

Aus dem Institut für Medizinische Psychologie

Medizinische Einrichtungen der

Heinrich-Heine-Universität

Düsseldorf

Direktor: Prof. Dr. H.-J. Steingrüber

**Die Auswirkung von Examenstress auf den immunologischen  
Verlauf einer experimentellen Gingivitis**

Dissertation

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Zahnmedizin

Der Medizinischen Fakultät der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

vorgelegt von

**Lars-Michael Fuck**

2000

Als Inauguraldissertation gedruckt mit der Genehmigung der  
Medizinischen Fakultät der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

gez.: Prof. Dr. D. Häussinger

Dekan

Referent: Prof. Dr. H.-J. Steingrüber

Korreferent: Prof. Dr. A. Herforth

## Inhaltsverzeichnis

|   |    |
|---|----|
| 1. Einleitung   | 1  |
| 2. Methoden   | 12 |
| 2.1. Probanden und (quasi-) unabhängige Variable                    | 12 |
| 2.2. Vorbehandlung  | 14 |
| 2.3. Kontinuierliche Plaqueakkumulation versus perfekte Mundhygiene | 15 |
| 2.4. Abhängige Variablen und Untersuchungsablauf                    | 16 |
| 2.4.1. Speichelproben   | 17 |
| 2.4.2. Entnahme der Sulkusflüssigkeit                               | 17 |
| 2.4.3. Biochemische Analyse   | 19 |
| 2.4.3.1. Interleukin-1 $\beta$                                      | 19 |
| 2.4.3.2. Immunglobulin A  | 19 |
| 2.5. Statistische Datenanalyse                                      | 20 |
| 3. Ergebnisse   | 22 |
| 3.1. Interleukin-1 $\beta$  | 22 |
| 3.2. Immunglobulin A  | 23 |
| 4. Diskussion   | 24 |
| 5. Zusammenfassung  | 33 |
| 6. Literatur  | 35 |

## **1. Einleitung**

Die marginale Parodontitis gilt als Hauptursache für Zahnverluste im Erwachsenenalter. Als entzündliche Erkrankung des Zahnhalteapparates entsteht sie auf der Grundlage von Plaqueanlagerungen, einem Faktor, der als *conditio sine qua non* zu betrachten ist. Die Akkumulation von Plaque bedeutet jedoch nicht zwangsläufig die Entstehung einer Parodontitis; vielmehr reicht das klinische Bild bei vergleichbarer Plaquemenge von völliger Gesundheit über geringe Entzündungszeichen der Gingiva bis hin zu einer schweren Parodontitis mit massivem Knochenabbau (Griffiths et al., 1988; Seymour et al., 1991). Eine etablierte Läsion der Gingiva kann ohne weitere Konsequenzen jahrelang bestehen bleiben oder aber auch in eine Parodontitis übergehen. Es ist jedoch nicht geklärt, welche Faktoren den entscheidenden Zusammenbruch der tieferen knöchernen Parodontalgewebe auslösen, der schließlich zur fortgeschrittenen parodontalen Läsion mit Knochendestruktion, tiefen Taschen und Zahnlockerung führt (Renggli, 1990).

In den vergangenen Jahren wurde die Rolle von Stress als möglichem Risikofaktor bei Entstehung und Fortschreiten der marginalen Parodontitis vermehrt diskutiert; hierzu sind bislang neun Originalarbeiten international publiziert worden (Baker et al., 1961; Croucher et al., 1997; Freeman & Goss, 1993; Green et al., 1986; Linden et al., 1996; Locker & Leake, 1993; Marcenes & Sheiham, 1992; Monteiro da Silva et al., 1996; Moss et al.,

1996). Die Mehrheit dieser Studien konstatiert einen positiven Zusammenhang zwischen parodontalem Knochenabbau und Stressfaktoren wie beruflicher Belastung, kritischen Lebensereignissen sowie ehelichen und familiären Problemen. Zusammenfassend stützen diese Befunde die Stress-Parodontitis-Hypothese, ohne dass allerdings bislang geklärt wäre, auf welchem Wege Stress die parodontale Gesundheit beeinflusst. Hier sind mindestens drei Wege vorstellbar, auf denen Stress diesen Einfluss nehmen könnte (Deinzer & Herforth, 1997):

- Stressinduzierte Verhaltensänderungen, wie Veränderungen von Mundhygiene-, Ernährungsverhalten oder Nikotinkonsum
- Stressinduzierte physiologische Veränderungen, wie Veränderungen von Speichel- und Sulkusfluidflussrate sowie lokaler Durchblutung, Umgebungstemperatur und pH-Wert
- Stressinduzierte immunologische Veränderungen, wie Veränderungen der zellulären und humoralen Abwehr

Die vorliegende Arbeit befasst sich mit dem letztgenannten Weg und prüft, inwieweit die Immunparameter Interleukin-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) und Immunglobulin A (IgA) sich unter Stress und kontinuierlicher Plaqueakkumulation verändern.

Bei Gingivitis und Parodontitis handelt es sich um entzündliche Erkrankungen des Zahnhalteapparates. Werden die den Zähnen anhaftenden Bakterien der fakultativ pathogenen Standortflora der Mundhöhle nicht entfernt, so reifen sie im Verlauf von etwa sieben Tagen zunächst supragingival zu einer etablierten Plaque heran, die mit

zunehmender Anheftungsdauer zur Entstehung einer Gingivitis führt. Mit fortschreitender Entzündung lockert sich das gingivale Gewebe durch Bakterientoxine und entzündliche Prozesse auf, so dass ein Fortschreiten der Plaque auch in subgingivale Bereiche möglich wird. Bakterien und Immunreaktion sind dann auch in der Lage, die Resorption des Alveolarknochens zu bewirken; man spricht nun von einer Parodontitis.

Bei einer Entzündungsreaktion, wie z.B. der oben beschriebenen Reaktion parodontaler Strukturen auf mikrobielle Plaque, sind grundsätzlich folgende physiologische Vorgänge zu beobachten:

Nach Kontakt mit dem entzündlichen Reiz werden unter anderem Histamin und Serotonin von geschädigten Zellen freigesetzt und führen im lokalen Endstromgebiet zu einer Durchblutungsstörung, die letztlich in einer Verlangsamung des Blutstroms mit Wandständigkeit der im Blut befindlichen Leukozyten resultiert. Die Kapillarpermeabilität wird heraufgesetzt, und Flüssigkeit kann zur Toxinverdünnung in das betroffene Gewebe einströmen. Ebenfalls von Histamin beeinflusst, ermöglichen Zytokine als Mediatoren des Immunsystems, insbesondere Interleukin-1 (IL-1) und Tumornekrosefaktor  $\alpha$  (TNF $\alpha$ ), bereits nach wenigen Minuten durch die Ausbildung von Adhäsionsmolekülen (endothelial cell leukocyte adhesion Molecule-1 (ELAM-1) und intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1)) an Gefäßwand und im Interzellularraum, die Anheftung und Diapedese von Leukozyten aus dem Blut in das Gewebe, wo sie unter dem Einfluss von Interferonen reifen, durch Chemotaxis zum Herd der Entzündung gelangen und außerdem

größere Mengen von Interleukin-1 (Il-1), Tumornekrosefaktor  $\alpha$  (TNF $\alpha$ ) und Prostaglandin E<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>) bilden und freisetzen. Immunglobuline werden durch Zytokine ebenfalls zum Entzündungsherd geführt, wo sie biologische Antigene markieren und somit die Phagozytose unterstützen (Böcking, 1994).

Gingivitis und Parodontitis stellen eine Reaktion auf eine mikrobielle Plaque dar, die im Falle der Gingivitis dem Zahn primär supragingival anhaftet, bei der Parodontitis jedoch überwiegend subgingival lokalisiert ist. Zumindest für die Erstmanifestation der marginalen Parodontitis scheint die Gingivitis eine *Conditio sine qua non* darzustellen (s.o.). In der vorliegenden Arbeit wird eine Gingivitis durch das Unterlassen von Mundhygienemaßnahmen provoziert und der Einfluss von Stress auf den immunologischen Verlauf dieser Gingivitis untersucht. Dabei stehen zwei Immunparameter im Vordergrund: Interleukin-1 $\beta$  (Il-1 $\beta$ ) und Immunglobulin A (IgA). Diese scheinen bei der Ätiopathogenese der Parodontitis eine besondere Rolle zu spielen.

Interleukin-1 $\beta$  (Il-1 $\beta$ ) ist ein überaus potentes, multifunktionales Zytokin, das als zentraler Regulator inflammatorischer und immunologischer Prozesse angesehen wird. Es entfacht seine biologische Aktivität bereits in einem Konzentrationsbereich von  $10^{-12}$ M bis  $10^{-15}$ M, und beinahe jeder Zelltyp vermag Il-1 $\beta$  zu produzieren, aber auch auf Änderungen der Il-1 $\beta$ -Konzentration zu reagieren. Il-1 $\beta$  werden folgende parodontitisrelevanten Funktionen zugeschrieben (Alexander & Damoulis, 1994):

- Verhinderung von Knochenneufornation

- Verstärkung der Knochenresorption durch Osteoklastenaktivierung
- Stimulation der Prostaglandin-E<sub>2</sub>-Synthese; Prostaglandin-E<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>) trägt seinerseits zur Osteoklastenaktivierung bei
- Verstärkung der Leukozytenadhäsion an das Kapillarendothel

Das Interesse an Il-1 $\beta$  hinsichtlich seiner Rolle im Knochenmetabolismus ist gewachsen seitdem seine Übereinstimmung mit dem Osteoklasten-Aktivierenden-Faktor bekannt wurde (Dewhirst et al., 1985) und damit auch feststand, dass Il-1 $\beta$  der potenteste osteoklastenaktivierende Faktor des menschlichen Organismus ist (Stashenko et al., 1987). Der Nachweis von erhöhten lokalen Il-1 $\beta$ -Konzentrationen im Bereich einer Parodontitis gelang sowohl in parodontalen Gewebeproben erkrankter Patienten (Hönig et al., 1989; Stashenko et al., 1991) als auch in der Sulkusflüssigkeit betroffener Zähne (Lee et al., 1995; Preiss & Meyle, 1994; Wilton et al., 1993). Ebenso ließen sich erhöhte Konzentrationen von Il-1 $\beta$  in der Sulkusflüssigkeit an Stellen mit subgingivaler Präsenz der parodontopathogenen Keime *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis* und *Eikenella corrodens* beobachten (Reinhardt et al., 1993). Darüber hinaus konnte ein Absinken lokaler Il-1 $\beta$ -Spiegel nach erfolgter Parodontalbehandlung nachgewiesen werden (Masada et al., 1990). Der Nachweis einer positiven Korrelation zwischen lokaler Il-1 $\beta$ -Konzentration und zukünftigem Knochenabbau (Cavanaugh et al., 1998; Lee et al., 1995; Stashenko et al., 1991) spricht für einen direkten Zusammenhang zwischen Il-1 $\beta$  und dem knöchernen Attachmentverlust bei der marginalen Parodontitis. Das Scheitern protektiver Mechanismen bei der Abwehr

pathogener Keime löst eine Reaktion des Immunsystems mit aggressiven, destruktiven Parametern aus, die nicht mehr selektiv gegen bestimmte Keime gerichtet ist, sondern global auch Gewebestrukturen des Organismus zerstört, wobei die vorangegangenen Ausführungen verdeutlichen, dass bei IL-1 $\beta$  von einer solchen destruktiven Wirkung auf das Parodontium ausgegangen werden muss.

