenhang zwischen MMP8 und PST.

4. Diskussion

Der statistisch signifikante Zusammenhang zwischen einer Parodontitis laut PGU und einem positiven Testergebnis für MMP8 in der vorliegenden Untersuchungsreihe ist vergleichbar mit der aktuellen Literatur zu diesem Thema (24).

Kein Zusammenhang konnte zwischen PGU und PST gefunden werden, da genetische Dispositionen wie der Interleukin-1-Genpolymorphismus, ein ungünstiger Faktor bei der Entstehung einer Parodontitis sein könnte, allerdings nie ursächlich für die Entstehung von Parodontalerkrankungen ist (vgl. Kapitel 1.3.2 Klinik und Einteilung).

Die fehlende Korrelation zwischen MMP8 und PST lässt sich vermutlich ebenfalls über die vorhin beschriebene Ursache erklären. MMP8 ist als Enzym in einem gesunden Gleichgewicht in der Mundhöhle vorhanden und kann, wenn es Überhand gewinnt, gewebsdestruierende Prozesse einleiten, auch ohne genetische Prädispositionen.

Diverse Autoren und Autorinnen beschreiben die zentrale Rolle von Matrixmetalloproteinasen im Rahmen von entzündlich bedingtem Gewebsabbau bei Parodontitis: Sowohl in Sulcusfluid, Mundwasser oder Speichelproben von Parodontitispatienten und Parodonttispatientinnen lassen sich signifikant erhöhte MMP8 – Werte im Vergleich zu einer gesunden Vergleichsgruppe feststellen.(9,13,31-37).

Erst Sorsa et al (1988) und Uitto et al (1990 und 1987) zeigten, dass speziell MMP8 für gewebsdestruierende Prozesse des Parodonts verantwortlich ist. In weiteren Studien stellte sich heraus, dass 90-95% der Kollagenolyseaktivität im Sulcusfluid auf MMP8 zurückzuführen ist (25,27,38).

In letzter Zeit entstanden aufgrund der Tatsache, dass MMP8 als diagnostischer und eventuell auch prognostischer Parameter bei Parodontitispatienten und Parodontitispatientinnen zu verwenden ist, eine Vielzahl von quantitativen und Qualitativen MMP8-Chairside-Untersuchungsverfahren (24).

Die MMP8-chairside dip-stick Testmethode verwendet die gleichen monoklonalen Antikörper, wie IFMA und dentoELISA (39). Die genaue Beschreibung dieser Tests ist bei Hanemaaijer et al und Leppilahti et al (IFMA und dentoELISA) (39-42) bzw. Sorsa et al und Mäntylä et al (chair-side-dip-stick Test) (43)(44) nachzulesen.

Der wohl am einfachsten zu bedienende (laut Sorsa so einfach wie ein Schwangerschaftstest) ist wohl der dip-stick-chair-side Test, für dessen Durchführung gerade einmal 5 Minuten veranschlagt sind und das Ergebnis mit positiv oder negativ sofort ablesbar ist (12,19,44-46).

Der dip-stick-chair-side Test kann gesunde- von Gingivitis- und Parodontitispatienten und Patientinnen mit einer Sensitivität von 83% und einer Spezifität von 96% unterscheiden. Dieser Test kann auch für das Monitoring von laufenden konservativen Parodontaltherapien mittels Konkremententfernung oder bei Langzeitantibiotikagabe (low-dose mit Doxycyclin) verwendet werden(28,45) .

Verglichen mit dentoELISA, und IFMA, zeigte der dip-stick-chair-side Test eine gute Korrelation bei Untersuchungen von Sulcusfluid bei Parodontitispatienten und Parodontitispatientinnen. Der Amersham ELISA kit stimmte mit den Testergebnissen der zuvor beschriebenen Untersuchungsmethoden nicht zufriedenstellend überein(40,42,45-47).

