

Int Poster J Dent Oral Med 2012, Vol 14 No 3, Poster 612

IL-1 Gencluster und das Auftreten von *A. actinomycetemcomitans* bei aggressiver Parodontitis

Sprache: Deutsch

Autoren:

Dr. Susanne Schulz, Prof. Dr. Hans-Günter Schaller, Dr. Stefan Reichert,
 Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg, Poliklinik für Zahnerhaltungskunde und Parodontologie, Halle
 PD Dr. Jamal M. Stein,
 RWTH Aachen, Klinik für Zahnerhaltung, Parodontologie und Präventive Zahnheilkunde, Aachen
 Dr. Christiane Gläser,
 Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg, Institut für Humangenetik und Medizinische Biologie, Halle

Datum/Veranstaltung/Ort:

15.09.-17.09.2011

Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Parodontologie
 Baden-Baden, Deutschland

Einleitung

IL-1a und 1b, sowie der IL-1 Rezeptor (IL-1R) und der Rezeptorantagonist (IL1-RA) sind wichtige Faktoren im Rahmen der wirtsspezifischen Immunantwort auf Parodontopathogene.

Funktionell bedeutsame genetische Varianten in Genen des IL-1 Genclusters wurden identifiziert und deren Rolle im Rahmen der Pathogenese der Parodontitis beschrieben. Die Ergebnisse sind jedoch widersprüchlich.

Als entscheidender Auslöser entzündlicher Parodontitiden wird die subgingivale Besiedlung mit parodontopathogenen Keimen angesehen. Im Rahmen der Pathogenese der Erkrankung spielt die wirtsspezifische Immunantwort eine zentrale Rolle. Diese wird u.a. durch eine genetische Prädisposition beeinflusst.

Gene des IL-1 Genclusters beeinflussen eine Vielzahl von verschiedenen Zellen (natural killer cells, Makrophagen, TH-Zellen, B-Zellen), deren Bedeutung bei der Manifestation und Progression von entzündlichen Parodontitiden ausführlich beschrieben wurde.

Funktionell wichtige Polymorphismen (SNP) wurden für IL-1a (rs1800587), IL-1b (rs16944, rs1143634), IL-1R (rs2234650), IL-1RA (rs315952) identifiziert.

Kommann et al. (1997) postulierte einen parodontitisassoziierten "composite genotype" der sich aus den seltenen Genotypen der SNPs rs1800587 (IL-1a) und rs1143634 (IL-1b) zusammensetzt.

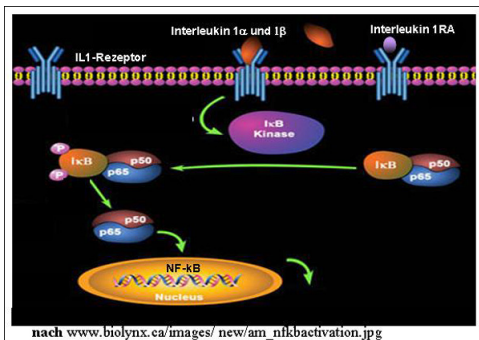


Abb. 1: Signaltransduktionsweg vermittelt durch Gene des IL-1 Clusters (IL-1a, IL-1b, IL-1R, IL-1RA)

Problemstellung

Das Ziel dieser Studie bestand darin die Bedeutung von SNPs an den o.a. Genorten für das Auftreten von Parodontitiden und subgingivale Keimbildung nach Adjustierung für etablierte parodontale Kofaktoren zu bestimmen.