Immunglobulin A (IgA) liegt vornehmlich als sekretorischer Antikörper vor und bildet mit 80% den Hauptanteil der sezernierten Immunglobuline (Kugler, 1991). Seine Hauptfunktionen liegen in der Antigenbindung, Markierung und Zerstörung von eingedrungenen Mikroorganismen. In großen Mengen auf allen Schleimhäuten des menschlichen Körpers nachweisbar, dient es als erster Mechanismus der Immunabwehr gegen in den Organismus eingedrungene Keime. Außerdem scheint intraepithelial eine antimikrobielle Wirkung von IgA vorzuliegen (Lamm, 1998). IgA-Antikörper werden überwiegend von Plasmazellen in der Lamina propria der Schleimhäute produziert.

IgA in der Sulkusflüssigkeit korreliert negativ mit verschiedenen klinischen Parametern wie Attachmentverlust, Sondierungstiefe und Blutungsneigung nach Sondierung; nach erfolgter parodontaler Therapie konnte ein Rückgang der lokalen IgA-Konzentration verzeichnet werden (Grbic et al., 1995). Es gelangen sowohl der Nachweis spezifischer IgA-Antikörper gegen Leitkeime der Parodontitis (Ebersole et al., 1985; Engström et al., 1993; Nieminen et al., 1993; Ogawa et al., 1991) als auch IgA sezernierender Zellen in

entzündlichen Bereichen des Parodontiums (Ogawa et al., 1991). Diese Beobachtungen sprechen dafür, dass IgA in diesem Bereich eine Schutzfunktion zukommt.

Es liegen somit hinreichende Anhaltspunkte für eine direkte Beteiligung von  $IL-1\beta$  und IgA an parodontalen Erkrankungen vor. Auch deuten Studien auf eine modulierende Wirkung von Stress auf  $IL-1\beta$  und IgA hin. Diese erfolgt voraussichtlich insbesondere über die beiden wichtigsten Stressachsen des Organismus: Die Hypothalamus-Hypophysen-Nebennieren-Achse, deren Hormone Corticotropin-Releasing-Factor (CRF), Adrenocorticotrophes Hormon (ACTH) und Cortisol zahlreiche immunmodulierende Wirkungen haben sowie über die katecholaminerge Achse, also die Freisetzung von Adrenalin und Noradrenalin aus sympathischen Nervenendigungen und dem Nebennierenmark. Bedeutsam für diese Arbeit ist, dass Stress über verschiedene Neuropeptide, unter anderem CRF, die Interleukin-1 Freisetzung stimuliert, sofern ein entsprechender bakterieller Stimulus vorhanden ist, während über ACTH die Antikörperproduktion inhibiert wird (Breivik et al., 1996). Auch führt eine vermehrte Adrenalinfreisetzung zu einer Reduzierung der IgA-Konzentration (Cohen et al., 1991).

Spezifische Untersuchungen zu den Auswirkungen von Stress auf  $IL-1\beta$  führten zu folgenden Ergebnissen: Eine Steigerung der  $IL-1\beta$ -Freisetzung bzw. -Aktivität wurde nach Lipopolysaccharid (LPS) Stimulus sowohl in vitro aus isolierten Makrophagen des Respirationstraktes von zuvor gestressten

Ratten (Persoons et al., 1995) als auch in vivo systemisch bei Ratten unter längerfristiger (Mekaouche et al., 1994) sowie in Milzmakrophagen von Küken unter kurzfristiger Belastung beobachtet (Cunnick et al., 1994). Mit Lipopolysaccharid (LPS) stimulierte Monozyten von Studenten setzen in vitro zum Zeitpunkt eines wichtigen Examens mehr IL-1 $\beta$  frei als zu Messzeitpunkten 4 Wochen vor oder 10 Tage nach dem Examen (Dobbin et al., 1991), wohingegen die Pflege von Altersdemenzpatienten jedoch mit einer Reduzierung der LPS-induzierten monozytären IL-1 $\beta$ -Freisetzung in vitro einherzugehen scheint (Kiecolt-Glaser et al., 1996). Fallschirmsprungnovizen zeigten in Erwartung ihres ersten Sprunges einen Anstieg des IL-1 $\beta$ -Serumspiegels (Dugue et al., 1993). Ebenso wurden bei Patienten mit posttraumatischem Belastungssyndrom erhöhte Serumspiegel nachgewiesen (Spivak et al., 1997). Die Ergebnisse der Mehrzahl dieser Veröffentlichungen deuten also auf einen stressinduzierten Anstieg der IL-1 $\beta$ -Konzentration hin. Lediglich chronische Belastungen, wie die Pflege von Altersdemenzpatienten, scheinen zumindest bei älteren Personen (53-89 Jahre) mit einer gegenüber Gleichaltrigen reduzierten IL-1 $\beta$ -Freisetzung in vitro einherzugehen (Kiecolt-Glaser et al., 1996).

Im Zusammenhang mit akuten psychischen Belastungen konnte ein Anstieg von IgA im Speichel mehrfach nachgewiesen werden (Bristow et al., 1997; Carroll et al., 1996; Evans et al., 1994; Kugler et al., 1996; Zeier et al., 1996), wohingegen unter mittelfristigen Belastungen wie akademischen Prüfungen, aber auch unter Vorherrschen negativer Stimmung (Evans et al., 1993; Stone

et al., 1987, 1994) der Speichel-IgA Spiegel eher zu sinken scheint. Jemmott und Mitarbeiter (1983; 1988) beobachteten reduzierte Spiegel in Examensphasen im Vergleich zu relativ belastungsfreien Zeiträumen. Resultate aus Studien von Deinzer und Mitarbeitern weisen auf reduzierte IgA-Konzentrationen hin, insbesondere im Zeitraum nach mittelfristigen Belastungen (Deinzer & Schüller, 1998; Deinzer et al., 2000).

Bisherige Veröffentlichungen liefern also Hinweise darauf, dass sich die Konzentrationen der parodontitisrelevanten Immunparameter Interleukin-1 $\beta$  und Immunglobulin A unter mittelfristigem Stress in Richtung eines erhöhten Parodontitisrisikos verändern könnten. Zur endgültigen Beurteilung dieser Hypothese fehlen allerdings noch einige wichtige Daten. So ist unklar, ob die in vitro, systemisch und gastrointestinal nachgewiesenen stressinduzierten Veränderungen von Il-1 $\beta$  auch lokal im Parodontium zu beobachten sind. Die wichtigste parodontitisrelevante Wirkung von Il-1 $\beta$ , die Osteoklastenaktivierung nämlich, erfolgt nur in histologisch unmittelbarer Nähe zum Ort seiner Freisetzung. Solange also nicht nachgewiesen ist, dass Stress die parodontale Il-1 $\beta$ -Konzentration beeinflusst, kann auch kaum davon ausgegangen werden, dass der Stress-Parodontitis-Zusammenhang unter anderem über stressinduzierte Veränderung der Il-1 $\beta$ -Freisetzung mediiert wird.

Dieser Frage nachzugehen ist eine Aufgabe der vorliegenden Studie. Es wird geprüft, ob Stress eine Steigerung der parodontalen Interleukin-1 $\beta$ -

Konzentration bewirkt. Da erste Befunde vorliegen, nach denen eine kontinuierliche Plaqueakkumulation die lokale IL-1 $\beta$ -Aktivität steigert und Plaque zudem eine *Conditio sine qua non* der Parodontitis ist, wird außerdem geprüft, wie sich das Unterlassen der Mundhygiene unter Stressbedingungen auf den sulkulären IL-1 $\beta$ -Spiegel auswirkt. Weiterhin wird in dieser Studie geprüft, ob sich die von Deinzer & Schüller (1998) und Deinzer et al. (2000) erhobenen Befunde zu den Auswirkungen von Stress auf IgA auch unter kontrollierten Mundhygienebedingungen und bei Messungen am Nachmittag anstelle von morgens beobachten lassen. In bisherigen Studien war die Mundhygiene keiner experimentellen Kontrolle unterzogen worden. Außerdem erfolgten bei Deinzer & Schüller (1998) und Deinzer et al. (2000) die Messungen morgens, unmittelbar nach dem Aufwachen. Neueste Untersuchungen weisen aber genau zu diesem Messzeitpunkt einen zirkadianen Konzentrationspeak von Speichel-IgA nach (Hucklebridge et al., 1998), so dass zu prüfen wäre, ob sich eine stressinduzierte Reduzierung von Speichel-IgA auch dann nachweisen lässt, wenn die Konzentration aufgrund zirkadianer Rhythmen ohnehin verringert ist.

Aus den vorangestellten Erkenntnissen und Erwägungen lassen sich folgende Forschungshypothesen ableiten, die mit der vorliegenden Studie geprüft werden sollen:

1. Der Einfluss von Stress führt zu einem Anstieg der sulkulären IL-1 $\beta$ -Konzentration.

2. Stress bedingt einen Konzentrationsrückgang von Speichel-IgA auch unter kontrollierter Mundhygiene und bei nachmittäglicher Messung.

## **2. Methoden**

### **2.1. Probanden und (quasi-) unabhängige Variable**

Untersucht wurden n=13 Teilnehmer an der Ärztlichen Vorprüfung (Physikum) und n=13 Kontrollpersonen, ebenfalls Studierende der Humanmedizin an der Heinrich-Heine-Universität-Düsseldorf, die im Untersuchungszeitraum keiner Prüfungsbelastung ausgesetzt waren. Das durchschnittliche Alter betrug 23,7 Jahre (+/- 1,8 Jahre Standardabweichung). Um Risiken für die Probanden auszuschließen und eine Verzerrung der Ergebnisse durch Vorerkrankung oder besondere individuelle Bedingungen der Probanden zu vermeiden, wurden nur Probanden ausgewählt, auf die folgende Ausschlusskriterien nicht zutrafen:

- Erkrankungen des Immunsystems (HIV-Infektion, etc.)
- Diabetes mellitus
- Psychische Erkrankungen
- Drogenmissbrauch, Nikotinkonsum von mehr als 5 Zigaretten/Tag
- Schwangerschaft
- Einnahme folgender Medikamente:
  1. Antikonvulsiva, Kalziumantagonisten, Immunsuppressiva
  2. Antibiotika und Antiphlogistika im Zeitraum ab 6 Wochen vor dem Untersuchungszeitraum bis zum Untersuchungsende
- Laufende zahnärztliche oder kieferorthopädische Behandlung
- Unbehandelte Karies, defekte Füllungen, inadäquate Restaurationen

- Bestehende Parodontalerkrankung, Sondierungstiefen größer als 3 mm
- Blutung nach Sondierung am ersten Untersuchungstag

Von ursprünglich 37 freiwilligen Probanden mussten 11 aufgrund bestehender Erkrankungen oder regelmäßigen Nikotinkonsums ausgeschlossen werden (4 Raucher, 3 Parodontalerkrankungen, 1 laufende kieferorthopädische Behandlung, 1 Diabetes mellitus, 1 Neurodermitis mit Cortisongabe, 1 Thyreoditis Hashimoto).