Leppilahti et al hat noch weitere potentielle Biomarker im Sulcusfluid untersucht (azurocidin, chemokine (C-XC motif) ligand 5, myeloperoxidase, tissue inhibitor of

MMP1, MMP13 und 14) und diese mit zwei verschiedenen und unabhängigen MMP8 Tests (MMP8 IMFA und MMP8 ELISA) verglichen. Einzig MMP8 und Myeloperoxidase (= der oxidative Aktivator von MMP8) waren deutlich erhöht bei Parodontitis im Vergleich zu Gingivitis, wodurch eine klare Abgrenzung der Krankheitsbilder möglich ist. Interessant war auch, dass Leppilähti zeigen konnte, dass die MMP8 Werte bei IFMA besser mit Parodontitis korrelierten und eine höhere diagnostische Genauigkeit aufwiesen, als jene von ELISA (42).

Die konventionelle Reinigung von Zähnen und Plaque-behafteten Wurzeloberflächen mittels Konkremententfernung ist weiterhin der Goldstandart in der Parodontaltherapie. Es konnte gezeigt werden, dass bei Patienten und Patientinnen mit chronischer Parodontitis, nach konventioneller Reinigung, gleiche MMP8 Werte gemessen werden wie bei man sie auch bei Gesunden findet (28,33,48,49).

Kombiniert man Antibiotika zur konventionellen Therapie, dann verbessert das nicht die MMP8 – Messwerte. Han et al konnte dies anhand von Azithromycin zeigen, das er zusätzlich zu einer nicht-chirurgischen Parodontaltherapie angewendet hat (50).

Eine Antibiotikaklasse, nämlich chemisch modifizierte Tetrazykline, bringt in niedriger Dosierung Vorteile als adjuvante Therapie bei Parodontitis. Golub et al hat beobachtet, dass eine sogenannte low-dose Doxycyclingabe (20mg 2 mal pro Tag für 3 Monate – am Markt als Periostat® erhältlich) die MMP8 Werte signifikant senken konnte ohne den Gewebswiederaufbau (Remodeling) negativ zu beeinflussen - MMP1 (Fibroblast-Typ Kollagenase) ist für das Remodeling wichtig und wird von low-dose Doxycyclin nicht gehemmt (26,51,52).

Emingil et al hat eine Placebo-kontrollierte Studie durchgeführt, in der gezeigt werden konnte, dass bei adjuvanter Doxycyclintherapie für 3 Monate die MMP8 Werte um 50% niedriger waren als in der Placebo-Gruppe, nach 6 Monaten sogar um 70%. Da sich nach 6 Monaten die MMP8 Werte in den Vergleichsgruppen nicht

mehr verändert haben, scheint eine längerfristige low-dose Doxycyclingabe nicht sinnvoll zu sein (53).

Nachdem man den Interleukin-1-Genpolymorphismus bereits länger kennt und erfolgreich als prognostischen Faktor verwendet (vgl. Kapitel 1.6.2 Interleukin-1-Genpolymorphismus) war die Idee naheliegend, solche genetischen Dispositionen auch bei MMP8 zu untersuchen. Nach momentanem Stand der Wissenschaft konnten keine Verbindungen zwischen einem MMP8 Genpolymorphismus und einer chronischen- oder aggressiven Parodontitis gefunden werden (54-57).

Da die Verbindungen zwischen potentiellen entzündlichen Prozessen in der Mundhöhle und systemischen Erkrankungen immer stichhaltiger werden, steigt auch der Stellenwert von schnellen, sicheren und günstigen Screening Tools. Dass MMP8 Proben, gewonnen aus Sulcusfluid, parodontale Entzündungen im Sinne einer Parodontitis mit einer hohen Sensitivität und Spezifität feststellen können, ist bekannt und gut erforscht (12,19,45,58). Die technisch einfacher durchzuführende MMP8 – Testung über Mundwasser korreliert damit sehr gut (12,19,25,52). Es konnte gezeigt werden, dass Tests, die aus dem Mundwasser gewonnene MMP8-Proben, wie sie in den Produkten Periomarker®, Periosafe®, Implantsafe® oder Oral Risk Indicator® verwendet werden, mit einer Sensitivität von 83%-95% und einer Spezifität von 96%-98% sehr sicher sind (28,42).