Material und Methoden

Einschlusskriterien der Patienten

Generalisierte aggressive Parodontitis (AP, n=86):

Erkrankungsbeginn vor dem 35. Lebensjahr
Attachmentverlust > 4mm an mindestens 30% der Zähne
> 3 betroffenen Zähne, keine Inzisivi oder erste Molaren
Missverhältnis zwischen Menge mineralisierter Plaque und Attachmentverlust

Generalisierte chronische Parodontitis (CP, n=73):

Attachmentverlust > 4mm an mindestens 30% der Zähne
Attachmentverlust konsistent zur Akkumulation mineralisierter Plaque

Parodontitisfreie Kontrollprobanden (n=89):

Sondiertiefe < 3.5mm
Kein Attachmentverlust durch Parodontitis (Ausnahmen: Attachmentverlust infolge überkonturierter Restaurationen, primär endodontische Läsionen Putztraumata)

Genomische Untersuchungen

DNA-Isolation

Die DNA-Präparation der genomischen DNA aus humanem venösen EDTA-Blut erfolgte mittels "blood extraction kit" (Quiagen, Hilden). 200µl EDTA-Blut wurden zur Zellyse mit 20 µl Protease versetzt. Nach der Zugabe von 200 µl Lysispuffer AL wurde die Probe 15 sec gevortext und für 10 min bei 56°C inkubiert. 200 µl Ethanol wurde zugegeben, der Ansatz gevortext und auf eine Säule (QIAamp Spin Column) gegeben. Nach 2maligem Waschen (Puffer AW1 und AW2) der an die Säule gebundenen DNA wurde die DNA durch Zentrifugation getrocknet. Die DNA wurde mit 200µl aqua dest. 5min inkubiert und von der Säule gelöst.

PCR mittels sequenzspezifischer Primer

Die Genotypanalyse der Gene des IL-1 Genclusters erfolgte mit Hilfe des "CYTOKINE Genotyping array CTS-PCR-SSP Tray kits" der "Collaborative Transplant Study", Department of Transplantation Immunology of the University Clinic of Heidelberg. In jeder PCR wurde ein 440bp-Fragment des humanen CRP-Gens als Positivkontrolle koamplifiziert. Die PCRs wurden mit Hilfe sequenzspezifischer Primer durchgeführt, die die Detektion der entsprechenden SNPs. Die Primer waren in thin-walled plastic 96-well PCR trays lyophilisiert. Je PCR wurden 10µl Mastermix, der 1U Taq-Polymerase (Invitex), 100ng genomische DNA, 5% Glycerol und PCR-Puffer enthielt, dazugegeben. PCR-Programm (2 min 94°C; 10 Zyklen: 15 sec 94°C, 1 min 64°C; 20 Zyklen: 15 sec 94°C, 50 sec 61°C, 30 sec 72°C) PCR-Produkte wurden im ethidiumbromidhaltigen, 2%igen Agarosegel aufgetrennt und ausgewertet.

Subgingivale Bestimmung von 5 parodontopathogenen Leitkeimen

Probengewinnung und DNA-Isolation

Die Plaqueproben wurden mit sterilen Papierspitzen aus der tiefsten Tasche jedes Quadranten entnommen und gepoolt. Die bakterielle DNA wurde mittels QIAamp DNA Mini Kit (Quiagen, Hilden) isoliert. Die Papierspitzen wurden mit 180 µl ATL-Puffer und 20 µl Pproteinase K für 10min bei 70°C inkubiert. 200 µl Lysispuffer Al wurde hinzugegeben und 5min bei 95°C inkubiert. Der Ansatz (ohne Filterspitzen) wurde auf eine Säule (QIAamp Spin Column) pipettiert und 2 mal mit Puffer AW1 und AW2 gewaschen. Die DNA wurde in 400µl AE-Puffer gelöst und bei -20°C gelagert.

PCR

Für die spezifische Amplifikation von *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (Aa), *Porphyromonas gingivalis* (Pg), *Prevotella intermedia* (Pi), *Tannerella forsythia* (Tf) und *Treponema denticola* (Td) wurde der micro-Ident® test von HAIN-Diagnostik (Lifesience, Nehren) benutzt. Mastermix (Puffer, biotinylierte Primer, DNA als Positivkontrolle), 2U Taq-Polymerase (Eppendorf, Hamburg), und 5 µl der isolierten bakteriellen DNA wurden gemixt. PCR: 5 min 95°C; 10 Zyklen: 30 sec 95°C, 2 min 58°C; 20 Zyklen: 25 sec 95°C, 40 sec 53°C, 40 sec 70°C; 8 min 70°C Die PCR-Produkte wurden im ethidiumbromidhaltigen 1%igen Agarosegel aufgetrennt.