Für die Durchführung der Untersuchung wurde den 4 weiblichen und 9 männlichen Physikumsteilnehmern ein gleichgeschlechtlicher Partner aus der Kontrollgruppe zugeordnet. Die so gebildeten Paare wurden im Verlauf der Studie jeweils an den gleichen Tagen zur gleichen Uhrzeit (+/- 30 Minuten) von der gleichen Person untersucht.

Mit dieser Vorgehensweise sollten Geschlechtsunterschiede, Untersuchereinflüsse und Ausgangswertdifferenzen aufgrund zirkadianer Rhythmen und anderer Zeiteinflüsse kontrolliert werden.

Die 26 Probanden erhielten eine finanzielle Aufwandsentschädigung unmittelbar nach Abschluss der Untersuchungen. Sie belief sich auf DM 400,- für die Probanden der Kontrollgruppe; die Probanden der Examensgruppe erhielten DM 500,- aufgrund der erheblichen zeitlichen Belastung im Rahmen ihrer Prüfungsvorbereitungen.

## 2.2. Vorbehandlung

Die Probanden wurden 4 bis 5 Wochen vor der letzten (mündlichen) Prüfung innerhalb der Ärztlichen Vorprüfung hinsichtlich ihres gingivalen und parodontalen Zustandes untersucht. Hierzu wurden an allen Zähnen die Sondierungstiefen an 6 Messpunkten pro Zahn, der Papillenblutungsindex (PBI; Saxer & Mühlemann, 1975, modifiziert nach Rateitschak et al., 1989) und der Plaqueindex (PI; Silness & Loe, 1964, modifiziert nach Rateitschak et al., 1989) erhoben. Die Indizes wurden jeweils vestibulär und oral an allen Zähnen erhoben. Des Weiteren wurde eine Kariesdiagnostik mittels zahnärztlicher Sonde und, soweit notwendig, Kaltlicht durchgeführt. Es handelte sich um eine Population von Probanden mit außerordentlich guter Mundhygiene, zu deren Optimierung einzelne, individuell abgestimmte Pflegehinweise in der Regel ausreichten. Falls dennoch erforderlich, erfolgte die Anleitung zur optimierten Mundhygiene durch Erläuterung der modifizierten Putztechnik nach Bass. Alle Probanden wurden nach entsprechender Demonstration zum Gebrauch von Zahnseide angehalten. Im Anschluss an die Erstuntersuchung wurde bei allen Probanden eine professionelle Zahnreinigung mit Entfernung sämtlicher supra- und subgingivaler Beläge mittels Handinstrumenten, Ultraschallgerät (Cavitron) und Politur durchgeführt. Die Probanden wurden schließlich aufgefordert, ihre Zähne fortan zweimal täglich entsprechend den Anweisungen zu putzen. Sie wurden ebenfalls darüber informiert, dass eine Teilnahme an der Studie

nur möglich sei, wenn zu Studienbeginn an allen Zähnen ein PBI von 0 vorläge. Bis zum Studienbeginn erfolgten dann wöchentliche Kontrollen von Mundhygiene und gingivaler Situation mittels oben beschriebener Indizes. Gegebenenfalls erfolgte eine erneute Zahnreinigung. Ziel dieser Vorbehandlung war ein vollständig plaquefreier Zustand, um an allen Zähnen eine entzündungsfreie gingivale Ausgangssituation (keine Blutung nach Sondierung) zu erhalten.

### **2.3. Kontinuierliche Plaqueakkumulation versus perfekte Mundhygiene**

Am achten Tag vor der letzten (mündlichen) Prüfung der Examenskandidaten wurden die Untersuchungspaare angewiesen, jegliche Mundhygiene in einer Mundhälfte ab den Eckzähnen bis einschließlich der letzten Molaren für die Dauer von 21 Tagen zu unterlassen und in diesem Zeitraum auch auf den Gebrauch von Mundspüllösungen zu verzichten. An den restlichen Zähnen sollte weiterhin optimale Mundhygiene praktiziert werden, nun jedoch mit einer standardisierten Natriumfluorid-Zahnpasta sowie einer mittelweichen Zahnbürste (Elmex, multi-effect, soft/medium) und Zahnseide. Sechs Untersuchungspaare wurden aufgefordert, die linke Mundhälfte, sieben, die rechte nicht zu reinigen; die Auswahl der Mundhälfte erfolgte für jedes Paar nach dem Zufallsprinzip.

Das Paradigma der sogenannten experimentellen Gingivitis findet seit seiner Einführung durch Loe et al., (1965) häufig Anwendung in der

zahnmedizinischen Forschung. Dabei variieren verschiedene Untersuchungen, insbesondere hinsichtlich der Dauer der Mundhygieneabstinenz, die zwischen 7 und 28 Tagen liegt (Heasman et al., 1993; Hillam & Hull, 1977; Johnson et al., 1997; Van der Velden, 1986) und den erfassten klinischen Entzündungszeichen; abhängig vom verwendeten klinischen Parameter werden Entzündungszeichen bereits nach dem ersten oder erst am siebten Tag der experimentellen Gingivitis beobachtet (Danielson, 1989; Hillam & Hull, 1977; Wiedemann et al., 1979). Im weiteren Verlauf der experimentellen Gingivitis steigen klinische Entzündungszeichen kontinuierlich bis zum Zeitpunkt der Wiederaufnahme der Mundhygiene an. Zumeist wird die Mundhygiene im gesamten Gebiss unterlassen, allerdings beschränken sich einige Autoren auf nur wenige Zähne (Bosman, 1977; van der Weijden, 1994). Der klinische Verlauf scheint durch diese Beschränkung jedoch nicht beeinflusst zu werden.

#### **2.4. Abhängige Variablen und Untersuchungsablauf**

Die Erfassung der abhängigen Variablen erfolgte am 1., 5., 8., 11., 14., 18. und 21. Tag der dreiwöchigen Phase partiell unterlassener Mundhygiene. Dabei entsprach der 8. Tag dem letzten Prüfungstag der Examenskandidaten.

Die Probanden wurden zunächst gebeten, eine Speichelprobe in ein Becherglas abzugeben. Sulkusflüssigkeit wurde anschließend mesio-bukkal

und disto-bukkal an den Zähnen 15 und 25 und mesio-bukkal und bukkal an den Zähnen 16 und 26 entnommen und quantitativ bestimmt. Hiernach wurden PI und PBI in stets gleicher Reihenfolge an den Zähnen 5-7 aller Quadranten (ggf. 4-7, bei Fehlen von 5) bukkal und oral erhoben.\*

Alle Untersuchungen fanden zwischen 16.00 und 21.00 Uhr statt.

#### 2.4.1. Speichelproben

Zur Bestimmung der Speichel-IgA-Konzentration sammelten die Probanden zu Beginn einer jeden Untersuchung ca. 3ml ihres Speichels in einem Becherglas. Eine Stimulation des Speichelflusses fand dabei nicht statt. Der gesammelte Speichel wurde in Eppendorfgefäße abgefüllt und bis zur weiteren Analyse bei -70°C aufbewahrt.

#### 2.4.2. Entnahme der Sulkusflüssigkeit

Die Sulkusflüssigkeit wurde mesio-bukkal und disto-bukkal an den Zähnen 15 und 25 und mesio-bukkal und bukkal an den Zähnen 16 und 26 mittels genormter Filterpapierstreifen (Periopaper<sup>®</sup>, Harco, New York) entnommen.

Die entsprechenden Zähne wurden zuvor durch Einlegen einer Watterolle in die Umschlagfalte isoliert und vor jeder einzelnen Entnahme mit einem leichten Luftstrahl senkrecht zur Zahnachse 5 Sekunden getrocknet. Dabei sollte vermieden werden, den Sulkus leerzublasen. Ein zuvor markiertes Periopaper<sup>®</sup> wurde exakt 1mm in den gingivalen Sulkus eingeführt. Die

---

\* Über diese Daten hat bereits Förster (2000) in einer separaten Arbeit berichtet.

Verweildauer wurde auf 25 Sekunden festgelegt, da in Voruntersuchungen bei kürzerer Verweildauer nur sehr geringe Volumina im unteren Kalibrierungsbereich des Periotron<sup>®</sup> gesammelt werden konnten, Zeiträume über 30 Sekunden dagegen eine Verdunstung befürchten lassen (Cimasoni, 1983). Die quantitative Bestimmung der aufgenommenen Flüssigkeitsmenge erfolgte mit Hilfe des Periotron<sup>®</sup> 8000 (Harco, New York), das zuvor mit Serum unter Zuhilfenahme einer Hamilton-Spritze (0-1 $\mu$ l) in 0,1 $\mu$ l-Schritten mit Standardvolumina von 0,1-0,9 $\mu$ l geeicht wurde. Die Kalibrierung wurde mit Humanserum entsprechend dem Herstellervorschlag und dem Vorgehen in anderen Studien (Cimasoni, 1983; Griffith et al., 1992; Rudin et al., 1970) vorgenommen. Jedes Volumen wurde fünf mal auf ein Periopaper<sup>®</sup> appliziert, die entsprechenden Periotron<sup>®</sup>-Werte notiert und eine Standardkurve auf Grundlage einer quadratischen Funktion berechnet. Das  $R^2$  der Standardkurve lag in allen Untersuchungen über  $R^2=0.99$ . An jedem Untersuchungstag erfolgte eine Überprüfung der Kalibrierung, indem die Messung für ein Standardvolumen erneut erfasst wurde. Wichen diese Werte um durchschnittlich mehr als 5 Periotron<sup>®</sup>-Einheiten (entsprechend ca. 0,025 $\mu$ l) von den ursprünglichen Daten ab, erfolgte eine weitere Messung eines anderen Volumens. Wichen auch diese Werte im Mittel um mehr als 5 Einheiten ab, wäre eine Neukalibrierung des Gerätes erfolgt. Dies war jedoch im gesamten Verlauf der Studie nicht erforderlich.

Im sofortigen Anschluss an die Messung wurde der weiße Teil des Periopaper abgeschnitten und mit den übrigen drei Streifen eines Quadranten und 50 $\mu$ l PBS-Puffer in einem Eppendorf-Gefäß gesammelt,

mittels CO<sub>2</sub>-Schnee tiefgefroren und bis zur weiteren Analyse bei -70°C aufbewahrt.

### 2.4.3. Biochemische Analyse

Speichel- und Sulcus-Fluid-Proben einer Person wurden jeweils mit ein und demselben Analysekit untersucht. Die Personen, welche die biochemischen Analysen vornahmen, waren über die Versuchsbedingungen nicht informiert.

#### 2.4.3.1. Interleukin-1 $\beta$

Die in 50 $\mu$ l PBS-Puffer aufbewahrten Periopaper Streifen wurden zum Zeitpunkt der Analyse mit weiteren 100 $\mu$ l PBS-Puffer/Probe verdünnt. Die Proben wurden 5 Minuten bei 3000 U/min zentrifugiert (Beckmann, Mikrofuge 12). Die Interleukin-1 $\beta$ -Konzentration in der Sulkusflüssigkeit wurde mit einem kommerziellen ELISA-Kit (Endogen Inc., Cambridge, USA) bestimmt.