MMP8 Proben aus Speichel zu gewinnen und zu analysieren, hat sich in der Parodontaldiagnostik momentan nicht durchgesetzt. Man konnte gute Korrelationen zwischen erhöhten MMP8 Werten bei Parodontitis im Vergleich zu parodontal Gesunden finden, es gibt aber Limitationen: Sowohl bei Rauchern und Raucherinnen, als auch bei Exrauchern und Exraucherinnen sind die MMP8 Werte geringer als in der Vergleichsgruppe, was den Test bei einer Vielzahl von Erkrankten verfälscht und somit unbrauchbar macht, da Rauchen einer der Hauptrisikofaktoren für Parodontitis ist (13,27,32,47,59-67).

Für die Zukunft wird gefordert, dass MMP8-Grenzwerte beziehungsweise MMP8-Normwerte für verschiedene Patientengruppen und Patientinnengruppen (Alter, Geschlecht, Begleiterkrankungen, Raucher, Raucherin/Nichtraucher, Nichtraucherin) und verschiedene Probenmaterialien definiert werden. Da MMP8 Werte bei Parodontitispatienten und Parodontitispatientinnen auch nach erfolgreicher Therapie höher sind als bei parodontal-gesunden Vergleichsgruppen, wird auch gefordert, Grenzwerte für inaktive Phasen der Parodontitis zu definieren. Der Fortschritt beziehungsweise der Schweregrad einer Parodontitis kann weder linear mit MMP8 Werten in Relation gesetzt (es gilt nicht: je höher die MMP8 – Werte, desto schwerer ist die Parodontitis), noch als deterministischer Wert festgelegt werden (es kann kein MMP8-Cut-off-Wert für alle klinischen Situationen definiert werden) (28,41,42).

Abgesehen von diesen Einschränkungen scheinen die MMP8-Mundwassertests ein zu unterstützendes und ergänzendes Tool für Zahnärzte und Zahnärztinnen in der Parodontaldiagnostik zu sein. Diese Tests könnten auch von Patienten und Patientinnen zuhause nach vorläufig abgeschlossener Parodontaltherapie verwendet werden, um eine wiederbeginnende Entzündungsreaktion rasch zu erkennen. Ein weiteres Einsatzgebiet könnte bei nicht-zahnärztlichem medizinischem Personal liegen, um eine potentielle dental-parodontale Entzündungsquelle als Kofaktor bei diversen Allgemeinerkrankungen rasch zu erkennen (42,68-71).

5. Schlussfolgerung

Es gibt eine Vielzahl von diagnostischen Tests, bei denen MMP8-Proben aus verschiedenen Flüssigkeiten gewonnen werden, am Markt. Vor allem Analysen aus Sulcusfluid und Mundwasser scheinen diagnostisch wertvoll zu sein. Die retrospektiv erhobenen Testergebnisse korrelieren gut mit den aktuellen Studien zu diesem Thema. MMP8 Schnelltests liefern, zusätzlich zu den konventionellen Befunden wie Sondierungstiefen, Attachment, BOP, Röntgenstatus usw., ein brauchbares diagnostisches Tool zur Parodontaldiagnostik, sofern zu den jeweiligen Tests entsprechende, empirisch ermittelte Grenzwerte zu verschiedenen Patienten- und Patientinnengruppen vorliegen.

Abzuwarten gilt auch die Verbreitung solcher Schnelltests im nicht-zahnärztlichen medizinischen Sektor. Eine rasche Zuweisung bei verdächtigen MMP8 Werten zum Zahnarzt bzw. zur Zahnärztin zur weiteren parodontalen Abklärung und Behandlung wäre in Zukunft wünschenswert, um diese sehr weit verbreitete Krankheit zurückzudrängen.