Hybridisierung

20 µl des PCR-Produkts und 20 µl der Denaturierungslösung wurden für 5 min inkubiert. 1 ml Hybridisierungspuffer (vorgewärmt auf 45°C) wurde dazugegeben. Gabe dieser Lösung zur Membran, vorhybridisiert mit bakterieller DNA und Positivkontrollen. Inkubation bei 45°C für 30 min im Schüttelwasserbad. Membran wurde mit 1 ml "stringent wash solution" bei 45°C für 15 min gewaschen. 1 ml der Konjugatlösung wurde hinzugegeben (Raumtemp., 30 min). Waschen der Membran und Inkubation mit 1 ml der Substratlösung. Nachweis der Bakterien erfolgte visuell (Farbreaktion mittels Alkalischer Phosphatase). 2 Positivkontrollen für PCR (AC) und Hybridisierung (CC) sind im Test enthalten.

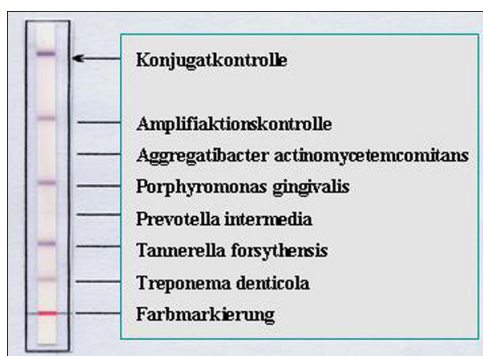


Abb. 2: Bestimmung der subgingivalen Keimbesiedlung mittels des micro-Ident® Test (HAIN-Diagnostik)

Ergebnisse

In dieser Fall-Kontroll-Studie konnten weder nach bivariater noch multivariater Analyse Assoziationen zwischen genetischen Varianten des IL-1 Genclusters und dem Auftreten von schweren Parodontitiden gezeigt werden. Träger der seltenen Genotypen der SNPs rs1800587 (pkorr.=0.009), rs1143634 (pkorr.=0.009) und Träger des "composite" Genotyps (rs1800587+rs1143634) (pkorr.=0.031) hatten aber ein zweifach höheres Risiko für eine subgingivale Besiedelung mit *A.actinomycetemcomitans*. Mit logistischer Regression (forward stepwise) und unter Berücksichtigung der parodontalen Kofaktoren Alter, Geschlecht, Rauchen und approximaler Plaqueindex konnten diese signifikante Assoziationen bestätigt werden.

	Chronische Parodontitis (CP)	Aggressive Parodontitis (AP)	Parodontitisfreie Kontrollen	p Werte vs. Kontrollen	
	n = 73	n = 86	n = 89	CP	AP
Durchschnittsalter (Jahre)	49.1 ± 9.4	40.4 ± 9.8	46.2 ± 10.8	n.s.	< 0.001
Geschlecht (% weibl.)	63.0	64.0	53.3	n.s.	n.s.
Raucher	23.6	34.9	21.3	n.s.	n.s.
Approximaler Plaqueindex (%)	62.0 ± 25.6	53.3 ± 28.7	47.2 ± 21.4	< 0.001	n.s.
Blutung auf Sondierung (%)	70.6 ± 24.7	78.7 ± 23.2	45.2 ± 23.9	< 0.001	< 0.001
Sondiertiefe (mm)	5.3 ± 1.3	5.7 ± 1.4	2.6 ± 0.7	< 0.001	< 0.001
Clinischer Attachmentverlust (CAL in mm)	6.0 ± 1.5	6.5 ± 1.5	3.0 ± 0.8	< 0.001	< 0.001
Zähne mit CAL 4-6 mm (%)	45.8	39.5	3.4	< 0.001	< 0.001
Zähne mit CAL > 6 mm (%)	44.4	57.0	1.1	< 0.001	< 0.001
Frühzeitiger Zahnverlust durch Parodontitis bei Verwandten	40.9	57.0	9.1	< 0.001	< 0.001