Die Farbintensität der ELISA Reaktionen wurde mit einem Mikrotitrationsplate-reader (SLT, Spectra, Tecan, Österreich) bestimmt. Der Variationskoeffizient dieser Methode liegt bei weniger als 10%. Zur quantitativen Bestimmung der Il-1 $\beta$ -Konzentration in der Sulkusflüssigkeit wurde die gemessene Konzentration mit dem Quotienten aus zugefügtem PBS-Puffer (150 $\mu$ l) und im Periopaper gesammelten Volumen multipliziert.

#### 2.4.3.2. Immunglobulin A

Die Konzentration von IgA im Speichel wurde mit einem Behring Nephelometer Analyzer (Marburg, Deutschland) ermittelt. Hierzu wurden die

Proben aufgetaut und für zehn Minuten bei 6000 U/min zentrifugiert. Zur IgA-Bestimmung wurde spezifisches menschliches anti-IgA-Serum (Behring, Marburg, Deutschland) eingesetzt. Die Zuverlässigkeit dieser Nephelometrietechnik für wiederholte Analysen liegt bei  $r=0.98$ ; Unveröffentlichte Daten des analysierenden Labors (Institut für Hygiene der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf) zeigen, dass diese Ergebnisse mit denen der radialen Immunodiffusionstechnik für die spezifische Bestimmung von sekretorischem IgA (Binding Site, Heidelberg, Deutschland) zu  $r=0.85$  korrelieren.

## 2.5. Statistische Datenanalyse

Zur Überprüfung der Normalverteilung der Variablen wurde der Kolmogorov-Smirnov Goodness of Fit Test angewandt. Die empirischen Verteilungen unterschieden sich nicht signifikant von den angenommenen Normalverteilungen ( $\alpha > 0.20$ ).

Für jede Variable wurden solche Messwerte von der Analyse ausgeschlossen, die mehr als 2 Standardabweichungen vom Mittelwert der jeweiligen Gruppe abwichen. Dieses Prozedere ist in Studien mit kleiner Probandenzahl sinnvoll, um einer Verzerrung der Daten durch Ausreißer vorzubeugen.

Ebenso wurden die Daten dreier Probanden, die die Untersuchungsbedingungen nicht eingehalten und an einem der

Untersuchungstage auch in den Quadranten mit Plaqueakkumulation Mundhygiene betrieben hatten, von der weiteren Analyse ausgeschlossen.

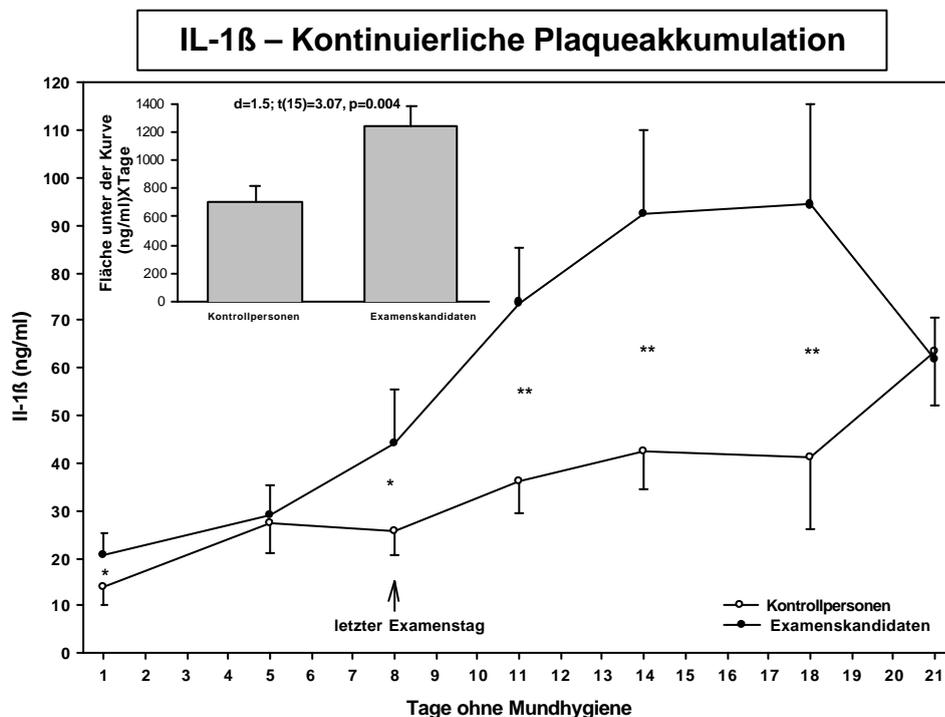
Es wurden höhere, lokale  $IL-1\beta$ -Konzentrationen in der Gruppe der Examenskandidaten im Vergleich zu der Kontrollgruppe sowohl in den Quadranten mit perfekter als auch in Quadranten mit unterlassener Mundhygiene erwartet, ebenso wie reduzierte Konzentrationen von  $sIgA$  in der Examensgruppe.

Um diese Hypothesen zu prüfen, wurden für alle Variablen die Flächen unter der Kurve (Area under Curve (AUC)) bestimmt und Mittelwertvergleiche mit einseitigen t-Tests für unabhängige Stichproben durchgeführt. Als Maß für die Größe des statistischen Effekts wurde das Effektstärkemaß  $d$  (vgl. Bortz & Döring, 1995) verwendet, das auch angegeben wird, um die Effektstärke exploratorischer Mittelwertvergleiche zu den einzelnen Messzeitpunkten zu dokumentieren. Dabei kann  $d = 0.20$  als geringe,  $d = 0.50$  als mittlere und  $d = 0.80$  als hohe Effektstärke interpretiert werden (Cohen, 1992).

### 3. Ergebnisse

#### 3.1. Interleukin-1 $\beta$

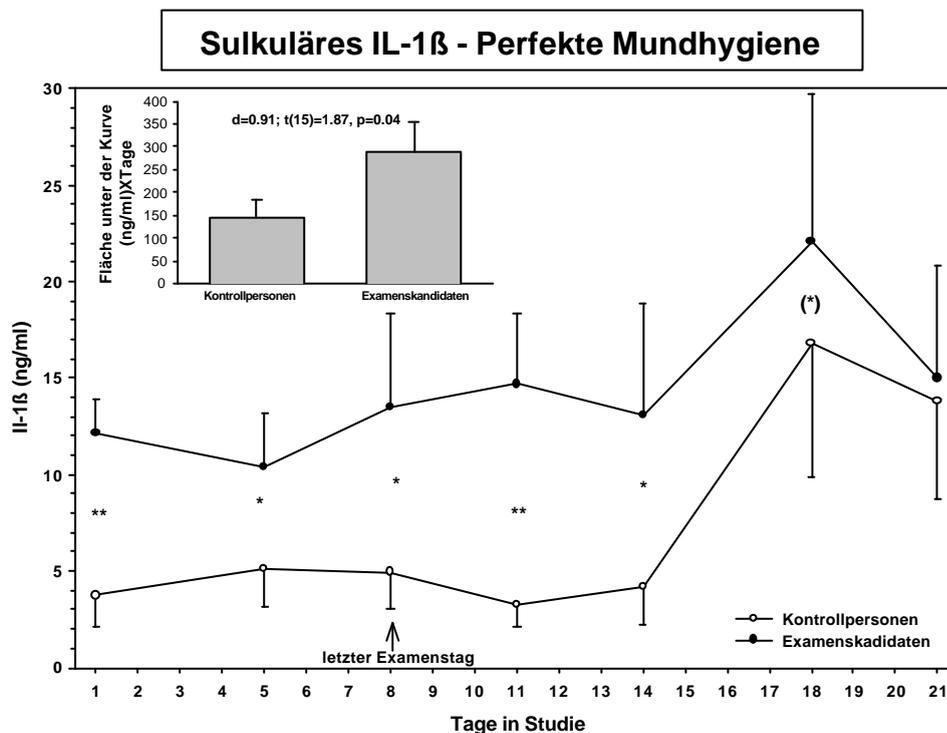
Examens- und Kontrollgruppe unterschieden sich signifikant hinsichtlich der IL-1 $\beta$ -Konzentrationen in den gingivalen Sulci. In der Examensgruppe war die Sekretion von IL-1 $\beta$  beinahe doppelt so hoch wie in der Kontrollgruppe und zwar sowohl auf den Seiten mit kontinuierlicher Plaqueakkumulation (Abbildung 1; Kontrollen (AUC):  $697.61 \pm 111.30$  (ng/ml) $\times$ Tage; Examensgruppe (AUC):  $1240.64 \pm 140.07$  (ng/ml) $\times$ Tage;  $t(15)=3.07$ ;  $p=0.004$ ;  $d=1.49$ ) als auch auf den Seiten mit perfekter Mundhygiene (Abbildung 2; Kontrollgruppe (AUC):  $143.98 \pm 42.71$  (ng/ml) $\times$ Tage; Examensgruppe (AUC):  $290.42 \pm 63.19$  (ng/ml) $\times$ Tage;  $t(15)=1.87$ ;  $p=0.04$ ;  $d=0.91$ ).



**Abbildung 1:** Sulkuläres Interleukin-1 $\beta$  unter Bedingung kontinuierlicher Plaqueakkumulation.

Mittelwerte und Standardfehler des Mittelwerts zu den einzelnen Meßzeitpunkten und Fläche unter der Kurve. Effektstärken exploratorischer Mittelwertvergleiche: (\*) $d$  0.20; \* $d$  0.50; \*\* $d$  0.80

Flächen mit kontinuierlicher Plaqueakkumulation wiesen in der Examensgruppe vom letzten Tag des Exams an bis zum 10. Tag danach höhere IL-1 $\beta$ -Konzentrationen auf als entsprechende Flächen in der Kontrollgruppe. Nach 21 Tagen vernachlässigter Mundhygiene, 13 Tage nach Ende des Exams, verschwanden die Unterschiede zwischen Examens- und Kontrollgruppe. Der stärkste statistische Effekt wurde mit  $d=1.31$  für den 14. Untersuchungstag ermittelt; hohe Effektstärken mit  $d = 0.8$  außerdem für die Tage 11 und 18.