6. Literaturverzeichnis

- (1) assenzahnärztliche Bundesvereinigung, Körperschaft des öffentlichen Rechts Bundeszahnärztekammer – Arbeitsgemeinschaft der Deutschen Zahnärztekammern e.V. (BZÄK) editor. **Fünfte Deutsche Mundgesundheitsstudie (DMS V) – Kurzfassung** 1. Auflage ed. Berlin/Köln: BZÄK/KZBV; 2016.
- (2) Wolf HF, Rateitschak EM, Rateitschak KH. Parodontologie. : Georg Thieme Verlag; 2004.
- (3) parodontitis.com. **Parodontalsonden zum Messen der Taschentiefe**. 2016; Available at: <https://www.parodontitis.com/diagnostik-der-parodontitis/parodontose-screening/parodontalsonde-zum-messen-von-taschentiefen.html>. Accessed 11. August, 2017.
- (4) G. Caton J, Armitage G, Berglundh T, Chapple IL, Jepsen S, S. Kornman K, et al. A new classification scheme for periodontal and peri-implant diseases and conditions—Introduction and key changes from the 1999 classification. J Periodontol 2018;89:S1-S8.
- (5) Silness J, Loe H. Periodontal disease in pregnancy II. Correlation between oral hygiene and periodontal condition. Acta Odontol Scand 1964;22(1):121-135.
- (6) Ramfjord SP. The periodontal disease index (PDI). J Periodontol 1967;38(6 Part II):602-610.
- (7) Ainamo J. Community periodontal index of treatment needs (WHO). Int Dent J 1982;32:281-291.
- (8) Österreichische Gesellschaft für Parodontologie. PGU - die Parodontale Grunduntersuchung. 2017; Available at: <http://www.oegp.at/aerztinnen/pgu-die-grunduntersuchung/>. Accessed 11. August, 2017.
- (9) Lockhart P. American Heart Association Rheumatic Fever, Endocarditis, and Kawasaki Disease Committee of the Council on Cardiovascular Disease in the Young, Council on Epidemiology and Prevention, Council on Peripheral Vascular Disease, and Council on Clinical Cardiology: Periodontal disease and atherosclerotic vascular disease: does the evidence support an independent association?: a scientific statement from the American Heart Association. Circulation 2012;125:2520-2544.
- (10) Palm F, Lahdentausta L, Sorsa T, Tervahartiala T, Gokel P, Buggle F, et al. Biomarkers of periodontitis and inflammation in ischemic stroke: A case-control study. Innate immunity 2014;20(5):511-518.
- (11) Taylor JJ, Preshaw PM, Lalla E. A review of the evidence for pathogenic mechanisms that may link periodontitis and diabetes. J Clin Periodontol 2013;40(s14).

- (12) Sorsa T, Tjäderhane L, Konttinen YT, Lauhio A, Salo T, Lee H, et al. Matrix metalloproteinases: contribution to pathogenesis, diagnosis and treatment of periodontal inflammation. *Ann Med* 2006;38(5):306-321.
- (13) Uitto V. Collagenolytic enzymes in periodontal diseases. *Proc Finn Dent Soc* 1987;83:119-129.
- (14) Müller-Glauser W, Schroeder H. The pocket epithelium: a light-and electronmicroscopic study. *J Periodontol* 1982;53(3):133-144.
- (15) O'Leary TJ, Drake RB, Naylor JE. The plaque control record. *J Periodontol* 1972;43(1):38-38.
- (16) Lange DE, Plagmann HC, Eenboom A, Promesberger A. Clinical methods for the objective evaluation of oral hygiene. *Dtsch Zahnarztl Z* 1977 Jan;32(1):44-47.
- (17) Saxer UP, Muhlemann HR. Motivation and education. *SSO Schweiz Monatsschr Zahnheilkd* 1975 Sep;85(9):905-919.
- (18) Erne P. Parodontitis und Periimplantitis: in den menschlichen Körper disseminierende Biofilm-Infekte. *Quintessenz* 2008;59(3):273-285.
- (19) Sorsa T, Tjäderhane L, Salo T. Matrix metalloproteinases (MMPs) in oral diseases. *Oral Dis* 2004;10(6):311-318.
- (20) Butler GS, Overall CM. Matrix metalloproteinase processing of signaling molecules to regulate inflammation. *Periodontol 2000* 2013;63(1):123-148.
- (21) Giannobile WV. Host-response therapeutics for periodontal diseases. *J Periodontol* 2008;79(8S):1592-1600.
- (22) Hernandez M, Dutzan N, García-Sesnich J, Abusleme L, Dezerega A, Silva N, et al. Host-pathogen interactions in progressive chronic periodontitis. *J Dent Res* 2011;90(10):1164-1170.
- (23) Kuula H, Salo T, Pirilä E, Tuomainen AM, Jauhiainen M, Uitto V, et al. Local and systemic responses in matrix metalloproteinase 8-deficient mice during *Porphyromonas gingivalis*-induced periodontitis. *Infect Immun* 2009;77(2):850-859.
- (24) Sorsa T, Gursoy UK, Nwhator S, Hernandez M, Tervahartiala T, Leppilahti J, et al. Analysis of matrix metalloproteinases, especially MMP-8, in gingival crevicular fluid, mouthrinse and saliva for monitoring periodontal diseases. *Periodontol 2000* 2016;70(1):142-163.
- (25) Golub L, Lee H, Greenwald R, Ryan M, Sorsa T, Salo T, et al. A matrix metalloproteinase inhibitor reduces bone-type collagen degradation fragments and specific collagenases in gingival crevicular fluid during adult periodontitis. *Inflammation Res* 1997;46(8):310-319.
- (26) Ingman T, Sorsa T, Suomalainen K, Halinen S, Lindy O, Lauhio A, et al. Tetracycline inhibition and the cellular source of collagenase in gingival crevicular