Tab. 1: Klinische und demographische Charakterisierung der Probandengruppen

	Chronische Parodontitis (CP)	Aggressive Parodontitis (AP)	Parodontitisfreie Kontrollen	p Werte vs. Kontrollen	
	n = 73	n = 86	n = 89	CP	AP
Aggregatibacter actinomycetemcomitans (%)	34.2	40.7	18.0	n.s.	0.001
Porphyromonas gingivalis (%)	87.7	76.7	22.5	< 0.001	< 0.001
Prevotella intermedia (%)	61.6	61.6	31.5	< 0.001	< 0.001
Tannerella forsythia (%)	97.3	86.0	68.5	< 0.001	0.005
Treponema denticola (%)	98.6	86.0	62.9	< 0.001	0.002
Pg, Td, Tf (%)	83.6	69.8	22.5	< 0.001	< 0.001

Tab. 2: Mikrobiologische Untersuchungen der Probandengruppen

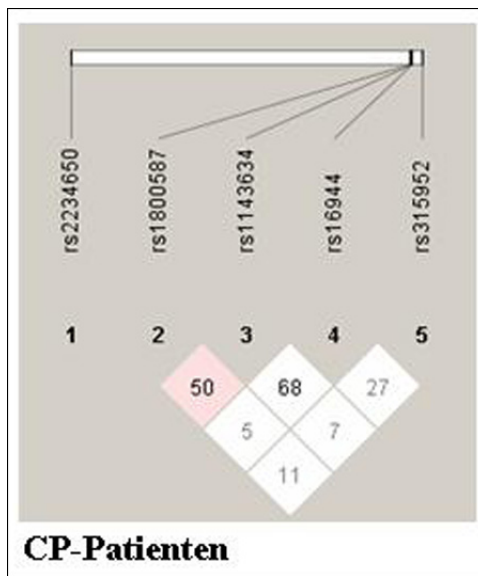
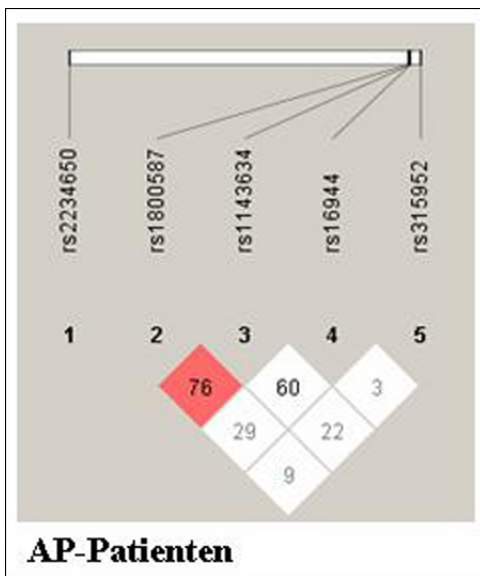


Abb. 3a-b : Genetische Untersuchungen: Haplotyp-Blockstruktur (Software: Haploview 4.2)

