



MASARYKOVA UNIVERZITA



Preventivní ZL 2020

RNDr. Petra Bořilová Linhartová, Ph.D.

Přednáška 14

Individuální náchylnost pacienta k zubnímu kazu a zánětlivým onemocněním v dutině ústní

- **Genetické studie komplexních chorob**
- **Kandidátní geny a genové varianty**
- **Výsledky genetických studií v kontextu**
 - **zubního kazu**
 - **parodontitidy**
 - **EARR**
 - **RAS v české populaci**

Komplexní choroby

- multifaktoriální, polygenní
- roli hrají interakce různých vlivů:
 - genetických,
 - epigenetických,
 - behaviorálních,
 - psychosociálních a
 - environmentálních

podílejících se na výsledném stavu – vzniku, rozvoji a průběhu onemocnění

Komplexní choroby

- pokud choroba má prokazatelně **familiární výskyt**, musíme očekávat podíl **genetického podkladu** na její manifestaci
- epidemiologickou charakteristikou komplexních chorob je **statistická kumulace v rodinách**

Monogenní



Komplexní



Nemoci způsobené zevními vlivy

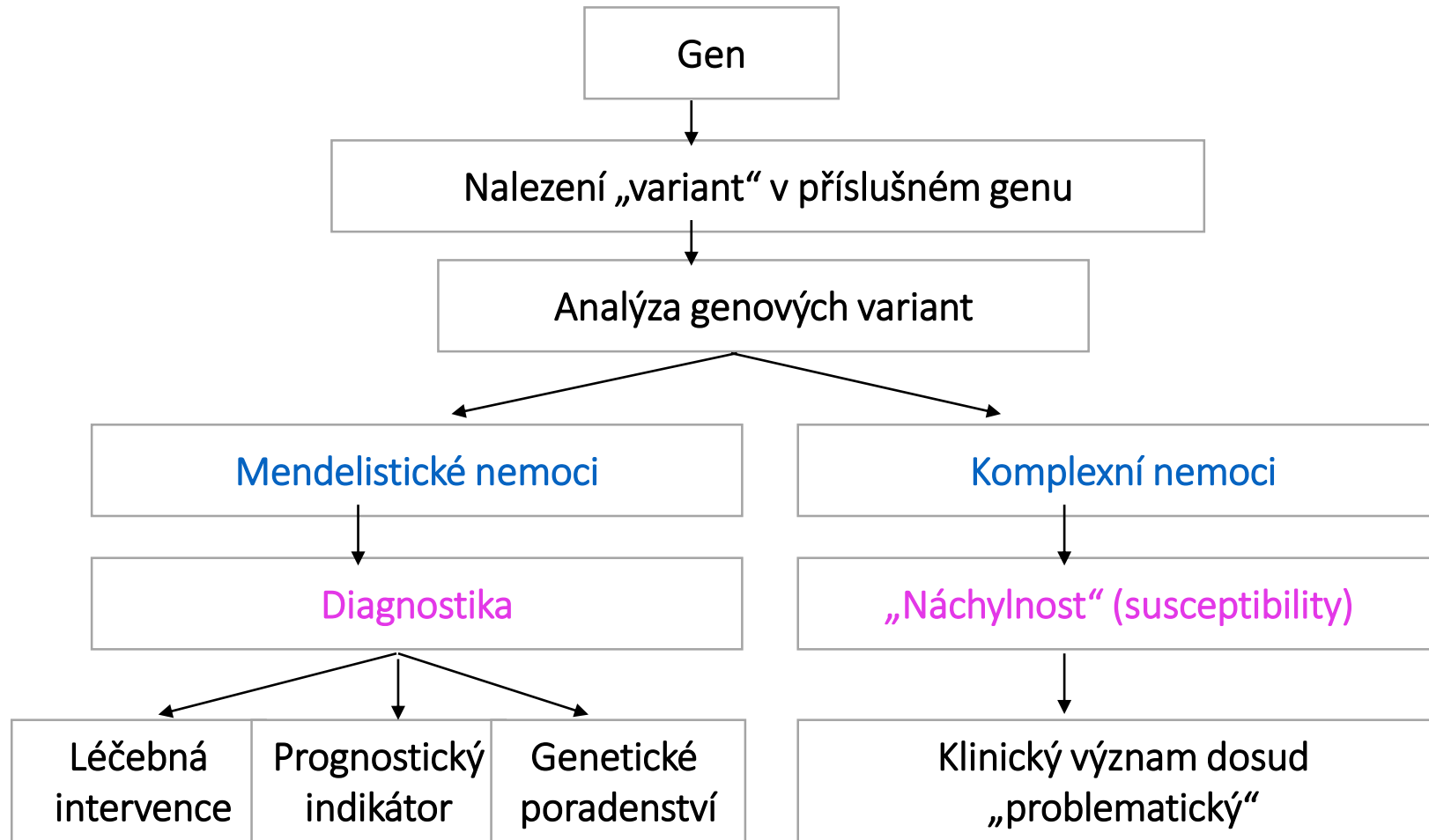


■ geny ■ další faktory

Komplexní choroby

- fenotyp nevykazuje klasickou mendelistickou dominantní či recesivní dědičnost jako důsledek změn v jediném lokusu (tzv. jednolokusových)
- **predisponující „geny“** zvyšují pravděpodobnost onemocnění, ale nedeterminuje jednoznačně jeho přítomnost
- je nutné spolupůsobení negenetických faktorů (**prostředí**) = dieta, fyzická aktivita, kouření, a **interakcí genů** mezi sebou
- stojí na vrcholu pomyslné pyramidy složitosti celé genetiky

Genetická analýza



Genetika komplexních chorob

Podklady pro hledání genetické determinace

- **Zvýšený výskyt v rodinách - FA**
- **Zvýšená incidence u dvojčat : MZ > DZ**
- **Dědičnost intermediárních fenotypů**
- neúplná dominance (heterozygot je intermediárním fenotypem)
- mezi nejčastěji používané intermediární fenotypy patří profily genové exprese (transkriptom), variabilita v množství proteinů (proteom), metabolitů (metabolom), atd.

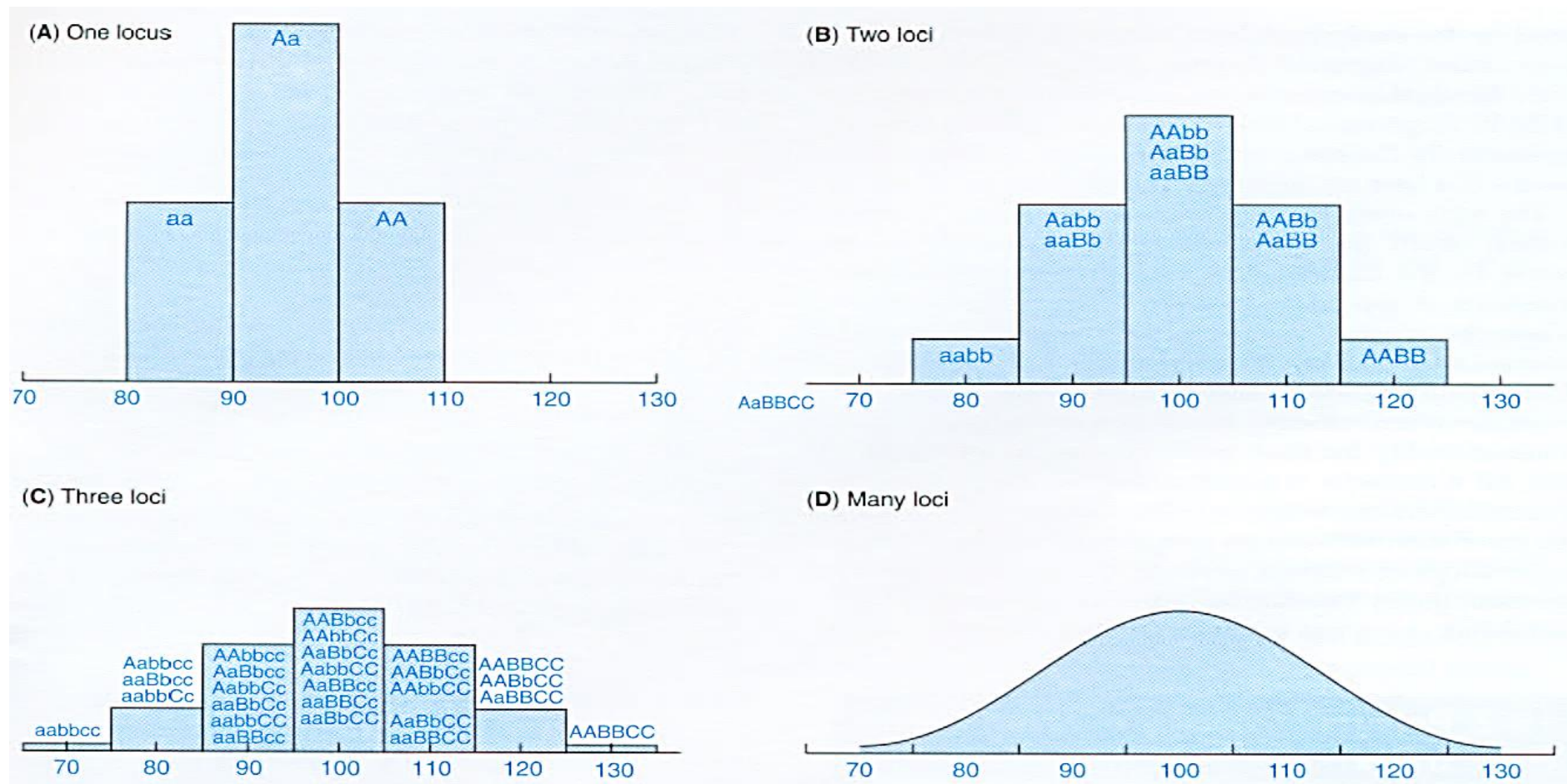
Cíle genetického výzkumu – komplexní choroby