**Abbildung 2:** Sulkuläres Interleukin-1 $\beta$  unter Bedingung perfekter Mundhygiene.

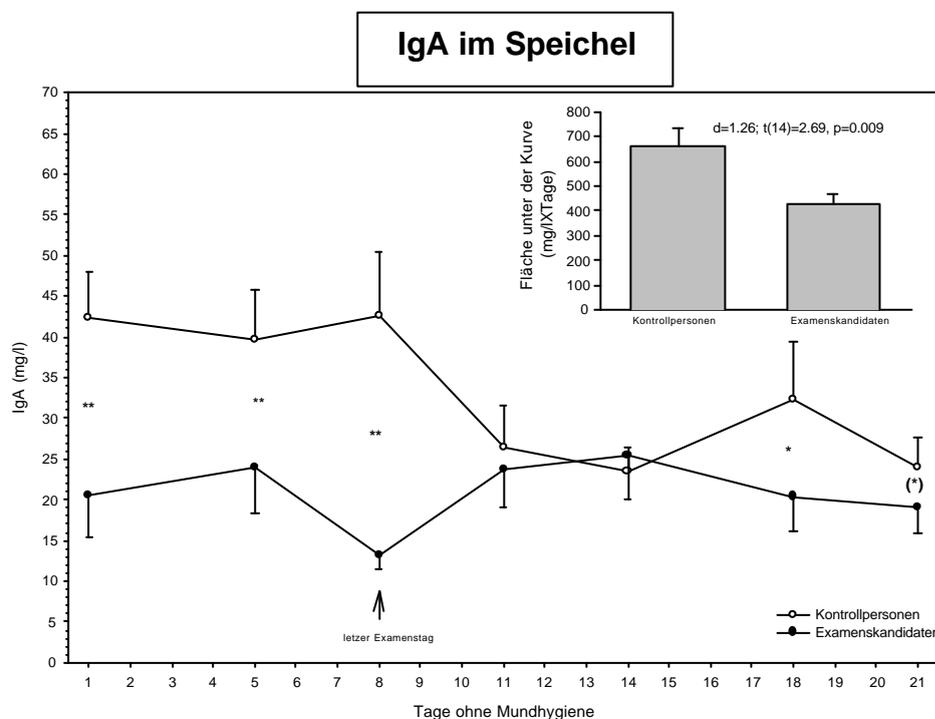
Mittelwerte und Standardfehler des Mittelwerts zu den einzelnen Messzeitpunkten und Fläche unter der Kurve. Effektstärken exploratorischer Mittelwertvergleiche: (\*) $d = 0.20$ ; \* $d = 0.50$ ; \*\* $d = 0.80$

Auf den Seiten mit perfekter Mundhygiene konnten Gruppenunterschiede bis zu einer Woche nach dem Examen beobachtet werden. Der höchste Wert

des Effektstärkemaßes wurde mit  $d=1.65$  für den 1. Tag der Studie ermittelt, ein hoher Wert mit  $d>0.8$  außerdem für Tag 11. Danach stiegen die  $Il-1\beta$ -Konzentrationen in der Kontrollgruppe an, und Gruppenunterschiede waren nicht länger zu erkennen.

### 3.2. Immunglobulin A

Die Konzentration des im Speichel befindlichen Immunglobulin A war in der Examensgruppe um etwa ein Drittel geringer als in der Kontrollgruppe (Abbildung 3; Kontrollgruppe (AUC):  $661.31\pm 74.56$  (mg/l)×Tage; Examensgruppe (AUC):  $433.41\pm 52.85$ ;  $t(14)=2.69$ ;  $p=0.009$ ;  $d=1.26$ ).



**Abbildung 3:** Speichel-Immunglobulin A im Speichel bei perfekter Mundhygiene in zwei Quadranten und kontinuierlicher Plaqueakkumulation den anderen Quadranten  
Mittelwerte und Standardfehler des Mittelwerts zu den einzelnen Meßzeitpunkten und Fläche unter der Kurve. Effektstärken exploratorischer Mittelwertvergleiche: (\*) $d$  0.20; \* $d$  0.50; \*\* $d$  0.80

Unterschiede zwischen den Gruppen waren bereits 7 Tage vor der letzten Prüfung zu verzeichnen, wobei der Unterschied am letzten Prüfungstag am deutlichsten ausgeprägt war. Nach dem letzten Prüfungstag ( $d=1.82$ ) erfolgte in der Kontrollgruppe ein Abfall der Konzentration, der am 6. Tag nach dem Examen ( $d=0.16$ ) unter die Konzentration in der Examensgruppe reichte. Am 21. Tag der experimentellen Gingivitis ( $d=0.49$ ), 13 Tage nach der letzten Prüfung, liegen die Konzentrationswerte der Examensgruppe weiterhin auf dem Niveau, das bereits zu Beginn der Studie vorlag; der Gruppenunterschied liegt hier nur noch im Bereich von 5mg/l. Hohe Effektstärken mit  $d>0.8$  wurden an den Tagen 1 und 5 erreicht.

## **4. Diskussion**

Mit der vorliegenden Arbeit wurde die Wirkung von Examensstress auf Interleukin-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) in der Sulkusflüssigkeit und Immunglobulin A (IgA) im Speichel unter kontrollierten Mundhygienebedingungen untersucht.

Wirkungen von Examensstress auf verschiedene physiologische, endokrine und immunologische Parameter sind vielfach beschrieben worden (Deinzer & Schüller, 1998; Glaser et al., 1990 und 1991; Jemmott et. al., 1988). Mit der vorliegenden Arbeit soll nun geprüft werden, inwieweit psychische Belastungen insbesondere die Parameter beeinflussen, denen eine Bedeutung für Entstehung und Verlauf einer marginalen Parodontitis zugesprochen wird. Da sich eine Parodontitis jedoch oftmals über einen Zeitraum von mehreren Jahren entwickelt, ist das Studium ihrer Ursachen im prospektiven Versuchsdesign schwierig, wenn nicht sogar unmöglich. Um dieses Problem zu umgehen, wurde die Wirkung von Stress nicht auf die Parodontitis selbst, sondern auf parodontitisrelevante Immunparameter unter der Bedingung kontinuierlicher Plaqueakkumulation untersucht. Durch dieses Vorgehen wird eine Gingivitis experimentell herbeigeführt, die sich von einer Parodontitis letztlich nur durch das Ausmaß der resultierenden Läsion unterscheidet, die im Falle der Gingivitis nur die Gingiva, im Falle einer Parodontitis jedoch den gesamten Zahnhalteapparat, insbesondere das knöcherne Attachment umfasst (Herforth, 1997). Auf dieser Basis beruht die Annahme, dass die aus der Studie resultierenden Daten, obwohl nur am Beispiel einer Gingivitis untersucht, auch für den Verlauf einer Parodontitis

aussagekräftig sein könnten. Folgende Beobachtungen stützen diese Vermutung: Bakterienspezies der Standortflora werden insbesondere in Abhängigkeit vom individuellen Mundhygieneverhalten, aber auch durch Faktoren wie Speichel- und Sulkusfluidfluss in der Besiedelung oraler Oberflächen gehemmt (Ebersole & Taubmann, 1994). Gelingt ihnen dennoch die Kolonisation, können sich ihre pathogenen Eigenschaften auf den Wirt auswirken. Die Reaktion des Organismus auf die akkumulierte mikrobielle Plaque beinhaltet dabei immer die Freisetzung verschiedener lokaler Immunparameter. Dabei bedingen dieselben immunologischen Vorgänge, die bereits zur etablierten Läsion der Gingiva geführt haben, auch den Zusammenbruch der knöchernen Strukturen und somit den Übergang in eine Parodontitis (Renggli, 1990).

Mit der vorliegenden Arbeit sollte nun die Hypothese geprüft werden, dass psychische Belastungen die oben beschriebene Immunantwort beeinflussen und im Speziellen eine Veränderung der Immunparameter Interleukin-1 $\beta$  (Il-1 $\beta$ ) und Immunglobulin A (IgA) in Richtung eines erhöhten Parodontitisrisikos bedingen. Als psychische Belastung wurde hier Examensstress operationalisiert, der sich gut im prospektiven Design untersuchen lässt und außerdem eine hohe ökologische Validität aufweist.

Tatsächlich zeigten Examenskandidaten im Vergleich zu Probanden der Kontrollgruppe Veränderungen in die erwartete Richtung:

Hinsichtlich Il-1 $\beta$  ergaben sich signifikant erhöhte Konzentrationen in der Sulkusflüssigkeit sowohl unter perfekter Mundhygiene als auch bei

kontinuierlicher Plaqueakkumulation. Für IgA im Speichel ergaben sich signifikant niedrigere Konzentrationen in der Examensgruppe. Damit können die Forschungshypothesen dieser Untersuchung angenommen werden.

Ausgehend von der stimulierenden Wirkung von Il-1 $\beta$  auf Knochenresorptionsvorgänge und der oben dargelegten Zusammenhänge zwischen Il-1 $\beta$  und parodontalen Erkrankungen, könnten die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit darauf hindeuten, dass Stress unter anderem über eine Steigerung der lokalen Il-1 $\beta$ -Freisetzung das Risiko für parodontalen Attachmentverlust steigert.

Für Il-1 $\beta$  zeigen Vergleiche der Examensgruppe mit der Kontrollgruppe sowohl in Quadranten mit perfekter Mundhygiene als auch in Quadranten mit kontinuierlicher Plaqueakkumulation hohe bis sehr hohe Werte der Effektstärken der Mittelwertunterschiede für die jeweilige Fläche unter der Kurve mit  $d=0.91$  (Quadranten mit Hygiene) und  $d=1.49$  (Quadranten ohne Hygiene). Die höchsten Konzentrationen von Il-1 $\beta$  wurden am 13. Untersuchungstag in Bereichen mit kontinuierlicher Plaqueakkumulation bei den Examenskandidaten registriert; so betrug die Effektstärke des Mittelwertunterschieds zwischen Examens- und Kontrollgruppe zu diesem Zeitpunkt  $d=1.53$ . Vergleicht man innerhalb der Gruppen Quadranten mit kontinuierlicher Plaqueakkumulation gegenüber Quadranten mit perfekter Mundhygiene ergeben sich am 13. Tag Effektstärken von  $d=3.28$  in der Examensgruppe und von  $d=1.57$  in der Kontrollgruppe. Diese Resultate sprechen für einen synergistischen Effekt von Plaque auf die ohnehin unter

Stress gesteigerte Il-1 $\beta$ -Freisetzung. Dies erscheint hier mehrfach bedeutsam; erstens deuten Untersuchungen darauf hin, dass psychische Belastung eine Vernachlässigung der Mundhygiene bedingen (Deinzer et al., im Druck ; Kurer et al., 1995) und somit bereits über diesen Faktor zu einer Steigerung der sulkulären Il-1 $\beta$ -Freisetzung beitragen können. Zweitens macht die fehlende Pflegemöglichkeit unzugänglicher Zahnfleischtaschen bei Patienten nach erfolgter Parodontaltherapie eine professionelle Zahnreinigung in regelmäßigen Intervallen notwendig, um eine Akkumulation subgingivaler Plaque zu vermeiden. Diese Patienten wären einem größeren Risiko für ein erneutes Aufflammen der Entzündung an bereits behandelten Parodontien ausgesetzt, wenn zusätzlich zur unvermeidbaren, subgingivalen Plaqueansammlung nunmehr Stress als zweiter Faktor die lokale Il-1 $\beta$ -Konzentration steigern würde.

Im Sulkus vorgefundenes Il-1 $\beta$  hätte jedoch, wenn es primär gingivalen Epithelzellen entstammen würde nur geringen biologischen Zugriff auf den Alveolarknochen und bedingte somit auch nicht dessen Resorption, da sich die osteoklastenaktivierenden Eigenschaften von Il-1 $\beta$  nur in histologisch unmittelbarer Nähe zum Ort seiner Freisetzung auswirken. Gerade in diesem Zusammenhang aber weisen einige Untersuchungen einen nahezu ausschließlichen Ursprung von Il-1 $\beta$  aus polymorphkernigen Leukozyten und die Gingiva infiltrierenden Makrophagen nach (Matsuki et al., 1992; Matsuki et al., 1993; Takahashi et al., 1995; Tokoro et al., 1996). Wenn nun Makrophagen durch eine entzündungsbedingte Gewebeauflockerung in

größere Nähe zum Alveolarknochen gelangen, könnte das auf diesem Wege freigesetzte IL-1 $\beta$  zu einer Beschleunigung der parodontalen Gewebedestruktion beitragen. In diesem Zusammenhang erscheint ein stressinduzierter Fortschritt parodontalen Knochenabbaus durch eine gesteigerte lokale Freisetzung von IL-1 $\beta$  zumindest dann möglich, wenn eine gingivitisbedingte Gewebsauflockerung die Makrophagenimmigration in die Nähe Alveolarknochen möglich machte und eine stressbedingte Steigerung der IL-1 $\beta$ -Konzentration somit direkte Auswirkung auf den Alveolarknochen nehmen könnte.