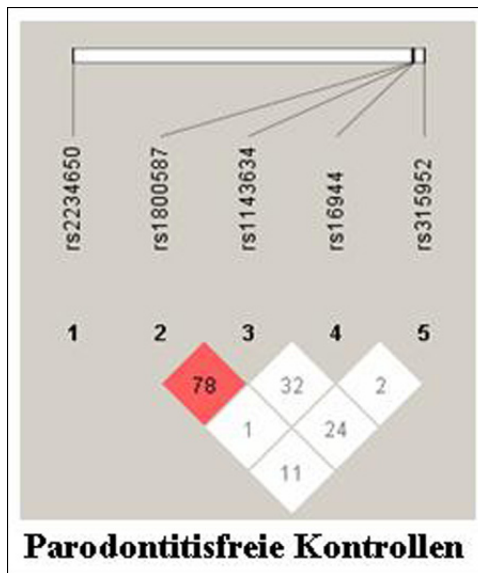
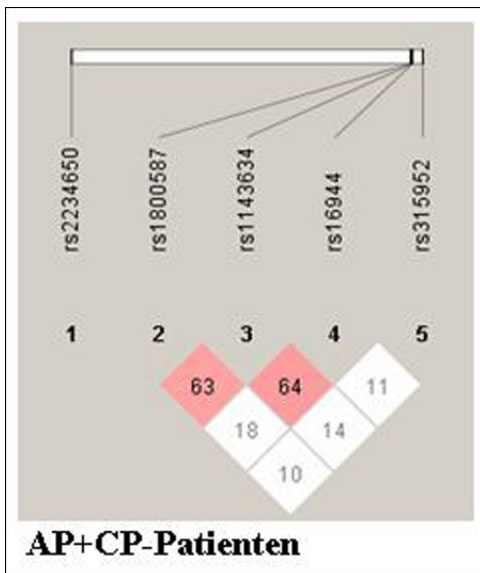


Abb. 3c-d: Genetische Untersuchungen: Haplotyp-Blockstruktur (Software: Haploview 4.2)

Die SNPs rs1800587 und rs 1143634 befinden sich in allen Probandengruppen in einem starken "linkage disequilibrium" (LOD > 10). Diese Daten sind in Übereinstimmung mit den Ergebnissen von Komman et al. (1997).

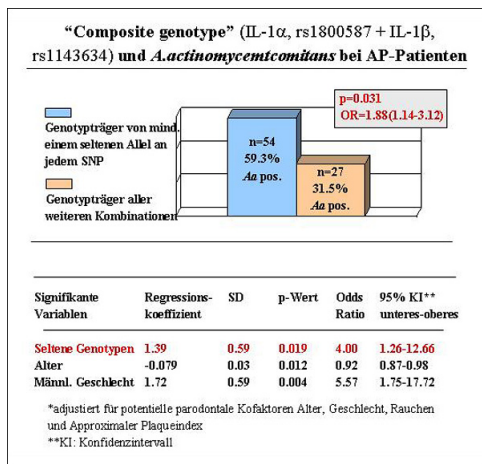


Abb. 4: Genetische Untersuchungen: "Composite genotype" (IL-1a, rs1800587 + IL-1b, rs1143634) und *A.actinomycentcomitans* bei AP-Patienten

	AP (n = 86)	CP (n = 73)	Parodontitisfreie Kontrollen (n = 89)
IL-1a: rs1800587			
CC (%)	54.1	50.0	49.4
CT+CC (%)	45.9	50.0	50.6
IL-1 β : rs16944			
CC (%)	43.0	43.8	40.4
CT+CC (%)	57.0	56.2	59.6
IL-1 β : rs1143634			
CC (%)	62.2	61.1	56.8
CT+CC (%)	37.8	38.9	43.2
IL-1R: rs2234650			
CC (%)	48.8	42.5	46.1
CT+CC (%)	51.2	57.5	53.9
IL-1RA: rs315952			
CC (%)	45.3	46.6	40.9
CT+CC (%)	54.7	53.4	59.1
"Composite genotyp": IL-1a: rs1800587 + IL-1 β : rs1143634			
Genotypträger von mindestens einem seltenen Allel an jedem SNP (%)	66.7	69.0	59.1
Genotypträger aller weiteren Kombinationen (%)	33.3	31.0	40.9

Tab. 3: Genetische Untersuchungen: Genotype and allele distribution of polymorphisms in IL-1 gene cluster in dependence on the occurrence of AP and CP

Schlußfolgerungen

Obwohl Polymorphismen in den Genen für IL-1a und IL-1b mit dem Auftreten von *A. actinomycentcomitans* assoziiert waren, konnten sie weder in bivariaten noch in multivariaten Analysen als Risikoindikatoren für Parodontitis bestätigt werden.