- Zlepšit porozumění **patofyziologii** uvedených chorob
- Přispět k **diagnostice** onemocnění
- Nalézt **parametry rizika progresu** nemoci či stupně její závažnosti

Nové poznatky by měly napomoci upřesnění diagnostických a/nebo léčebných postupů (individualizovaný přístup k terapii) a k PREVENCI.

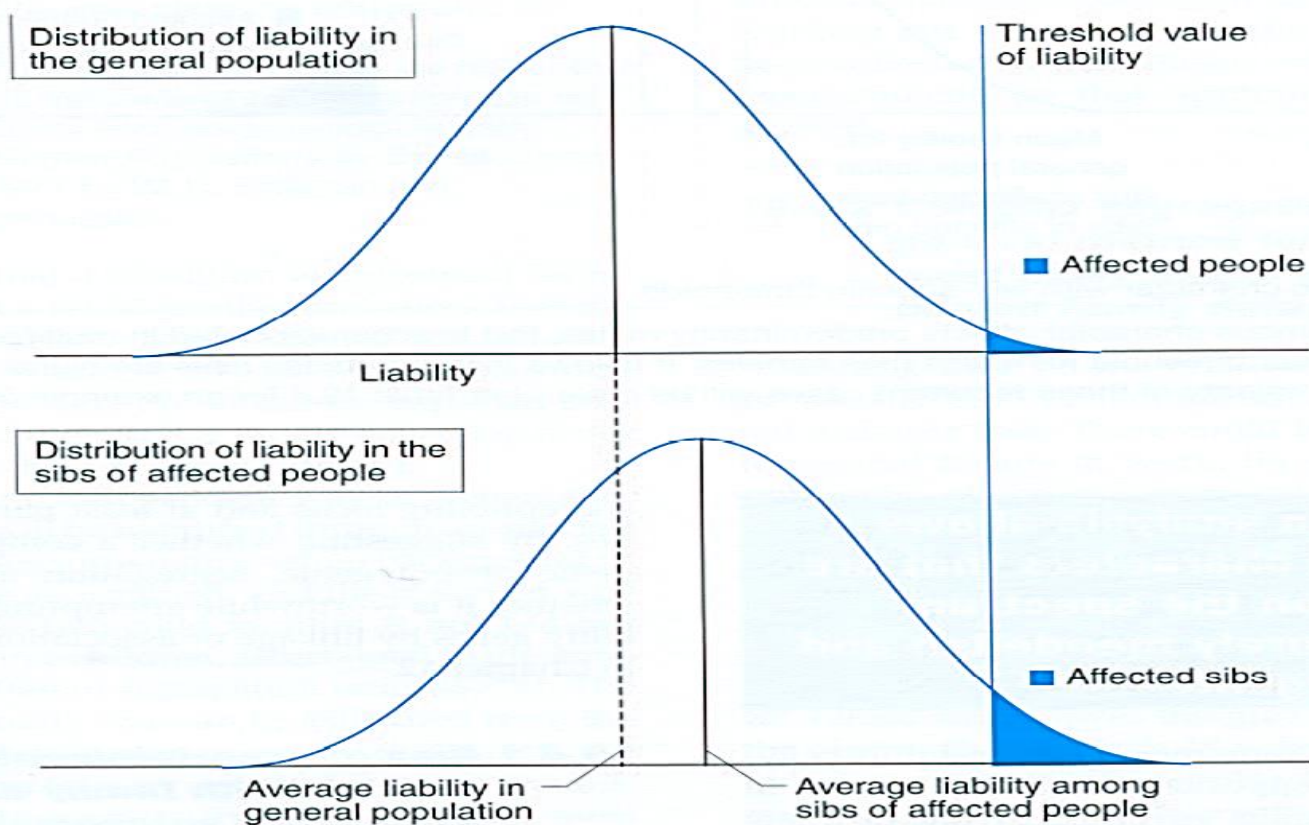
Genetika komplexních chorob

- 1918 R. A. Fisher - **polygenní model**



Genetika komplexních chorob

- v polovině 60. let přišel s tzv. **prahovým modelem** D.S. Falconer (limitní počet recesivních alel způsobí vznik onemocnění)



Genetika komplexních chorob

- **současný model**

- se od těch klasických v několika ohledech dost zásadně liší
- je jasné, že **genotypová složka** komplexních znaků **není tak rozsáhlá**, jak se předpokládalo (nezahrnuje stovky, max. desítky genů)
- genotypová složka **není homogenní** ve smyslu rozsahu účinku jednotlivých genů (zahrnuje geny jak relativně velkého, tak i malého a středního účinku)
- vzájemný **vztah** jednotlivých **predisponujících genů není** v žádném případě **uniformně aditivní**