fluid in different periodontal diseases. A review article. *J Periodontol* 1993;64(2):82-88.

(27) Ingman T, Tervahartiala T, Ding Y, Tschesche H, Haerian A, Kinane DF, et al. Matrix metalloproteinases and their inhibitors in gingival crevicular fluid and saliva of periodontitis patients. *J Clin Periodontol* 1996;23(12):1127-1132.

(28) Mäntylä P, Stenman M, Kinane DF, Tikanoja S, Luoto H, Salo T, et al. Gingival crevicular fluid collagenase-2 (MMP-8) test stick for chair-side monitoring of periodontitis. *J Periodont Res* 2003;38(4):436-439.

(29) Ryan ME, Ramamurthy S, Golub LM. Matrix metalloproteinases and their inhibition in periodontal treatment. *Curr Opin Periodontol* 1996;3:85-96.

(30) Kornman KS, Crane A, Wang H, Giovine FSd, Newman MG, Pirk FW, et al. The interleukin-1 genotype as a severity factor in adult periodontal disease. *J Clin Periodontol* 1997;24(1):72-77.

(31) Čulić O, Eraković V, Parnham MJ. Anti-inflammatory effects of macrolide antibiotics. *Eur J Pharmacol* 2001;429(1-3):209-229.

(32) Ebersole JL, Schuster JL, Stevens J, Dawson D, Kryscio RJ, Lin Y, et al. Patterns of salivary analytes provide diagnostic capacity for distinguishing chronic adult periodontitis from health. *J Clin Immunol* 2013;33(1):271-279.

(33) Gangbar S, Overall CM, McCulloch CA, Sodek J. Identification of polymorphonuclear leukocyte collagenase and gelatinase activities in mouthrinse samples: correlation with periodontal disease activity in adult and juvenile periodontitis. *J Periodont Res* 1990;25(5):257-267.

(34) Hernández M, Martínez B, Tejerina JM, Valenzuela MA, Gamonal J. MMP-13 and TIMP-1 determinations in progressive chronic periodontitis. *J Clin Periodontol* 2007;34(9):729-735.

(35) Kaufman E, Lamster IB. The diagnostic applications of saliva—a review. *Critical Reviews in oral biology & medicine* 2002;13(2):197-212.

(36) Kiili M, Cox S, Chen H, Wahlgren J, Maisi P, Eley B, 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(3):224-232.

(37) Uitto V, Suomalainen K, Sorsa T. Salivary collagenase. Origin, characteristics and relationship to periodontal health. *J Periodont Res* 1990;25(3):135-142.

(38) Ingman T, Sorsa T, Suomalainen K, Halinen S, Lindy O, Lauhio A, et al. Tetracycline inhibition and the cellular source of collagenase in gingival crevicular fluid in different periodontal diseases. A review article. *J Periodontol* 1993;64(2):82-88.