Dieses Poster wurde übermittelt von Dr. Susanne Schulz.

Korrespondenz-Adresse:

Dr. Susanne Schulz
 Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg
 Poliklinik für Zahnerhaltungskunde und Parodontologie
 Harz 42a
 06108 Halle

Poster Faksimile:

susanne.schulz@medizin.uni-halle.de, DGP-Jahrestagung, Baden-Baden 2011, Poster P-04-006, Mikrobiologie und Diagnostik

II-1 Gencluster und das Auftreten von *A. actinomycetemcomitans* bei aggressiver Parodontitis

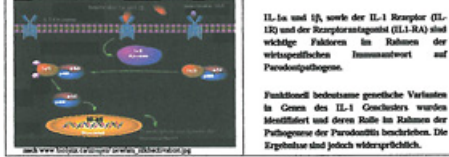


S Schulz¹, J Stein², C Gläser³, HG Schaller¹, S Reichert¹

¹ Poliklinik für Zahnerhaltungskunde und Parodontologie, Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg
² Klinik für Zahnerhaltung und Parodontologie und Präventive Zahnheilkunde, RWTH Aachen
³ Institut für Humangenetik und Medizinische Biologie, Martin-Luther-Universität, Halle-Wittenberg

Einleitung

Signaltransduktionsweg vermittelt durch Gene des II-1 Clusters (II-1a, II-1b, II-1c, II-1RA)



Als entscheidender Auslöser etablierter Parodontitis wird die ungleichmäßige Besiedlung mit parodontopathogenen Keimen angesehen. Im Rahmen der Pathogenese der Erkrankung spielt die weitestgehende Immunantwort eine zentrale Rolle. Diese wird u.a. durch eine genetische Prädisposition beeinflusst.

Gene des II-1 Clusters beschreiben eine Vielzahl von verwandten Zellen (insbesondere T-Helfer-zellen, Makrophagen, T3-Zellen, B-Zellen), deren Befallung bei der Manifestation und Progression von etablierter Parodontitis ausführlich beschrieben wurde.

Funktionell wichtige Polymorphismen (SNP) wurden für II-1a (rs1809587), II-1b (rs16944, rs10434), II-1R (rs2234669), II-1RA (rs119952) identifiziert. Karamann et al. (1997) postuliert einen parodontitisassoziierten „composite genotype“ der sich aus den seltenen Genotypen der SNPs rs1809587 (II-1a) und rs110434 (II-1b) zusammensetzt.

→ Das Ziel dieser Studie bestand darin die Bedeutung von SNPs an den s.a. Genorten für das Auftreten von Parodontitis und ungleichgr. Keimbefallung nach Adjustierung für etablierte parodontale Faktoren zu bestimmen.

Material und Methoden

Einschlusskriterien der Patienten

Generalisierte aggressive Parodontitis (AP):
 n=44
 Zahnstatusgleiches vor dem 31. Lebensjahr
 Altschmelzverlust: 4mm an mindestens 3Nn der Zähne
 ≥ 3 kariöse Zähne, keine karielle oder sonst kariöse
 Mundschleimhäute zwischen Menge akrobakterieller Plaque und Altschmelzverlust

Generalisierte chronische Parodontitis (CP):
 n=13
 Altschmelzverlust: 4mm an mindestens 3Nn der Zähne
 Akrobakterienlast konstant oder Akrobakterien akrobakterieller Plaque

Parodontitäre Kontrollprobanden:
 n=49
 Schmelzverlust ≤ 3,5mm
 Keine Altschmelzverlust durch Parodontitis (Gumminone, Altschmelzverlust
 infolge orthodontischer Restarbeiten, primär zahnärztliche Leiden
 Pathomechanik)

Genomische Untersuchungen

DNA-Isolierung
 Die DNA-Präparation der genomischen DNA aus insgesamt zwischen 100-200 µl EDTA-Bild wurde mittels „Blood extraction kit“ (Qiagen, Erlangen, Bielefeld).