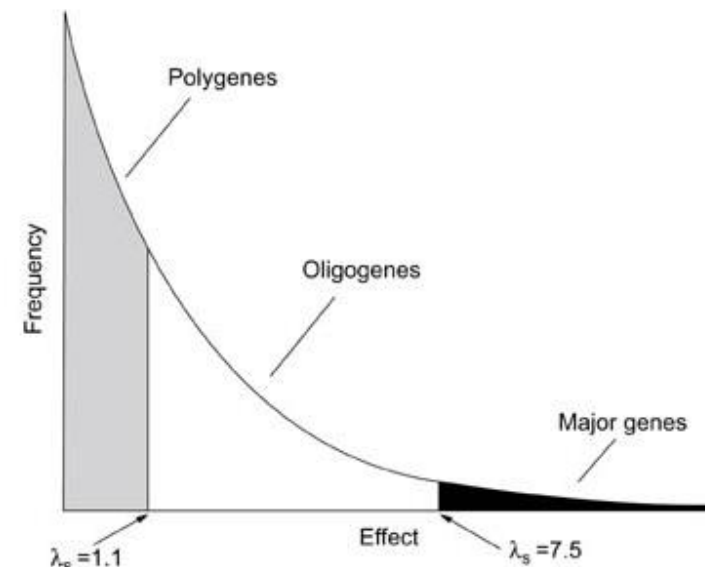
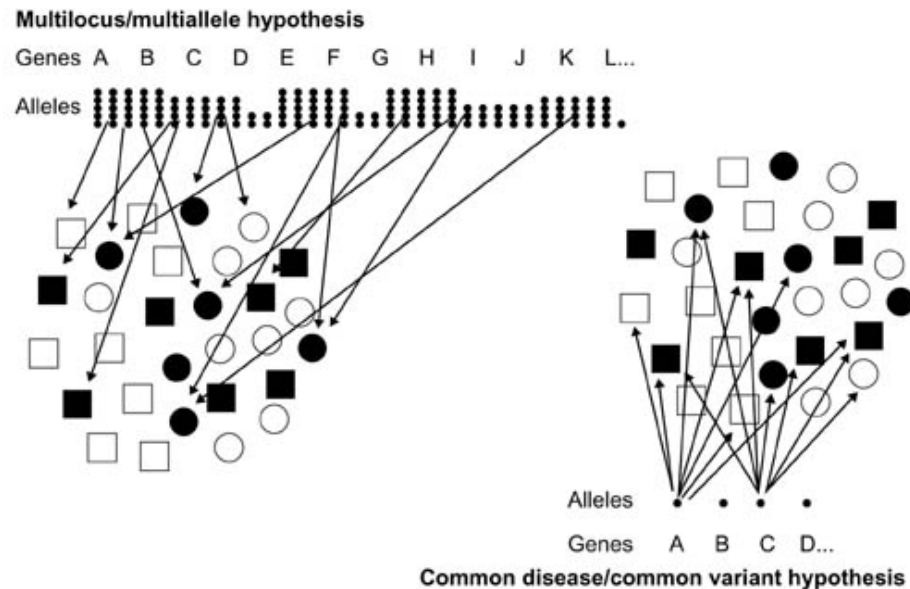


vyjádřeno **multiplikativním modelem**

Genetika komplexních chorob

multiplikativní model (epistatický)

- souhrnný účinek predisponujících genů je roven součinu jejich dílčích účinků (interakční efekty)
- uvažuje existenci dvou a více rizikových lokusů, kdy dispozice k nemoci je zvýšena při současném působení obou či více rizikových genotypů



Genetika komplexních chorob

- má **vždy statistický charakter**

⇒ zdědění jednotlivé patologické alely není ani nezbytné, ani dostatečné pro manifestaci komplexního fenotypu

$$\boxed{\text{Fenotyp}} = \boxed{\text{Zevní faktory}} + \boxed{\text{Genetické faktory}}$$

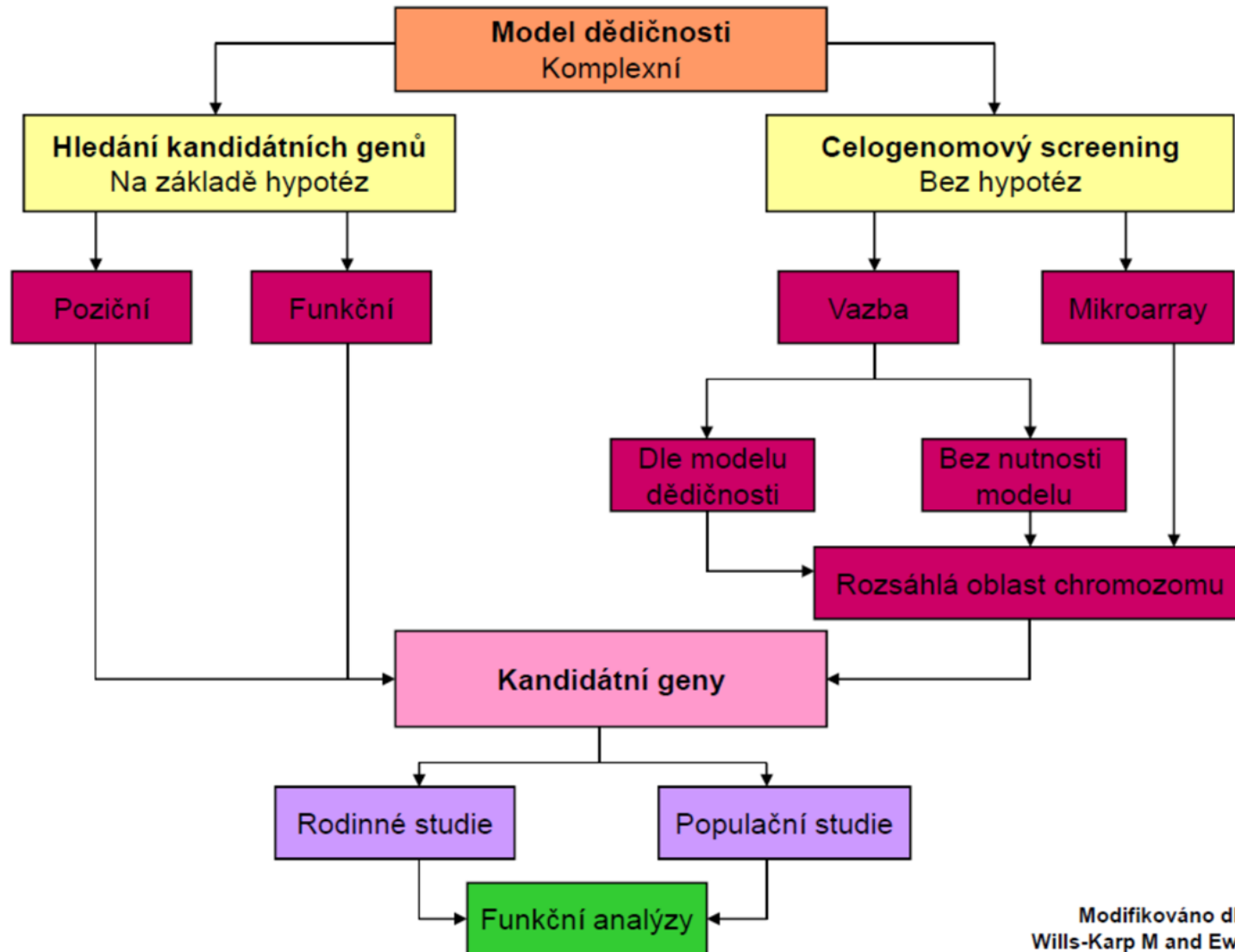
- dosud se nepodařilo charakterizovat žádnou komplexní polygenní chorobu ve formě úplného souboru „patologických“ alel a jejich interakcí (navzájem a se zevními faktory)

Genetika komplexních chorob

Fáze studia:

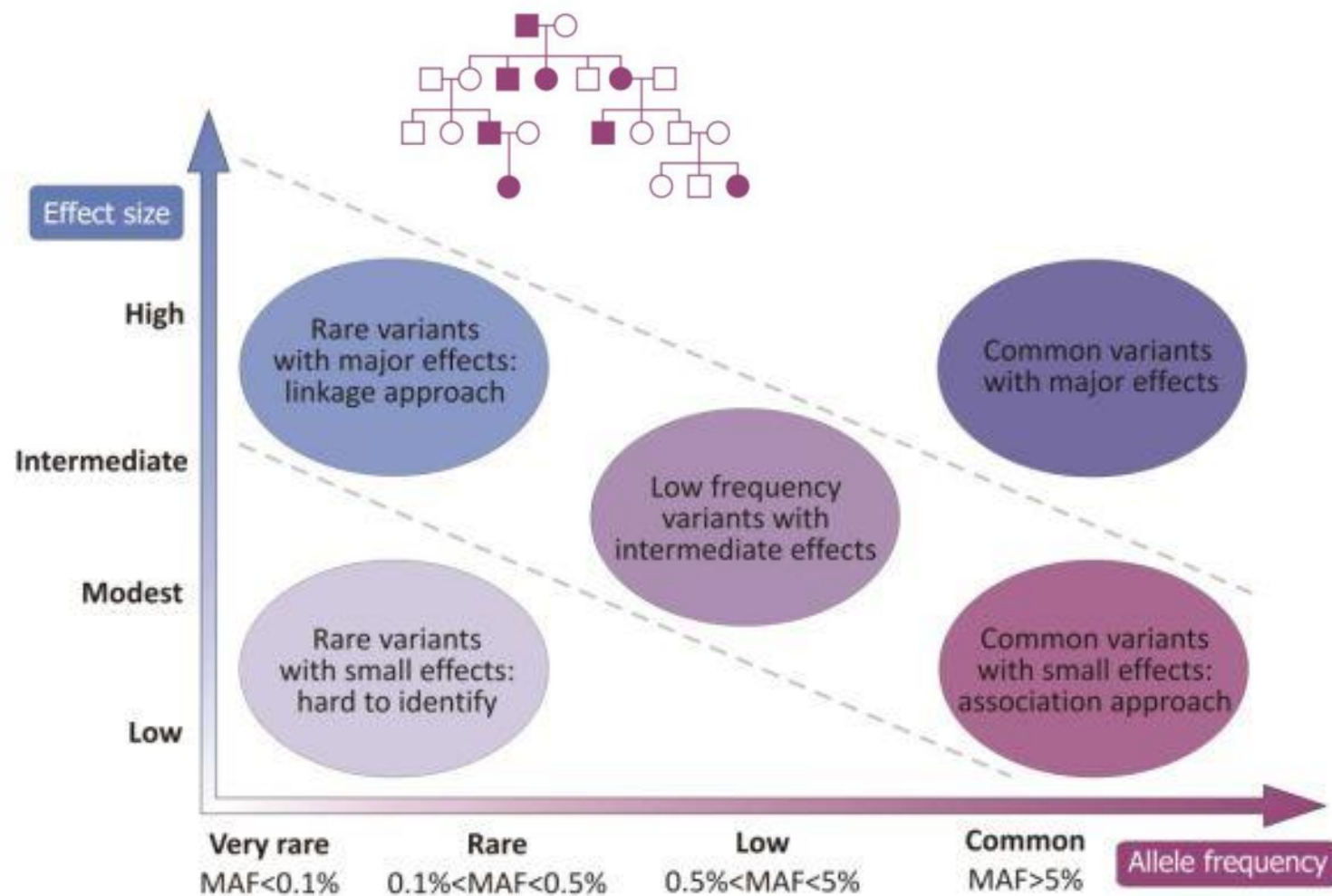
- formulace hypotézy
- selekce kandidátních genů
 - s intermediárním fenotypem
 - s klinickou manifestací nemoci
 - s klinickou závažností nemoci
 - s odpovědí nemoci na léčbu

Genetika komplexních chorob



Modifikováno dle
Wills-Karp M and Ewart SL
Nature Review 2004

Genetika komplexních chorob

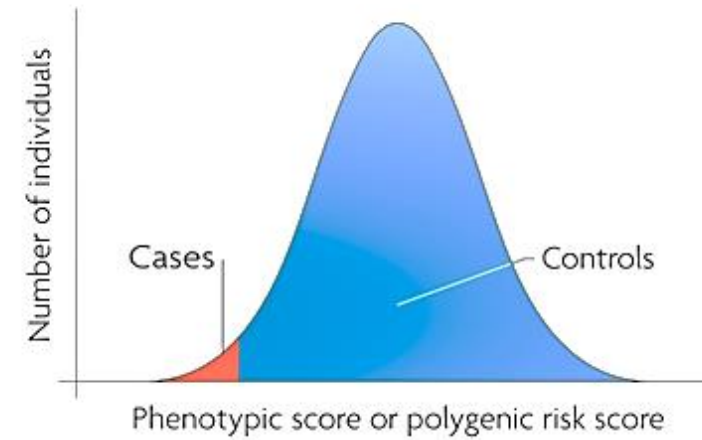


Asociační studie

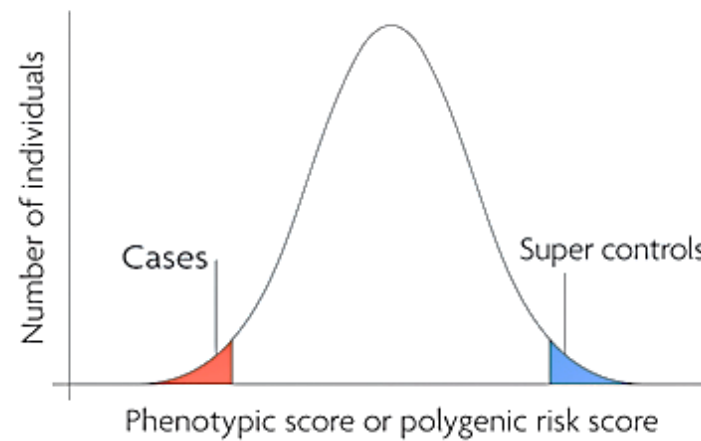
- **studie případů a kontrol (case – control studies)**
- srovnávání frekvencí alel studovaného genu mezi dvěma skupinami nepříbuzných osob ze stejné populace (zamezení tzv. stratifikace)
- u metod **retrospektivních** se vyvinula daná nemoc a až poté se zjišťuje, zda postižená osoba byla nebo nebyla vystavena sledovanému rizikovému faktoru (například přítomnost určité formy genu)
- nutné definovat kritérium, podle kterého se subjekty rozdělí do skupin (např. dle klinického vyšetření)
- charakteristika skupin – srovnatelnost (např. věk, pohlaví nebo rasa)= strukturální vyvažování případů a kontrol (**matching**)
- **poměr šancí (OR, odds ratio)**

Asociační studie

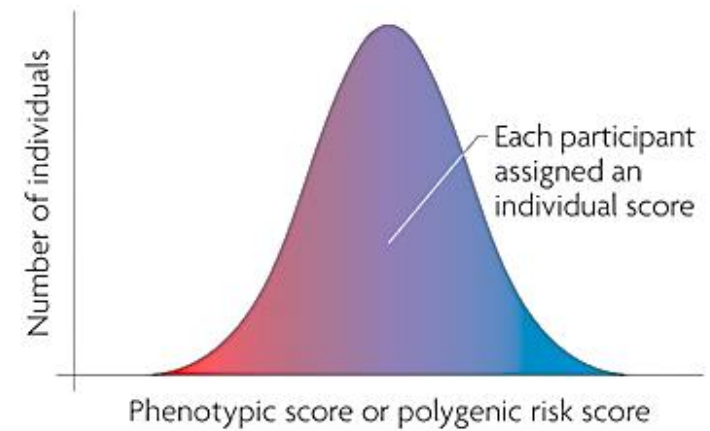
a Case-control



b Extreme selection



c Quantitative measurement



Genetika komplexních chorob

- v klinické praxi často kolísá názor na výsledky genetických studií
 - neodůvodněné očekávání nalezení genů velkého účinku
 - velká skepse k existenci genetického podkladu u nemocí, které jsou v populaci časté (>1 %)