- (39) Hanemaaijer R, Sorsa T, Konttinen YT, Ding Y, Sutinen M, Visser H, et al. Matrix metalloproteinase-8 is expressed in rheumatoid synovial fibroblasts and endothelial cells. Regulation by tumor necrosis factor-alpha and doxycycline. *J Biol Chem* 1997 Dec 12;272(50):31504-31509.
- (40) Leppilahti J, Ahonen M, Hernández M, Munjal S, Netuschil L, Uitto V, et al. Oral rinse MMP-8 point-of-care immuno test identifies patients with strong periodontal inflammatory burden. *Oral Dis* 2011;17(1):115-122.
- (41) Leppilahti JM, Kallio MA, Tervahartiala T, Sorsa T, Mäntylä P. Gingival crevicular fluid matrix metalloproteinase-8 levels predict treatment outcome among smokers with chronic periodontitis. *J Periodontol* 2014;85(2):250-260.
- (42) Leppilahti JM, Hernández-Ríos PA, Gamonal JA, Tervahartiala T, Brignardello-Petersen R, Mantyla P, et al. Matrix metalloproteinases and myeloperoxidase in gingival crevicular fluid provide site-specific diagnostic value for chronic periodontitis. *J Clin Periodontol* 2014;41(4):348-356.
- (43) Mäntylä P, Stenman M, Kinane DF, Tikanoja S, Luoto H, Salo T, et al. Gingival crevicular fluid collagenase-2 (MMP-8) test stick for chair-side monitoring of periodontitis. *J Periodont Res* 2003;38(4):436-439.
- (44) Sorsa T, Mäntylä P, Rönkä H, Kallio P, KALLIS G, Lundqvist C, et al. Scientific basis of a matrix metalloproteinase-8 specific chair-side test for monitoring periodontal and peri-implant health and disease. *Ann N Y Acad Sci* 1999;878(1):130-140.
- (45) Sorsa T, Tervahartiala T, Leppilahti J, Hernandez M, Gamonal J, Tuomainen AM, et al. Collagenase-2 (MMP-8) as a point-of-care biomarker in periodontitis and cardiovascular diseases. Therapeutic response to non-antimicrobial properties of tetracyclines. *Pharmacological research* 2011;63(2):108-113.
- (46) Sorsa T, Hernández M, Leppilahti J, Munjal S, Netuschil L, Mäntylä P. Detection of gingival crevicular fluid MMP-8 levels with different laboratory and chair-side methods. *Oral Dis* 2010;16(1):39-45.
- (47) Sorsa T, Mäntylä P, Tervahartiala T, Pussinen PJ, Gamonal J, Hernandez M. MMP activation in diagnostics of periodontitis and systemic inflammation. *J Clin Periodontol* 2011;38(9):817-819.
- (48) Chen H, Cox S, Eley B, Mäntylä P, Rönkä H, Sorsa T. Matrix metalloproteinase-8 levels and elastase activities in gingival crevicular fluid from chronic adult periodontitis patients. *J Clin Periodontol* 2000;27(5):366-369.
- (49) Marcaccini AM, Meschiari CA, Zuardi LR, De Sousa TS, Taba M, Teofilo JM, et al. Gingival crevicular fluid levels of MMP-8, MMP-9, TIMP-2, and MPO decrease after periodontal therapy. *J Clin Periodontol* 2010;37(2):180-190.
- (50) Han B, Emingil G, Özdemir G, Tervahartiala T, Vural C, Atilla G, et al. Azithromycin as an adjunctive treatment of generalized severe chronic periodontitis:

clinical, microbiologic, and biochemical parameters. *J Periodontol* 2012;83(12):1480-1491.

(51) Golub L, Lee H, Greenwald R, Ryan M, Sorsa T, Salo T, et al. A matrix metalloproteinase inhibitor reduces bone-type collagen degradation fragments and specific collagenases in gingival crevicular fluid during adult periodontitis. *Inflammation Res* 1997;46(8):310-319.

(52) Golub L, Lee H, Ryan M, Giannobile W, Payne J, Sorsa T. Tetracyclines inhibit connective tissue breakdown by multiple non-antimicrobial mechanisms. *Adv Dent Res* 1998;12(1):12-26.

(53) Emingil G, Atilla G, Sorsa T, Luoto H, Kirilmaz L, Baylas H. The effect of adjunctive low-dose doxycycline therapy on clinical parameters and gingival crevicular fluid matrix metalloproteinase-8 levels in chronic periodontitis. *J Periodontol* 2004;75(1):106-115.

(54) Chou Y, Ho Y, Lin Y, Hu K, Yang Y, Ho K, et al. MMP-8-799 C> T genetic polymorphism is associated with the susceptibility to chronic and aggressive periodontitis in Taiwanese. *J Clin Periodontol* 2011;38(12):1078-1084.