200 µl EDTA-Bild wurde zur Zellyse mit 30 µl Proteinase K
 1h bei 56°C in 200 µl 1x Laemmli AL wurde die Probe 1h bei 56°C inaktiviert.
 300 µl Ethanol wurde zugegeben, der Ansatz zentrifugiert und mit einer Spin (QIAamp Spin Column) gewaschen.
 Nach 5minigen Waschen (Puffer AW1 und AW2) die in die Spin geladenen DNA wurde die DNA durch Zentrifugieren gewonnen.
 Die DNA wurde mit 200 µl agua dest. in die Spin inaktiviert und von der Spin gelöst.

PCR mittels sequenzspezifischer Primer
 Die Genotypisierung der Gene des II-1 Clusters erfolgte mit Hilfe der "CYTOGENETIC Overlaying using CTS-PCR-SSP" (Thyssen et al. "Cellular Transplant Study", Department of Transplantation Immunology of the University Clinic of Heidelberg).

In jeder PCR wurde ein 440bp-Fragment des humanen XPD-T1 von der Polidomastase kontrolliert.
 Die PCR wurde mit einem sequenzspezifischen Primer durchgeführt, der die Sequenz der entsprechenden SNPs. Die Primer waren in Blue-vent 96-well PCR Bspg. hergestellt.

In PCR wurden 10 µl Material, die 10 µl Template (DMSO), 10 µl genomische DNA, 1 µl DMSO und PCR-Puffer enthält, durchgeführt.

PCR-Programme 1) 94°C, 10 Zyklen; 2) 94°C, 1 min 64°C, 20 Zyklen; 3) 94°C, 30 sec 62°C, 30 sec 72°C
 PCR-Produkte wurden in ethidiumbromidhaltigen 20 µg/ml Agarose aufgetragen und sequenziert.

Subgingivale Bestimmung von 5 parodontopathogenen Leitkeimen

Probengewinnung und DNA-Isolierung
 Die Probenproben wurden mit sterilen Papageylen aus der tiefsten Tasche jeder Quadranten entnommen und gepoolt.
 Die bakterielle DNA wurde mittels QIAamp DNA Mini Kit (Qiagen, Erlangen, Bielefeld) isoliert.
 Die Papageylen wurden mit 180 µl ATL-Puffer und 20 µl Proteinase K für 10min bei 70°C inaktiviert.
 200 µl 1x Laemmli AL wurde hinzugegeben und 1h bei 56°C inaktiviert.
 Der Ansatz (ohne Ethanol) wurde auf eine Spin (QIAamp Spin Column) pipettiert und 2 mal mit Puffer AW1 und AW2 gewaschen.
 Die DNA wurde in 40 µl AE-Puffer gelöst und bei -20°C gelagert.

PCR
 Für die spezifische Amplifikation von *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (AA), *Porphyromonas gingivalis* (Pg), *Prevotella intermedia* (Pi), *Tannerella forsythia* (Tf) und *Trypanosoma dentium* (Tn) wurde der *interleukin-1* von BAHN-Haus (Erlangen, Bielefeld) benutzt. Miniaturisierte Primer, DNA als Polidomastase kontrolliert, 20 µl Polymerase (Taq-polymerase, Biorlab), und 5 µl der isolierten bakteriellen DNA wurde genutzt.
 PCR: 1 min 94°C, 18 Zyklen; 2) 94°C, 1 min 58°C, 20 Zyklen; 3) 94°C, 40 sec 55°C, 40 sec 70°C, 1 min 70°C
 Die PCR-Produkte wurden in ethidiumbromidhaltigen 20 µg/ml Agarose aufgetragen.