Polymorfizmy

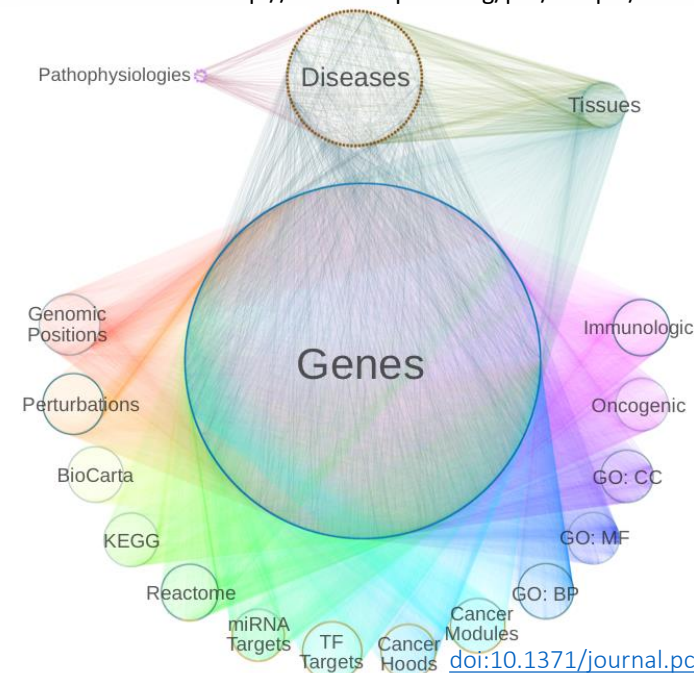
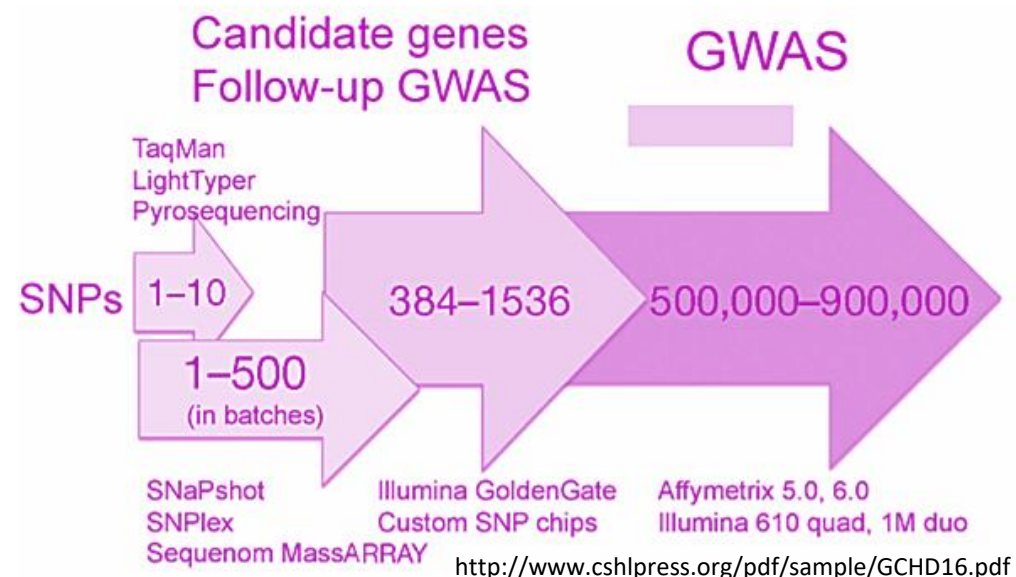
- v regulačních oblastech, intronech i exonech
- důsledkem může být:
 - změna AA
 - ukončení translace, a tím pádem zkrácení polypeptidu (často dochází k rychlé degradaci)
 - vliv na sestřih, transkripci nebo stabilitu mRNA
- cca 7 milionů známých lidských SNPs v dbSNP databázi
- HapMap projekt – běžné SNPs s MAF>5 %, populační rozdíly
- Haploview – k vizualizaci LD struktury dané oblasti genu

Polymorfizmy

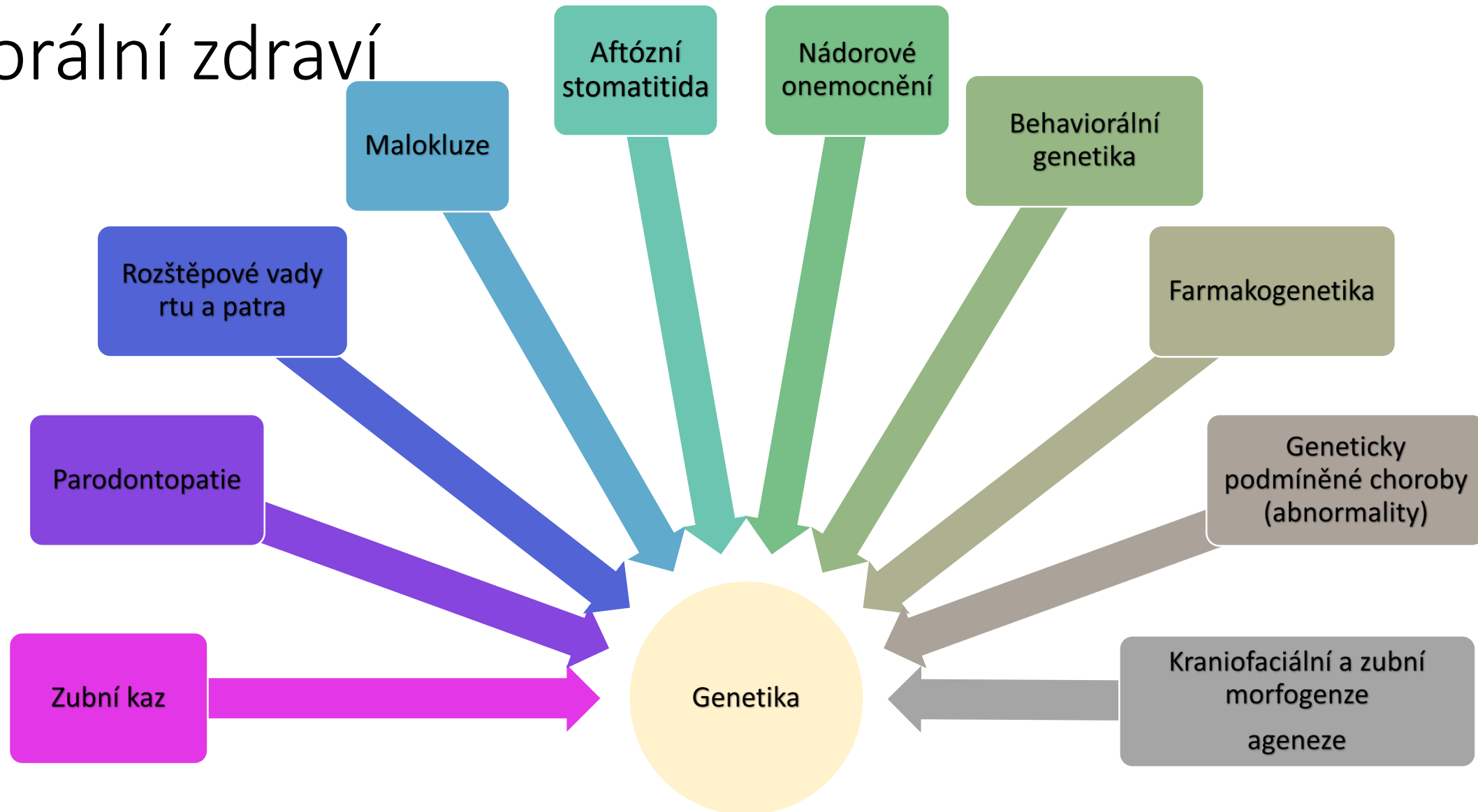
- Sériové testování –menšího počtu SNPs u mnoha subjektů
- Paralelní testování - až milionu SNPs u každého subjektu najednou
- Cena za SNP: sériové > paralelní

Nové směry (tzv. high-throughput techniky)

- multiplexing (určení velkého množství markerů v jediné reakci) nebo DNA pooling (zjištění alelické frekvence při smísení DNA vzorků více jedinců)
- DNA microarrays, SnaPshot, NGS, MS a další