Die vorliegende Arbeit ist nicht die erste, die einen plaqueinduzierten Anstieg der sulkulären IL-1-Konzentration nachweist. Auch andere Autoren haben Veränderungen sulkulären Interleukin-1 (IL-1) unter kontinuierlicher Plaqueakkumulation untersucht (Kinane et al., 1992; Johnson et al., 1997; Heasman et al., 1993) und beobachteten ebenfalls einen Anstieg der Konzentration; die zeitlichen Verläufe allerdings unterscheiden sich teilweise von dem hier beobachteten, was womöglich unter anderem auf methodische Unterschiede der einzelnen Studien zurückzuführen ist. So untersuchten Kinane et al. (1992) die Bioaktivität von IL-1 und nicht etwa die absolute Konzentration des in der vorliegenden Studie analysierten IL-1 $\beta$ . Auch entfernten die Autoren jeweils die supragingivale Plaque vor der Sulcus-Fluid Entnahme, so dass es nicht möglich war, die Effekte einer kontinuierlichen Plaqueakkumulation über die Zeit zu erfassen. Unter dieser methodischen Gegebenheit erreicht IL-1 ein Maximum nach 7 Tagen und sinkt dann zum 14.

und 21. Tag wieder ab. Johnson et al. (1997) verwendeten einen Plaque-Guard zur Verhinderung sämtlicher Hygienemaßnahmen und wuschen die gingivalen Sulci vor Entnahme der Sulcus-Fluid-Proben aus. Sie ermittelten Konzentrationen, die über den gesamten Untersuchungszeitraum stetig anstiegen. Heasman et al. (1993) verzichteten, wie auch die vorangehend genannten Autoren, auf eine Kontrollgruppe und den Vergleich zwischen Seiten mit praktizierter und vernachlässigter Mundhygiene. Ihre wöchentlichen Untersuchungen zeigten eine signifikante Erhöhung der Il-1 $\beta$ -Konzentration am 7. Tag; die Ergebnisse zu den weiteren Messzeitpunkten nach 2, 3 und 4 Wochen blieben auf dem gleichen Niveau. Schlussfolgernd erscheint es erstrebenswert, in künftigen Studien ein standardisiertes Untersuchungsverfahren zu etablieren, um Aussagen über die zeitlichen Verläufe der Konzentrationsveränderungen von Il-1 $\beta$  zu präzisieren.

Für sIgA lagen die Werte in der Examensgruppe vom Zeitpunkt der ersten Messung bis zur Wiederaufnahme der Mundhygiene unter denen der Kontrollgruppe. Das Niveau der reduzierten Konzentrationen in der Examensgruppe blieb mit Ausnahme eines Wertes nahezu konstant; auch hier zeigte die Effektstärke für die Fläche unter der Kurve mit  $d=1.26$  einen hohen Wert. Diese Reduktion eines übergeordneten, protektiven Mechanismus der mukosalen Immunabwehr könnte Entstehung, Fortschreiten sowie erneutes Aufflammen einer Parodontitis begünstigen.

Eine stressbedingte Reduktion der IgA-Konzentration in morgens entnommenen Speichelproben konnte bereits nachgewiesen werden (Deinzer & Schüller, 1998; Deinzer et al., 2000). Unklar war bisher, ob ähnliche Beobachtungen auch für nachmittags entnommene Proben gemacht werden können, wenn die IgA-Konzentration aufgrund zirkadianer Rhythmen der Antikörperproduktion bereits reduziert ist (Hucklebridge et al., 1998). Jedoch zeigen die Ergebnisse dieser Studie, dass eine Reduktion der IgA-Konzentration bei Proben, die am Nachmittag entnommen wurden, immer noch messbar ist. Zusammenfassend sprechen die Daten von Deinzer et al. (1998 und 2000) und die jetzige Arbeit für eine kontinuierliche Reduktion von IgA sowohl während erhöhter psychischer Belastung als auch in der Post-Stress-Phase, was für eine hohe klinische Relevanz dieses Parameters im Hinblick auf die Parodontitis spricht.

Zukünftige Untersuchungen sollten prüfen, ob Stress über die mögliche Reduktion der Abwehrleistung der Mukosa hinaus auch einen hemmenden Einfluss auf zirkulierendes IgA hat, das im Gegensatz zu IgG und IgM eine antiinflammatorische Wirkung aufweist (Russell et al., 1997) und somit als Schutzmechanismus gegen übermäßige Gewebeschäden durch eine Entzündungsreaktion zu verstehen ist. Eine über Speichel-IgA hinausgehende stressinduzierte Reduktion der systemischen IgA-Konzentration könnte sich möglicherweise auch auf die IgA-Konzentration im Sulcus gingivalis auswirken und somit ein nochmals erhöhtes Risiko für Induktion und Fortschreiten einer Parodontitis bedeuten.

Mit Interleukin-1 $\beta$  und Immunglobulin A wurden in dieser Studie nur zwei – wenn auch bedeutsame – Parameter eines komplexen Systems erfasst. Es werden noch zahlreiche andere Immunparameter in Zusammenhang mit parodontalen Prozessen gebracht, wie Interleukin-1-Rezeptorantagonist (Il-1ra), Prostaglandin E<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>), Tumornekrosefaktor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), Immunglobulin G (IgG) sowie Interleukin-4 (Il-4), Interleukin-6 (Il-6) und Interleukin-10 (Il-10) (Alexander & Damoulis, 1994; Dinarello & Thompson, 1991; Heasman et al., 1993; Ishihara et al., 1997; Johnson et al., 1997; Kabashima et al., 1996; Offenbacher et al., 1993; Page; 1991; Tsai et al., 1998). Alle genannten Immunparameter regulieren immunologische Reaktionen, die Einfluss auf Parodontopathien nehmen könnten. Zukünftige Studien zur Stress-Parodontitis-Beziehung sollten sich auch diesen Parametern zuwenden, um die komplexen Interaktionen protektiver und destruktiver Immunmediatoren vor dem Hintergrund einer Stress-Parodontitis-Hypothese genauer verstehen zu können.

Schlussfolgernd stützt diese Arbeit die Hypothese, dass Stress Entstehung und Verlauf einer marginalen Parodontitis beeinflussen könnte, unter anderem durch die nachteilige Auswirkung stressinduzierter immunologischer Veränderungen auf die Integrität des Parodontiums.

## **5. Zusammenfassung**

In einer wachsenden Zahl von Publikationen werden mögliche Auswirkungen psychischer Belastungen auf die parodontale Gesundheit diskutiert. Insbesondere stressinduzierte immunologische Veränderungen könnten das Parodontitisrisiko verändern. Die vorliegende Arbeit untersucht die Auswirkungen von Examensstress auf die Konzentrationen von Interleukin-1 $\beta$  (Il-1 $\beta$ ) in der Sulkusflüssigkeit und Immunglobulin A (IgA) im Speichel unter der Bedingung einer kontinuierlichen Plaqueakkumulation. Il-1 $\beta$  gilt als zentraler Regulator inflammatorischer und immunologischer Prozesse und wird aufgrund seiner destruktiven Auswirkungen auf den Knochenmetabolismus in Zusammenhang mit Knochenresorption und daraus resultierendem parodontalen Attachmentverlust gebracht. Im Gegensatz hierzu wird IgA eine protektive Funktion gegen die Besiedelung mukosaler Oberflächen mit pathogenen Keimen zugesprochen.

13 Studierende der Humanmedizin, die im Untersuchungszeitraum ihre Physikumsprüfung absolvierten und 13 Studierende der Humanmedizin ohne wichtige Prüfungen im Untersuchungszeitraum erklärten sich bereit, an den Untersuchungen teilzunehmen. In einem Split-Mouth-Design unterließen die Probanden jegliche Hygienemaßnahmen in zwei antagonistischen Quadranten für 21 Tage, während sie in den übrigen Quadranten eine perfekte Mundhygiene aufrecht erhielten. Sulkusflüssigkeits- und Speichelproben zur immunologischen Untersuchung wurden an den Tagen 1, 5, 8, 11, 14, 18 und 21 der kontinuierlichen Plaqueakkumulation

entnommen. Die Probanden in der Examensgruppe zeigten gegenüber der Kontrollgruppe signifikant erhöhte IL-1 $\beta$ -Konzentrationen im Sulcus gingivalis und signifikant niedrigere IgA-Konzentrationen im Speichel. Die höchsten absoluten IL-1 $\beta$ -Konzentrationen wurden bei den Examenskandidaten in den Quadranten mit Plaqueakkumulation beobachtet. Diese Ergebnisse deuten darauf hin, dass Stress das Risiko für parodontalen Attachmentverlust, insbesondere unter der Bedingung einer vernachlässigten Mundhygiene, erhöht. Ein Zusammenhang zwischen Stress und der Entstehung oder dem Verlauf einer marginalen Parodontitis könnte somit durch eine Wechselwirkung von Stress mit parodontitisrelevanten Immunparametern bedingt sein.

## **6. Literatur**

1. Alexander, M-B. & Damoulis, P.D. (1994). The Role of Cytokines in the Pathogenesis of Periodontal Disease. *Current Opinion in Periodontology* 39-53.
2. Baker, E.G., Crook, G.H. & Schwabacher, E.D. (1961). Personality Correlates of Periodontal Disease. *Journal of Dental Research*, 40, 396-403.
3. Böcking, A. (1994). *Pathologie für Zahnmediziner Band 1: Scriptum der Allgemeinen Pathologie für Zahnmediziner (3. Auflage)*. Aachen; Verlag der Augustinus Buchhandlung.
4. Bortz, J. & Döring, N. (1995). *Forschungsmethoden und Evaluation für Sozialwissenschaftler (2. Aufl.)*. Berlin; Heidelberg; Springer Verlag.
5. Bosman, C.W. & Powell, R.N. (1977). The Reversal of Localized Experimental Gingivitis. A Comparison between Mechanical Toothbrushing Procedures and a 0.2% Chlorhexidine Mouthrinse. *Journal of Clinical Periodontology*, 4, 161-172

6. Breivik, T., Thrane, P.S., Murison, R. & Gjermo, P. (1996). Emotional Stress Effects on Immunity, Gingivitis and Periodontitis. *European Journal of Oral Sciences*, 104, 327-334.
7. Bristow, M., Hucklebridge, F.H., Clow, A. & Evans, P.D. (1997). Modulation of Secretory Immunoglobulin A in Saliva in Relation to an Acute Episode of Stress and Arousal. *Journal of Psychophysiology*, 11, 248-255.
8. Carroll, D., Ring, C., Shrimpton, J., Evans, P., Willemsen, G. & Hucklebridge, F. (1996). Secretory Immunoglobulin A and Cardiovascular Responses to Acute Psychological Challenge. *International Journal of Behavioral Medicine*, 3, 266-279.
9. Cavanaugh, P.F. Jr., Meredith, M.P., Buchanan, W., Doyle, M.J., Reddy, M.S. & Jeffcoat, M.K. (1998). Coordinate Production of PGE2 and IL-1 beta in the Gingival Crevicular Fluid of Adults with Periodontitis: its Relationship to Alveolar Bone Loss and Disruption by Twice Daily Treatment with Ketorolac Tromethanine Oral Rinse. *Journal of Periodontal Research*, 33, 75-82.
10. Cohen, J. (1992). A Power Primer. *Psychological Bulletin* 112, 155-159.