Hybridisierung
 20 µl des PCR-Produkts und 20 µl der Denaturierungslösung wurden für 3 min inaktiviert.
 1 ml Hybridisierungspuffer (vorgekühlt auf 47°C) wurde zugegeben
 Ohne diese Lösung zur Kontrolle, hybridisiert mit bakterieller DNA und Polidomastase.
 Hybridisation bei 47°C für 30 min im Hybridisierungsbad.
 Membran wurde mit 1 ml "Washing wash solution" bei 47°C für 15 min gewaschen,
 1 ml der Denaturierungslösung wurde hinzugegeben (Denaturierung, 30 min).
 Waschen der Membran und Hybridisation mit 1 ml der Substratlösung.
 Nachweis der Hybridisation erfolgte mittels Phosphorimager (Molecular Imager PhosphorImager).
 2 Probenproben für PCR (AC) und Hybridisierung (CC) sind Teil enthalten.

Ergebnisse und Diskussion

Charakterisierung der Probandengruppen

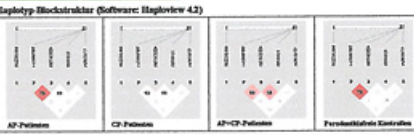
Klinische und demographische Charakterisierung

	Chronische Parodontitis (CP)	Aggressive Parodontitis (AP)	Parodontitäre Kontrollprobanden	n	%
Durchschnittlicher (sd)mm	40,2±12,4	46,4±13,8	46,2±10,8	n.a.	<0,001
Zusätzliche (N) (sd)	0,0	0,0	0,0	n.a.	n.a.
Zusätze (%)	0,0	0,0	0,0	n.a.	n.a.
Appendikale Plaqueindex (%)	41,8±23,6	53,3±23,7	47,2±11,4	<0,001	n.a.
Befallung auf Zyklen (%)	78,1±24,7	78,1±24,7	49,2±10,0	<0,001	<0,001
Beobachtung (mm)	2,3±1,3	2,7±1,4	2,6±0,7	<0,001	<0,001
Klinischer Altschmelzverlust (CAL in mm) (%)	6,1±1,3	6,1±1,3	3,2±0,8	<0,001	<0,001
Zähne mit CAL >4mm (%)	4,8	20,2	3,4	<0,001	<0,001
Zähne mit CAL >10mm (%)	44,4	37,0	1,1	<0,001	<0,001
Füllkörper Zahnverlust durch	40,9	37,0	9,1	<0,001	<0,001
Prozente bei Verarmen					

Mikrobiologische Untersuchungen

	Aggregatibacter actinomycetemcomitans (n=14)	Porphyromonas gingivalis (n=1)	Prevotella intermedia (n=1)	Tannerella forsythia (n=1)	Trypanosoma dentium (n=1)	Zp. 16. 37 (n=1)
	46,7	7,7	7,7	23,3	23,3	23,3
	10,5	23,3	23,3	23,3	23,3	23,3
	46,7	7,7	7,7	23,3	23,3	23,3
	10,5	23,3	23,3	23,3	23,3	23,3

Genetische Untersuchungen



Die SNPs rs1809587 und rs110434 befinden sich in einer Probandengruppe in einem starkem „ linkage disequilibrium“ (LD). Die Daten sind in der Darstellung mit den Ergebnissen von Karamann et al. (1997).

Genotypabhängige Anreicherung

Genotype und allele distribution of polymorphisms in II-1 gene cluster in individuals on the occurrence of AP and CP

Genotype	AP	CP	Parodontitäre Kontrollprobanden
CC/TT	34	30	30
CT/CT	5	20	30
TT/TT	5	5	5
CC/TT	5	5	5
CT/CT	5	5	5
TT/TT	5	5	5
CT/CT	5	5	5
TT/TT	5	5	5
CT/CT	5	5	5
TT/TT	5	5	5

Obwohl Polymorphismen in den Genen für II-1a und II-1b mit dem Auftreten von *A. actinomycetemcomitans* assoziiert waren, konnten sie weder in isolierten noch in multivariaten Analysen als Risikofaktoren für Parodontitis bestätigt werden.