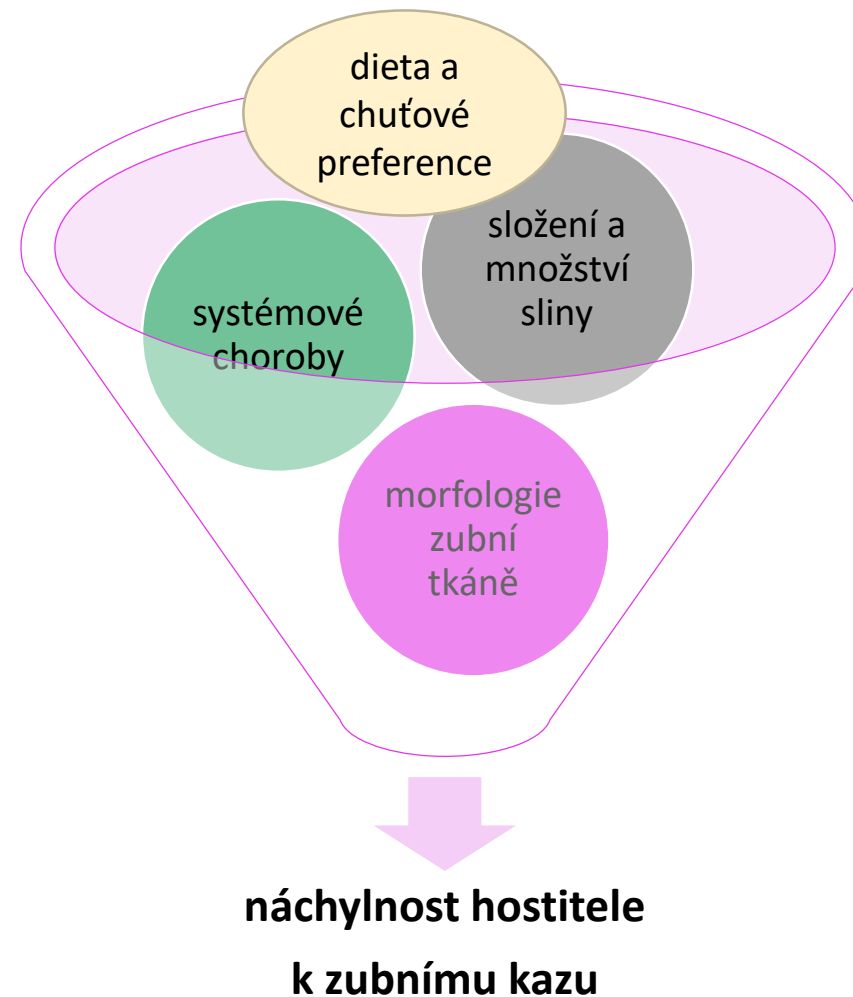
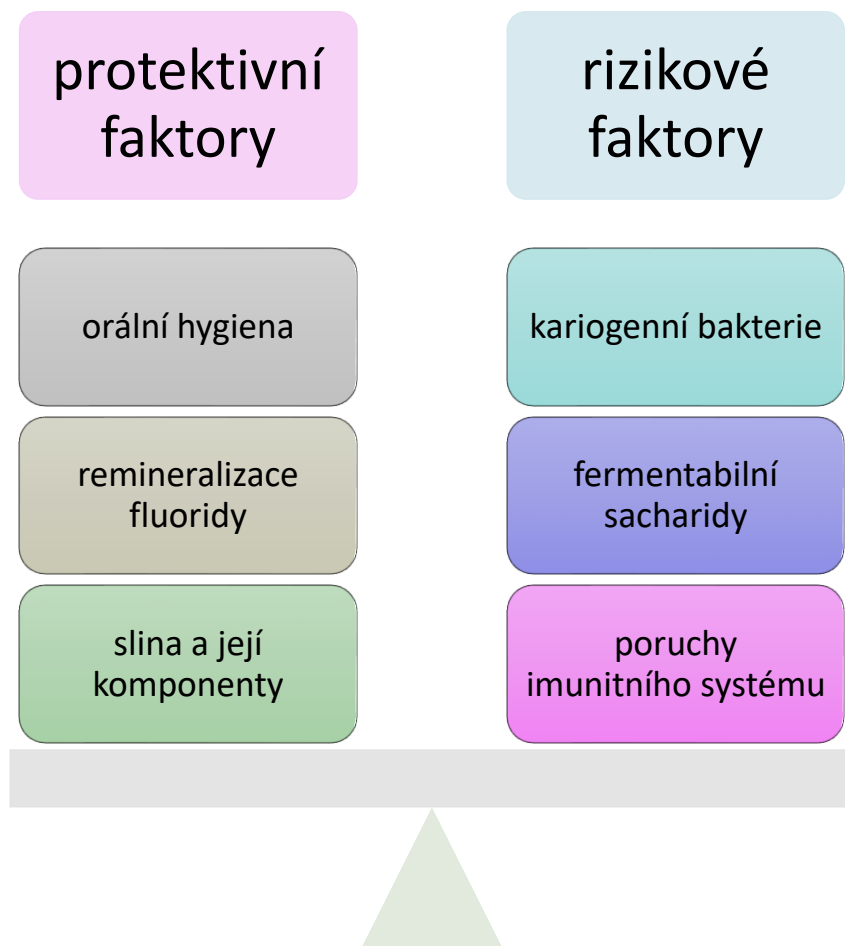


Genetika a orální zdraví



Individuální náchylnost pacienta k zubnímu kazu a zánětlivým onemocněním v dutině ústní

Etiopatogeneze zubního kazu



Individuální náchylnost pacienta k zubnímu kazu a zánětlivým onemocněním v dutině ústní

Kandidátní geny pro zubní kaz



- ENAM
- KLK4
- TUFT
- ALOX
- AMELX
- DLX3
- BMP2
- MMPs
- SPP1



- LTF
- VDR
- ACE
- DEF
- PRPs



- TASR
- GLUT

Individuální náchylnost pacienta k zubnímu kazu a zánětlivým onemocněním v dutině ústní

Genetické asociační studie - zubní kaz

- LTF = bakteriostatický protein nespecifické imunitní odpovědi
- děti 13-15 let s/bez zubního kazu
- SNP v LTF genu - NS

Original Paper

Caries Research

Caries Res 2014;48:39–44
DOI: 10.1159/000351689

Received: January 15, 2013
Accepted after revision: April 25, 2013
Published online: November 6, 2013

Lack of Association between Lactotransferrin Polymorphism and Dental Caries

M. Volckova^a P. Borilova Linhartova^b T. Trefna^c J. Vlazny^c K. Musilova^a
M. Kukletova^a L. Kukla^d L. Izakovicova Holla^{a, b}

^aClinic of Stomatology, St. Anne's Faculty Hospital and Faculty of Medicine, Masaryk University, ^bDepartment of Pathophysiology, Faculty of Medicine, Masaryk University, ^cFaculty of Medicine, Masaryk University, and ^dDepartment of Social Medicine and Health Care Administration, Faculty of Medicine, Masaryk University, Brno, Czech Republic

Individuální náchylnost pacienta k zubnímu kazu a zánětlivým onemocněním v dutině ústní

Genetické asociační studie - zubní kaz

- VDR = nukleární receptor
- děti 13-15 let s/bez zubního kazu
- SNP VDR *TaqI* v LTF genu - NS

Caries Research

Short Communication

Caries Res 2017;51:7-11
DOI: 10.1159/000452635

Received: September 1, 2016
Accepted after revision: October 17, 2016
Published online: November 26, 2016

Vitamin D Receptor *TaqI* Gene Polymorphism and Dental Caries in Czech Children

Lydie Izakovicova Holla^{a, b} Petra Borilova Linhartova^{a, b} Jakub Kastovsky^{a, b}
Michaela Bartosova^{a, c} Kristina Musilova^a Lubomir Kukla^c Martina Kukletova^a

^aClinic of Stomatology, Institutions Shared with St. Anne's Faculty Hospital, and ^bDepartment of Pathophysiology, Faculty of Medicine, and ^cResearch Centre for Toxic Compounds in the Environment (RECETOX), Chemistry Section, Faculty of Science, Masaryk University, Brno, Czech Republic

Individuální náchylnost pacienta k zubnímu kazu a zánětlivým onemocněním v dutině ústní

Genetické asociační studie - zubní kaz

- ACE = enzym
- děti 13-15 let s/bez zubního kazu a děti 2-6 let se zubním kazem v dočasné dentici
- I/D polymorfismus v ACE genu – NS v dočasné dentici, ale ve stálé DD genotyp rizikový pro zubní kaz (i závažnost)

Caries Research

Original Paper

Caries Res 2016;50:89–96
DOI: 10.1159/000443534

Received: September 18, 2015
Accepted: December 21, 2015
Published online: February 27, 2016

ACE Insertion/Deletion Polymorphism Associated with Caries in Permanent but Not Primary Dentition in Czech Children

Petra Borilova Linhartova^{a,b} Jakub Kastovsky^{a,b} Michaela Bartosova^{a,d}
Kristina Musilova^a Lenka Zackova^c Martina Kukletova^a Lubomir Kukla^d
Lydie Izakovicova Holla^{a,b}

^aClinic of Stomatology, Institutions Shared with St. Anne's Faculty Hospital, ^bDepartment of Pathophysiology, and ^cStomatology Research Center, Faculty of Medicine, and ^dResearch Centre for Toxic Compounds in the Environment (RECETOX), Chemistry Section, Faculty of Science, Masaryk University, Brno, Czech Republic