(55) Holla LI, Hrdlickova B, Vokurka J, Fassmann A. Matrix metalloproteinase 8 (MMP8) gene polymorphisms in chronic periodontitis. *Arch Oral Biol* 2012;57(2):188-196.

(56) Ye S, Patodi N, Walker-Bone K, Reading I, Cooper C, Dennison E. Variation in the matrix metalloproteinase-3,-7,-12 and-13 genes is associated with functional status in rheumatoid arthritis. *International journal of immunogenetics* 2007;34(2):81-85.

(57) Schaefer A, Richter G, Nothnagel M, Laine M, Noack B, Glas J, et al. COX-2 is associated with periodontitis in Europeans. *J Dent Res* 2010;89(4):384-388.

(58) Sorsa T, Ingman T, Suomalainen K, Haapasalo M, Konttinen YT, Lindy O, et al. Identification of proteases from periodontopathogenic bacteria as activators of latent human neutrophil and fibroblast-type interstitial collagenases. *Infect Immun* 1992 Nov;60(11):4491-4495.

(59) Gursoy UK, Kononen E, Pussinen PJ, Tervahartiala T, Hyvarinen K, Suominen AL, et al. Use of host- and bacteria-derived salivary markers in detection of periodontitis: a cumulative approach. *Dis Markers* 2011;30(6):299-305.

(60) Miller CS, King CP, Jr, Langub MC, Kryscio RJ, Thomas MV. Salivary biomarkers of existing periodontal disease: a cross-sectional study. *J Am Dent Assoc* 2006 Mar;137(3):322-329.

(61) Rai B, Kharb S, Jain R, Anand SC. Biomarkers of periodontitis in oral fluids. *J Oral Sci* 2008;50(1):53-56.

- (62) Rathnayake N, Åkerman S, Klinge B, Lundegren N, Jansson H, Tryselius Y, et al. Salivary biomarkers of oral health—a cross-sectional study. *J Clin Periodontol* 2013;40(2):140-147.
- (63) Sexton WM, Lin Y, Kryscio RJ, Dawson DR, Ebersole JL, Miller CS. Salivary biomarkers of periodontal disease in response to treatment. *J Clin Periodontol* 2011;38(5):434-441.
- (64) Genco RJ, Borgnakke WS. Risk factors for periodontal disease. *Periodontol* 2000 2013;62(1):59-94.
- (65) Ding Y, Liede K, Leppä S, Ingman T, Sepper R, Konttinen YT, et al. Gingival Crevicular Fluid and Salivary Matrix Metalloproteinases of Heavy Smokers as Indicators of Periodontal Health a. *Ann N Y Acad Sci* 1994;732(1):453-455.
- (66) Heikkinen AM, Sorsa T, Pitkäniemi J, Tervahartiala T, Kari K, Broms U, et al. Smoking affects diagnostic salivary periodontal disease biomarker levels in adolescents. *J Periodontol* 2010;81(9):1299-1307.
- (67) Liede KE, Haukka JK, Hietanen JH, Mattila MH, Rönkö H, Sorsa T. The association between smoking cessation and periodontal status and salivary proteinase levels. *J Periodontol* 1999;70(11):1361-1368.
- (68) Nwhator S, Ayanbadejo P, Umeizudike K, Opeodu O, Agbelusi G, Olamijulo J, et al. Clinical Correlates of a Lateral-Flow Immunoassay Oral Risk Indicator. *J Periodontol* 2014;85(1):188-194.
- (69) Nwhator S, Opeodu O, Ayanbadejo P, Umeizudike K, Olamijulo J, Alade G, et al. Could periodontitis affect time to conception? *Annals of medical and health sciences research* 2014;4(5):817-822.
- (70) Nwhator S, Umeizudike K, Ayanbadejo P, Agbelusi G, Arowojolu M, Sorsa T, et al. Black Women's Predisposition to Preterm Birth; Could We Be Near The Answer. 2014.
- (71) Nwhator SO, Umeizudike KA, Ayanbadejo PO, Opeodu OI, Olamijulo JA, Sorsa T. Another reason for impeccable oral hygiene: oral hygiene-sperm count link. *J Contemp Dent Pract* 2014 May 1;15(3):352-358.