11. Cohen, S. & Williamson, G.M. (1991). Stress and Infectious Disease in Humans. *Psychological Bulletin*, 109, 5-24.
12. Cimasoni, G. (1983). Crevicular Fluid Updated. *Monographs in Oral Science*, 12, 1-152.
13. Croucher, R., Marcenes, W.S., Torres M.C.M.B., Hughes, W.S. & Sheiham, A. (1997). The Relationship Between Life-Events and Periodontitis. A Case-Control Study. *Journal of Clinical Periodontology*, 24, 39-43.
14. Cunnick, J.E., Kojic, L.D. & Hughes, R.A. (1994). Stress-Induced Changes in Immune Function are Associated with Increased Production of an Interleukin-1-like Factor in Young Domestic Fowl. *Brain, Behavior and Immunity*, 8, 123-136.
15. Danielson, B., Manji, F., Nagelkerke, N., Fejerskov, O. & Baelum, V. (1989). Transition Dynamics in Experimental Gingivitis in Humans. *Journal of Periodontal Research*, 24, 254-260.
16. Deinzer, R., Herforth, A. (1997). Stress und Parodontitis – Ein kritischer Forschungsüberblick. In Mandl, H. (Hrsg.): Bericht über den 40. Kongress der deutschen Gesellschaft für Psychologie, 1997. Göttingen; Hogrefe.
17. Deinzer, R. & Schüller, N. (1998). Dynamics of Stress-Related Decrease of Salivary Immunoglobulin A (sIgA): Relationship to Symptoms of the Common Cold and Studying Behavior. *Behavioral Medicine*, 23, 161-169.

- 
18. Deinzer, R., Kleineidam, C., Stiller-Winkler, R., Idel, H. & Bachg, D. (2000). Prolonged Reduction of Salivary Immunoglobulin A (sIgA) after a Major Academic Exam. *International Journal of Psychophysiology*, 37, 219-232.
19. Deinzer, R., Hilpert, D., Bach K., Schawacht M. & Herforth A (Im Druck). Effects of Academic Stress on Oral Hygiene - A Potential Link between Stress and Plaque Associated Disease? *Journal of Clinical Periodontology*.
20. Dewhirst, F.E., Stashenko, P.P., Mole, J.E. & Tsurumachi, T. (1985). Purification and Partial Sequence of Human Osteoclast- Activating Factor: Identity with Interleukin 1 $\beta$ . *Journal of Immunology*, 135, 2562-2568.
21. Dinarello, C.A. & Thompson, R.C. (1991). Blocking Il-1 $\beta$ : Interleukin 1 Receptor Antagonist in Vivo and in Vitro. *Immunology Today*, 12, 404-410.

- 
22. Dobbin, J.P., Harth, M., McCain, G.A., Martin, R.A., & Cousin, K. (1991). Cytokine Production and Lymphocyte Transformation During Stress. *Brain, Behavior and Immunity*, 5, 339-348.
23. Dugue, B., Leppänen E. A., Teppo, A.M., Fyhrquist, F. & Gräsbeck, R. (1993). Effects of Psychological Stress on Plasma Interleukin-1 beta and 6, C-Reactive Protein, Tumour Necrosis Factor alpha, Anti-Diuretic Hormone and Serum Cortisol. *Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation*, 53, 555-561.
24. Ebersole, J.L., Taubman, M.A. & Smith, D.J. (1985). Local antibody responses in periodontal diseases. *Journal of Periodontology*, 56, 51-5.
25. Ebersole, J.L. & Taubman, M.A. (1994). The Protective Nature of Host Responses in Periodontal Diseases. *Periodontology 2000*, 5, 112-141.
26. Engström, P.-E., Larsson, A., Norhagen, E.G., Smith, C.I.E., Sällberg, M., Helgeland, K. & Hammarström, L. (1993). Specificity and Levels of Oral and Systemic Antibodies to *Actinobacillus Actinomycetemcomitans*. *Journal of Clinical Periodontology*, 20, 746-751.

- 
27. Evans, P., Bristow, M., Hucklebridge, F., Clow, A. & Walters, N. (1993). The Relationship between Secretory Immunity, Mood and Life-Events. *British Journal of Clinical Psychology*, 32, 227-236.
28. Evans, P., Bristow, M., Hucklebridge, F., Clow, A. & Pang, F.-Y. (1994). Stress, Arousal, Cortisol and Secretory Immunoglobulin A in Students Undergoing Assessment. *British Journal of Clinical Psychology*, 33, 575-576.
29. Förster, P.J.G. (2000). Auswirkungen von Examensstress auf den klinischen Verlauf einer experimentellen Gingivitis. Dissertation, Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf.
30. Freeman, R. & Goss, S. (1993). Stress Measures as Predictors of Periodontal Disease – A Preliminary Communication. *Community Dentistry and Oral Epidemiology*, 21, 176-177.
31. Glaser, R., Kennedy, S., Lafuse, W.P., Bonneau, B.H., Speicher, C., Hillhouse, J. & Kiecolt-Glaser, J.K. (1990). Psychological Stress-Induced Modulation of Interleukin 2 Receptor Gene Expression and Interleukin 2 Production in Peripheral Blood Leukocytes. *Archives of General Psychiatry*, 7, 707-712.

- 
32. Glaser, R., Pearson, G.R., Jones, J.F., Hillhouse, J., Kennedy, S., Mao, H.Y. & Kiecolt-Glaser, J.K. (1991). Stress Related Activation of Epstein-Barr Virus. *Brain, Behavior and Immunity*, 5, 219-232.
33. Grbic, J.T., Singer, R.E., Jans, H.H., Celenti, R.S. & Lamster, I.B. (1995). Immunoglobulin Isotypes in Gingival Crevicular Fluid: Possible Protective Role of IgA. *Journal of Periodontology*, 66, 55-61.
34. Green, L.W., Tryon, W.W., Marks, B. & Huryn, J. (1986). Periodontal Disease as a Function of Life Events Stress. *Journal of Human Stress*, 12, 32-36.
35. Griffith, G.S., Wilton, J.M.A., Curtis, M.A., Maiden, M.F.J., Gillett, I.R., Wilson, D.T., Sterne, J.A.C., Johnson, N.W. (1988). Detection of High-Risk Groups and Individuals for Periodontal Diseases. *Clinical Assessment of the Periodontium. Journal of Clinical Periodontology*, 15, 403-410.
36. Griffiths, G.S., Wilton, J.M.A. & Curtis, M.A. (1992). Contamination of Human Gingival Crevicular Fluid and Gingival Inflammation. *Journal of Periodontology*, 50, 13-19.

- 
37. Heasman, P.A., Collins, J.G. & Offenbacher, S. (1993). Changes in Crevicular Fluid Levels of Interleukin-1 $\beta$ , Leukotriene B<sub>4</sub>, Prostaglandin E<sub>2</sub>, Thromboxane B<sub>2</sub> and Tumor Necrosis Factor  $\alpha$  in Experimental Gingivitis in Humans. *Journal of Periodontal Research*, 28, 241-247.
38. Herforth, A. (1997). *Parodontologie für die zahnmedizinische Fachhelferin*. Berlin; Chicago; London; São Paulo; Tokio; Moskau; Prag; Warschau; Quintessenz Verlag GmbH.
39. Hillam, D.G. & Hull, P.S. (1977). The Influence of Experimental Gingivitis on Plaque Formation. *Journal of Clinical Periodontology*, 4, 56-61.
40. Hönig, J., Rordorf-Adam, C., Siegmund, C., Wiedemann, W. & Erard, F. (1989). Increased Interleukin-1 beta (Il-1 $\beta$ ) Concentration in Gingival Tissue from Periodontitis Patients. *Journal of Periodontal Research*, 24, 362-367.
41. Hucklebridge, F., Clow, A. & Evans, P. (1998). The Relationship between Salivary Secretory Immunoglobulin A and Cortisol: Neuroendocrine Response to Awakening and the Diurnal Cycle. *International Journal of Psychophysiology*, 31, 69-76.

- 
42. Ishihara, Y., Nishihara, T., Kuroyanagi, T., Shirozu, N., Yamagishi, E., Ohguchi, M., Koide, M., Ueda, N., Amano, K. & Noguchi, T. (1997). Gingival Crevicular Interleukin-1 and Interleukin-1 Receptor Antagonist Levels in Periodontally Healthy and Diseased Sites. *Journal of Periodontal Research*, 32, 524-529.
43. Jemmott, J.B.I., Borysenko, M., Chapman, R., Borysenko, J.Z., McClelland, D.C., Meyer, D. & Benson, H. (1983). Academic Stress, Power, Motivation and Decrease in Secretion Rate of Salivary Secretory Immunoglobulin A. *The Lancet*, June, 1400-1402.
44. Jemmott, J.B. & Magloire, K. (1988). Academic Stress, Social Support and Secretory Immunoglobulin A. *Journal of Personality and Social Psychology*, 55, 803-810.
45. Johnson, T.C., Reinhardt, R.A., Payne, J.B., Dyer, J.K. & Patil, K.D. (1997). Experimental Gingivitis in Periodontitis-susceptible Subjects. *Journal of Clinical Periodontology*, 24, 618-625.
46. Kabashima, H., Nagata, K., Hashiguchi, I., Toriya, Y., Iijima, T., Maki, K. & Maeda, K. (1996). Interleukin-1 Receptor Antagonist and Interleukin-4 in Gingival Crevicular Fluid of Patients with Inflammatory Periodontal Disease. *Journal of Oral Pathology and Medicine*, 25, 449-455.

- 
47. Kiecolt-Glaser, J.K., Glaser, R., Gravenstein, S., Malarkey, W.B. & Sheridan, J. (1996). Chronic Stress Alters the Immune Response to Influenza Vaccine in Older Adults. *Proceeding of the National Academy of Sciences*, 93, 3043-3047.
48. Kinane, D.F., Winstanley, F.P., Adonogianaki, E. & Moughal, N.A. (1992). Bioassay of Interleukin 1 (Il-1) in Human Gingival Crevicular Fluid During Experimental Gingivitis. *Archives of Oral Biology*, 37.2, 153-156.
49. Kugler, J. (1991). Emotionale Befindlichkeit und Immunglobulin A im Speichel – Eine Literaturübersicht. *Psychotherapie, Psychosomatik, Medizinische Psychologie*, 41, 232-242.
50. Kugler, J., Reintjes, F., Tewes, V. & Schedlowski, M. (1996). Competition Stress in Soccer Coaches Increases Salivary Immunoglobulin A and Salivary Cortisol Concentrations. *Journal of Sports Medicine and Physical Fitness*, 36, 117-120.
51. Kurer, J.R.B., Watts, T.L.P., Weinmann, J. & Gower, D.B. (1995). Psychological Mood of Regular Dental Attenders in Relation to Oral Hygiene Behavior and Gingival Health. *Journal of Clinical Periodontology*, 22, 52-55.

- 
52. Lamm, M.E. (1998). Current Concepts in Mucosal Immunity IV. How Epithelial Transport of IgA Antibodies Relates to Host Defense. *American Journal of Physiology*, 274, G614-G617.
53. Lee, H.-J., Kang, I.-K., Chung, C.-P. & Choi, S.-M. (1995). The Subgingival Microflora and Gingival Crevicular Fluid Cytokines in Refractory Periodontitis. *Journal of Clinical Periodontology*, 22, 885-890.
54. Linden, G.J., Mullally, B.H. & Freeman, R. (1996). Stress and the Progression of Periodontal Disease. *Journal of Clinical Periodontology*, 23, 675-680.
55. Locker, D. & Leake, J.L. (1993). Risk Indicators and Risk Markers for Periodontal Disease Experience in Older Adults Living Independently in Ontario, Canada. *Journal of Dental Research*, 72, 9-17.
56. Löe, H.E., Theilade, E. & Jensen, S.B. (1965). Experimental Gingivitis in Man. *Journal of Periodontal Research*, 36, 177.
57. Marcenes, S.W. & Sheiham, A. (1992). The Relationship Between Work Stress and Oral Health Status. *Social Sciences and Medicine*, 35, 1511-1520.

- 
58. Masada, M.P., Persson, R., Kenney, J.S., Lee, S.W., Page, R.C. & Allison, A.C. (1990). Measurement of Interleukin-1 $\alpha$  and -1 $\beta$  in Gingival Crevicular Fluid: Implications for the Pathogenesis of Periodontal Disease. *Journal of Periodontal Research*, 25, 156-163.
59. Matsuki, Y., Yamamoto, T. & Hara, K. (1992). Detection of Inflammatory Cytokine Messenger RNA (mRNA)-Expressing Cells in Human Inflamed Gingiva by Combined in situ Hybridization and Immunohistochemistry. *Immunology*, 76, 42-47.
60. Matsuki, Y., Yamamoto, T. & Hara, K. (1993). Localization of Interleukin-1 (IL-1) mRNA-expressing macrophages in human inflamed gingiva and IL-1 activity in gingival crevicular fluid. *Journal of Periodontal Research*, 28, 35-42.
61. Mekaouche, M., Givalois, L., Barbandel, G., Siaud, P., Maurel, D., Malaval, F., Bristow, A.F., Boissin, J., Assenmacher, I. & Ixart, G. (1994). Chronic Restraint Enhances Interleukin-1- $\beta$  Release in the Basal State and after Endotoxin Challenge, Independently of Adrenocorticotropin and Corticosterone Release. *Neuroimmunomodulation*, 1, 292-299.

- 
62. Monteiro da Silva, A.M., Oakley, D.A., Newman, H.N., Nohl, F.S. & Nohl, H.M. (1996). Psychological Factors and Adult and Rapidly Progressive Periodontitis. *Journal of Clinical Periodontology*, 23, 789-794.
63. Moss, M.E., Beck, J.D., Kaplan, B.H., Offenbacher, S., Weintraub, J.A., Koch, G.G., Genco, R.J., Machtei, E.E. & Tedesco, L.A. (1996). Exploratory Case-Control Analysis of Psychological Factors and Adult Periodontitis. *Journal of Periodontology*, 67, 1060-1069.
64. Nieminen, A., Kari, K. & Saxén, L. (1993). Specific Antibodies Against *Actinobacillus Actinomycetemcomitans* in Serum and Saliva of Patients with Advanced Periodontitis. *Scandinavian Journal of Dental Research*, 101, 196-201.
65. Offenbacher, S., Heasman, P.A. & Collins, J.G. (1993). Modulation of Host PGE<sub>2</sub> Secretion as a Determinant of Periodontal Disease Expression. *Journal of Periodontology*, 64, 432-444.
66. Ogawa, T., Kono, Y., McGhee, M.L., McGhee, J.R., Roberts, J.E., Hamada, S. & Kiyono, H. (1991). *Porphyromonas Gingivalis*-Specific IgG and IgA Antibodies Originate from Immunoglobulin-Secreting Cells in Inflamed Gingiva. *Clinical and Experimental Immunology*, 83, 237-244

67. Page, R. (1991). The Role of Inflammatory Mediators in the Pathogenesis of Periodontal Disease. *Journal of Periodontal Research*, 26, 230-242.
68. Persoons, J.H.A., Schornagel, K., Breve, J., Berkenbosch, F. & Kraal, G. (1995). Acute Stress Affects Cytokines and Nitric Oxide Production by Alveolar Macrophages Differently. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 152, 619-624.
69. Preiss, D.S. & Meyle, J. (1994). Interleukin-1 $\beta$  Concentration of Gingival Crevicular Fluid. *Journal of Periodontology*, 65, 423-428.
70. Rateitschak, K.H., Rateitschak, E.M., Wolf, H.F. & Hassell, T.M. (1989). *Parodontologie*. Stuttgart; New York; Thieme.
71. Reinhardt, R.A, Masada, M.P., Kaldahl, W.B., DuBois, L.M., Kornman, K.S., Choi, J., Kalkwarf, K.L. & Allison, A.C. (1993). Gingival Fluid Il-1 and Il-6 Levels in Refractory Periodontitis. *Journal of Clinical Periodontology*, 20, 225-231.
72. Renggli, H.R. (1990). Äthiologie marginaler Parodontopathien. In Ketterl, W. (Hrsg.): *Praxis der Zahnheilkunde 4 – Parodontologie* (2. Auflage), München; Wien; Baltimore; Urban & Schwarzenberg, 33-64.

- 
73. Rudin, H.J., Overdiek, H.F. & Rateitschak, K.H. (1970). Correlation between Sulcus Fluid Rate and Clinical and Histological Inflammation of the Marginal Gingiva. *Helvetica Odontologica Acta* 14, 21-26.
74. Russell, M.W., Sibley, D.A., Nikolova, E.B., Tomana, M. & Mestecky, J. (1997). IgA Antibody As a Non-Inflammatory Regulator of Immunity. *Biochemical Society Transactions*, 25, 466-470.
75. Saxer, U.P. & Mühlemann, H.R. (1975). Motivation und Aufklärung. *Schweizer Monatsschrift für Zahnmedizin*, 85, 905-919.
76. Seymour, G.J. (1991). Importance of the Host Response in the Periodontium. *Journal of Clinical Periodontology* 18, 421-426.
77. Silness, J. & Loe, H. (1964). Periodontal Disease in Pregnancy. *Acta Odontologica Scandinavica* 22, 121-135.
78. Spivak, B., Shohat, B., Mester, R., Avraham, S., Gil-Ad, I., Bleich, A., Valevski, A. & Weizman, A. (1997). Elevated Levels of Serum Interleukin-1 $\beta$  in Combat-Related Posttraumatic Stress Disorder. *Biological Psychiatry*, 42, 345-348.

- 
79. Stashenko, P., Dewhirst, F.E., Peros, W.J., Kent, R.L. & Ago, J.M. (1987). Synergistic Interactions between Interleukin 1, Tumor Necrosis Factor, and Lymphotoxin in Bone Resorption. *Journal of Immunology*, 138, 1464-1468.
80. Stashenko, P., Fujiyoshi, P., Obernesser, M.S., Probst, L., Haffajee, A.D. & Socransky, S.S. (1991). Levels of Interleukin 1 $\beta$  in Tissue from Sites of Active Periodontal Disease. *Journal of Clinical Periodontology*, 18, 548-554.
81. Stone, A.A., Cox, D.S., Valdimarsdottir, H., Jandorf, L. & Neale, J.M. (1987). Evidence that Secretory IgA Antibody is Associated with Daily Mood. *Journal of Personality and Social Psychology*, 52, 988-993.
82. Stone, A.A., Neale, J.M., Cox, D.S., Napoli, A., Valdimarsdottir, H. & Kennedy-Moore, E. (1994). Daily Events are Associated with a Secretory Immune Response to an Oral Antigen in Men. *Health Psychology*, 13, 440-446.
83. Takahashi, K., Poole, I. & Kinane, D.F. (1995). Detection of Interleukin-1 $\beta$  mRNA-Expressing Cells in Human Crevicular Fluid by In Situ Hybridization. *Archives of Oral Biology*, 10, 941-947.

- 
84. Tokoro, Y., Yamamoto, T. & Hara, K. (1996). IL-1 $\beta$  mRNA as the Predominant Inflammatory Cytokine Transcript: Correlation with Inflammatory Cell Infiltration into Human Gingiva. *Journal of Oral Pathology and Medicine*, 25, 225-231.
85. Tsai, C.C., Hong, Y.C., Chen, C.C. & Wu, Y.M. (1998). Measurement of Prostaglandin E2 and Leukotriene B4 in the Gingival Crevicular Fluid. *Journal of Dentistry*, 26, 97-103.
86. Van der Velden, U. & Abbas, F. (1986). Probing Considerations in Relation to Susceptibility to Periodontal Breakdown. *Journal of Clinical Periodontology*, 13, 894-899.
87. Van der Weijden, G.A., Timmermann, M.F., Danser, M.M., Nijboer A., Saxton, C.A. & Van der Velden, U. (1994). The Effect of Pre-experimental Maintenance Care Duration on the Development of Gingivitis in a Partial Mouth Experimental Gingivitis Model. *Journal of Periodontal Research*, 29, 168-173.
88. Wiedemann, W., Lahrsow, J. & Naujoks, R. (1979). Über den Einfluss der parodontalen Resistenz auf die experimentelle Gingivitis. *Deutsche Zahnärztliche Zeitung*, 34, 6-9.

- 
89. Wilton, J.M., Bampton, J.L., Hurst, T.J., Caves, J. & Powell, J.R. (1993). Interleukin-1 beta and IgG Subclass Concentrations in Gingival Crevicular Fluid from Patients with Adult Periodontitis. *Archives of Oral Biology*, 38(1), 55-60.
90. Zeier, H., Brauchli, P. & Joller-Jemelka, H. I. (1996). Effects of Work Demands on Immunoglobulin A and Cortisol in Air Traffic Controllers. *Biological Psychology*, 42, 412-423.

---

## Curriculum Vitae

Name: Lars-Michael Fuck  
Geburtsdatum: 15.12.1971  
Geburtsort: Duisburg  
Familienstand: ledig  
Wohnung: Heinrich-Albrod Strasse 76  
47249 Duisburg

### Schulbildung

1978 - 1982                      Grundschule in Duisburg  
1982 - 1991                      Mercator-Gymnasium in Duisburg  
1991                                Abitur

### Hochschulausbildung

1991 – 1997                      Studium der Zahnheilkunde an der Heinrich-Heine-  
Universität Düsseldorf  
Okt. 1997                        Staatsexamen an der Heinrich-Heine-Universität  
Düsseldorf

### Beruflicher Werdegang

Mai 1998 – Jan. 2000            Weiterbildungsassistent in der kieferorthopädischen  
Gemeinschaftspraxis Dres. R. Sommer und J. Cousin in  
Viersen  
seit Jan. 2000                    Wissenschaftlicher Mitarbeiter der Poliklinik für  
Kieferorthopädie und Orthodontie des Zentrums für  
Zahnmedizin der Charité in Berlin

Duisburg, 27. 12. 2000