Individuální náchylnost pacienta k zubnímu kazu a zánětlivým onemocněním v dutině ústní

Genetické asociační studie - zubní kaz

- GLUT2 = glukózový transportér a TAS1R2 = chuťový receptor pro sladkou chuť
- děti 13-15 let s/bez zubního kazu

Caries Research

Original Paper

Caries Res 2015;49:417–424
DOI: 10.1159/000430958

Received: February 26, 2015
Accepted after revision: April 26, 2015
Published online: June 24, 2015

***GLUT2* and *TAS1R2* Polymorphisms and Susceptibility to Dental Caries**

Lydie Izakovicova Holla^{a,b} Petra Borilova Linhartova^{a,b} Svetlana Lucanova^{a,c}
Jakub Kastovsky^{a,c} Kristina Musilova^a Michaela Bartosova^{a,d}
Martina Kukletova^a Lubomir Kukla^d Ladislav Dusek^e

^aClinic of Stomatology, Institutions Shared with St. Anne's Faculty Hospital, and ^bDepartment of Pathophysiology, Faculty of Medicine, ^cFaculty of Science, ^dRECETOX, Research Centre for Toxic Compounds in the Environment, and ^eInstitute of Biostatistics and Analyses, Masaryk University, Brno, Czech Republic

Individuální náchylnost pacienta k zubnímu kazu a zánětlivým onemocněním v dutině ústní

Faktory ovlivňující percepci chuti

Preference výběru potravin a dietní návyky

- **volba životního stylu**
- **interindividuálními rozdíly ve vnímání chuti**
 - ✓ celkový zdravotní stav - hormonální stav, emocionální stav...
 - ✓ **variabilita v genech pro chuťové receptory**
- užívání xenobiotik (endokanabinoidy - posílení chuťové nervové odpovědi na sladké podněty)



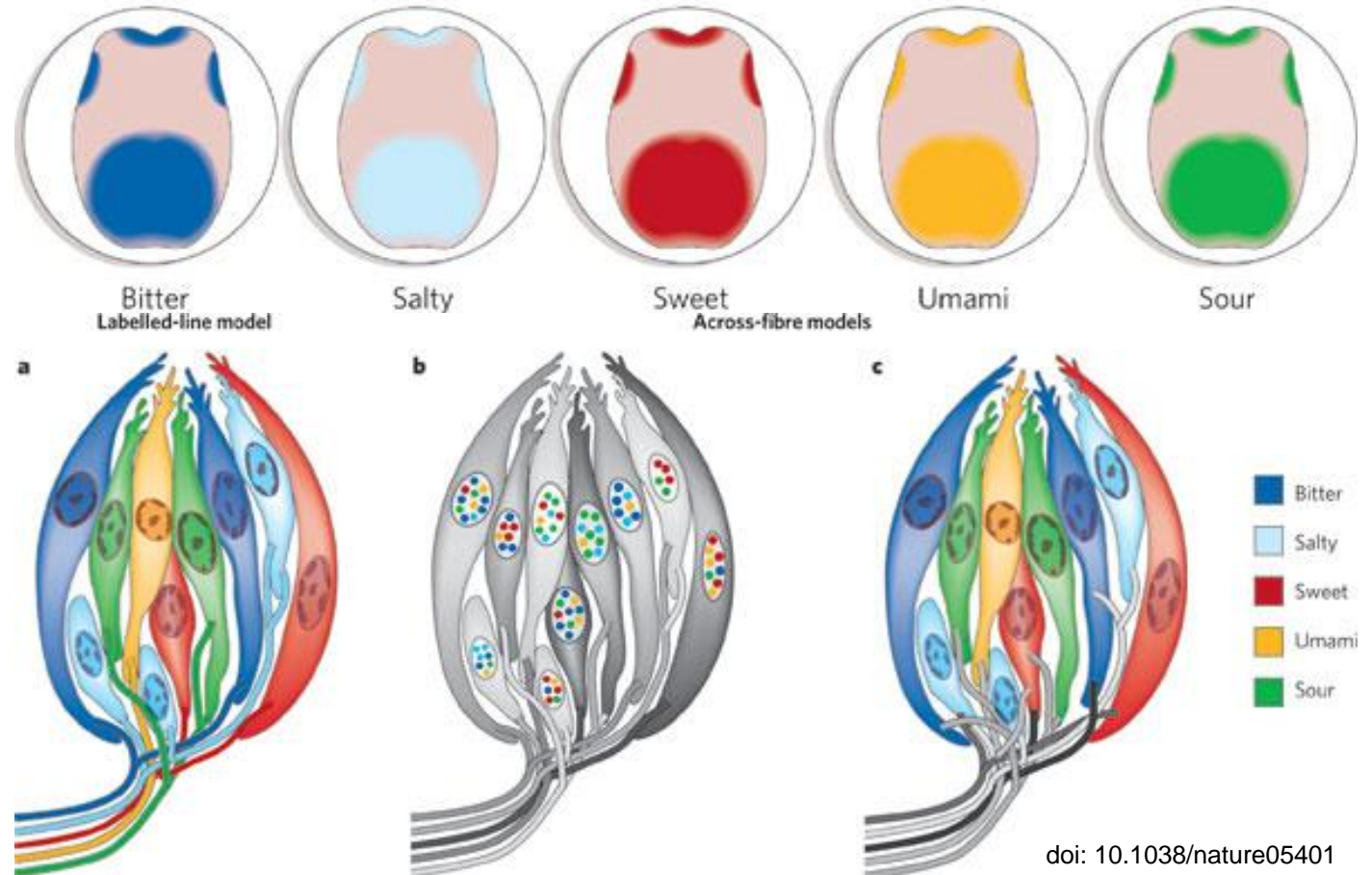
doi: 10.1073/pnas.0912048107

Receptory chuti

- chemosenzory

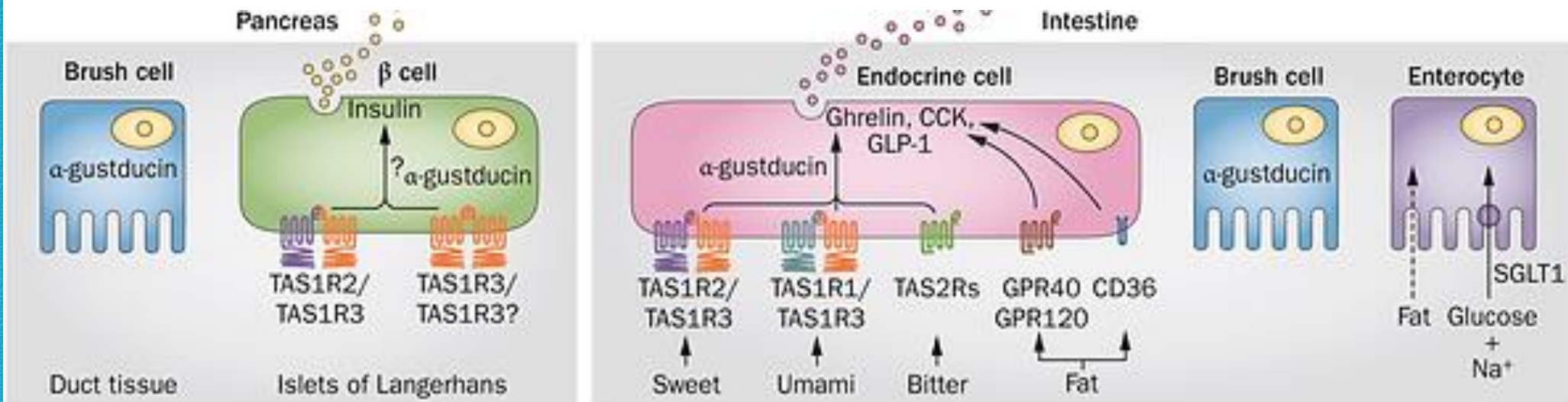
v dutině ústní:

- „~~jazyková mapa~~“
- 3 modely kódování chuti na periferii



Signalizace

ve střevě: endokrinní odezva



Variabilita v genech pro TR

- polymorfizmy v genu pro **translokázu mastných kyselin (CD36)** byly spojeny s rozdíly v příjmu tuků a jsou považovány za **biomarkery chronických kardiovaskulárních chorob**
- variabilita v genu pro **receptor hořké chuti (T2R38)** byla asociována s **odmítáním brukvovité zeleniny a kompenzačně zvýšeným příjmem tučné a sladké potravy**



Hořká chuť

- variabilita v genu pro **receptor hořké chuti** (T2R38) byla asociována s **kouřením** a při **tvorbě závislosti na nikotinu**

Pozn. Kuřáci mají významně nižší expresi genu receptoru hořkosti chuť než nekuřáci.

doi: 10.1371/journal.pone.0164157

doi: 10.1136/jmg.2008.057844

doi: 10.1186/1617-9625-12-12



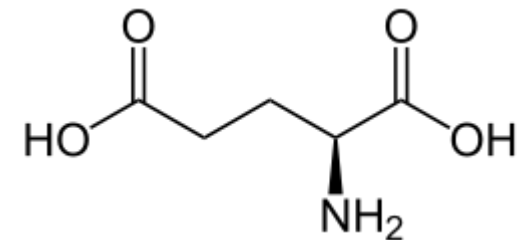
- funkční varianty v obou receptorech TAS2R16 a TAS2R38 korelují s **konzumací alkoholu**

doi: 10.1111/j.1530-0277.2006.00297.x



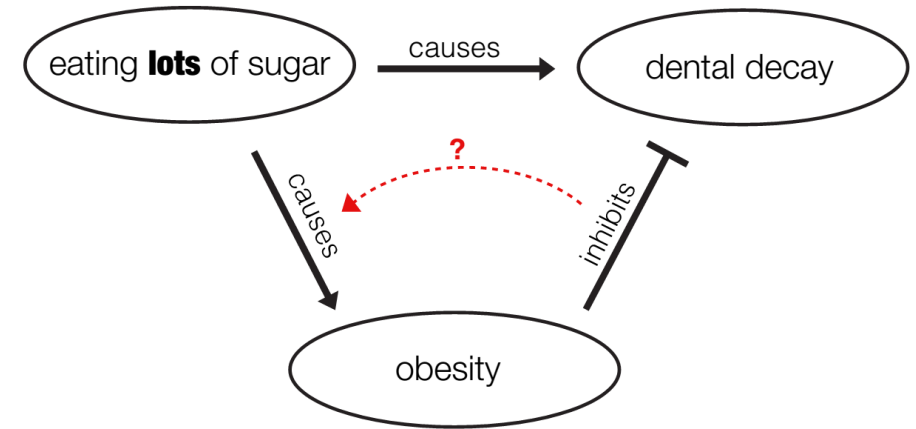
Umami

- z japonštiny (umai, česky chutný, delikátní)
- chuťový receptor pro umami taste-mGluR4 byl objeven v roce 2000 a vnímá v jídle obsaženou kyselinu glutamovou nebo její soli (glutamáty)
- varianty genů pro **umami chuťové receptory** (T1R1 a T1R3) a **receptory pro slanou chuť** (epiteliální sodíkový kanál - ENaC a receptor pro kapsaicin - TRPV1) byly asociovány se **zvýšeným příjmem glutamátu/L-aminokyselin a soli**



Sladká chuť

- specifické varianty v genech receptorů pro sladkou chuť (T1R2 a T1R3) byly spojeny se **zvýšeným příjmem sladkostí, obezitou a rizikem rozvoje zubního kazu**
- **v ústech**: stimulace receptorů cukry a umělými sladidly aktivuje intracelulární signalizační dráhu (α-gustducin) – vedení signálu přes periferní chuťové nervy do mozku

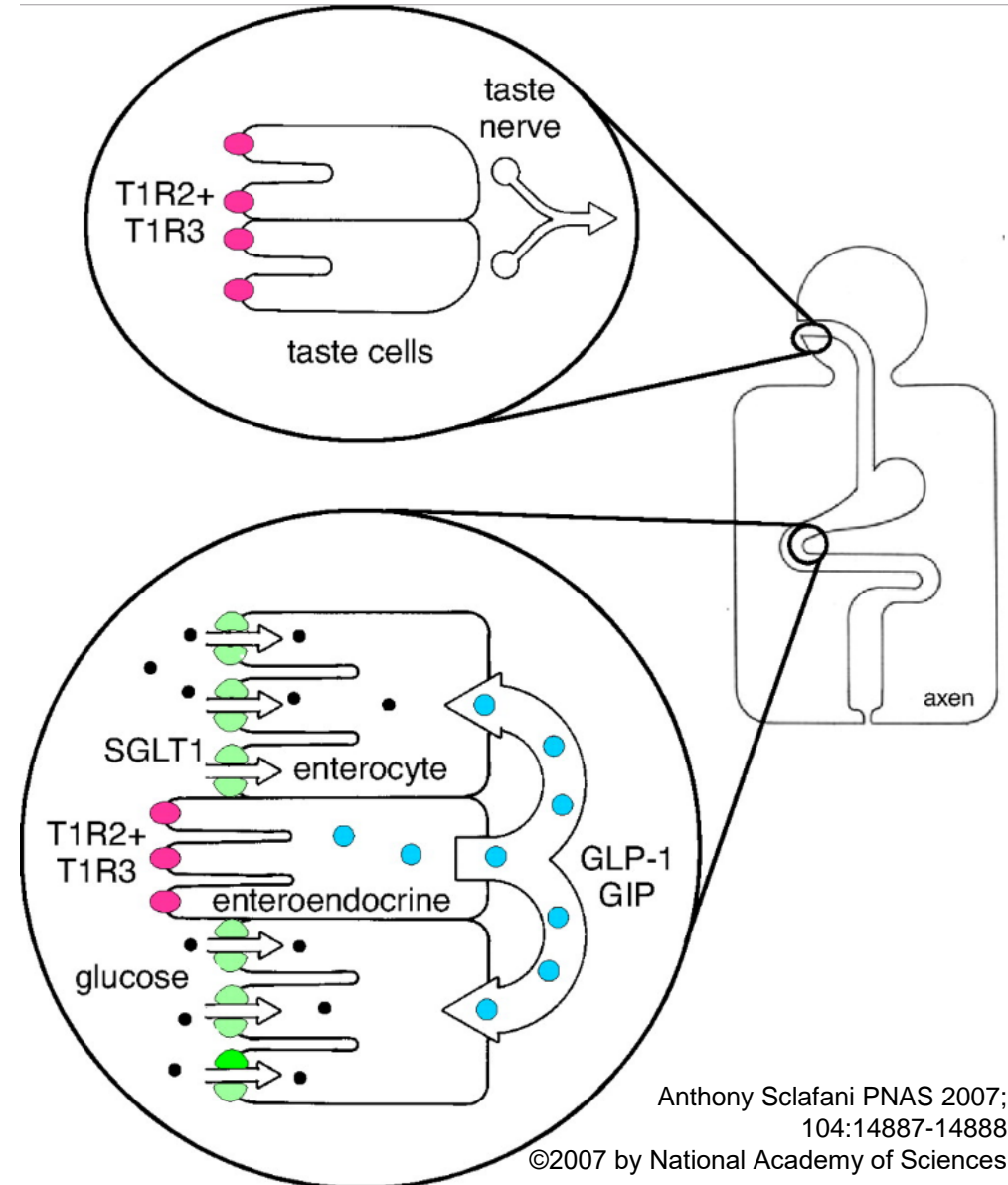


Pozn. Inverzní vztah mezi obezitou a zubní kazem

[dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0074461](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0074461)

Sladká chuť

- **ve střevě:** stimulace receptorů aktivuje intracelulární signalizační dráhu (α -gustducin) a způsobuje uvolňování hormonů GLP-1 (glukagonu podobný peptid-1) a GIP (na glukóze závislý inzulinotropní polypeptid)
- ✓ mj. tyto hormony stimulují expresi glukózového transportéru (SGLT1) v enterocytech, což zvyšuje absorpci glukózy z lumen střeva

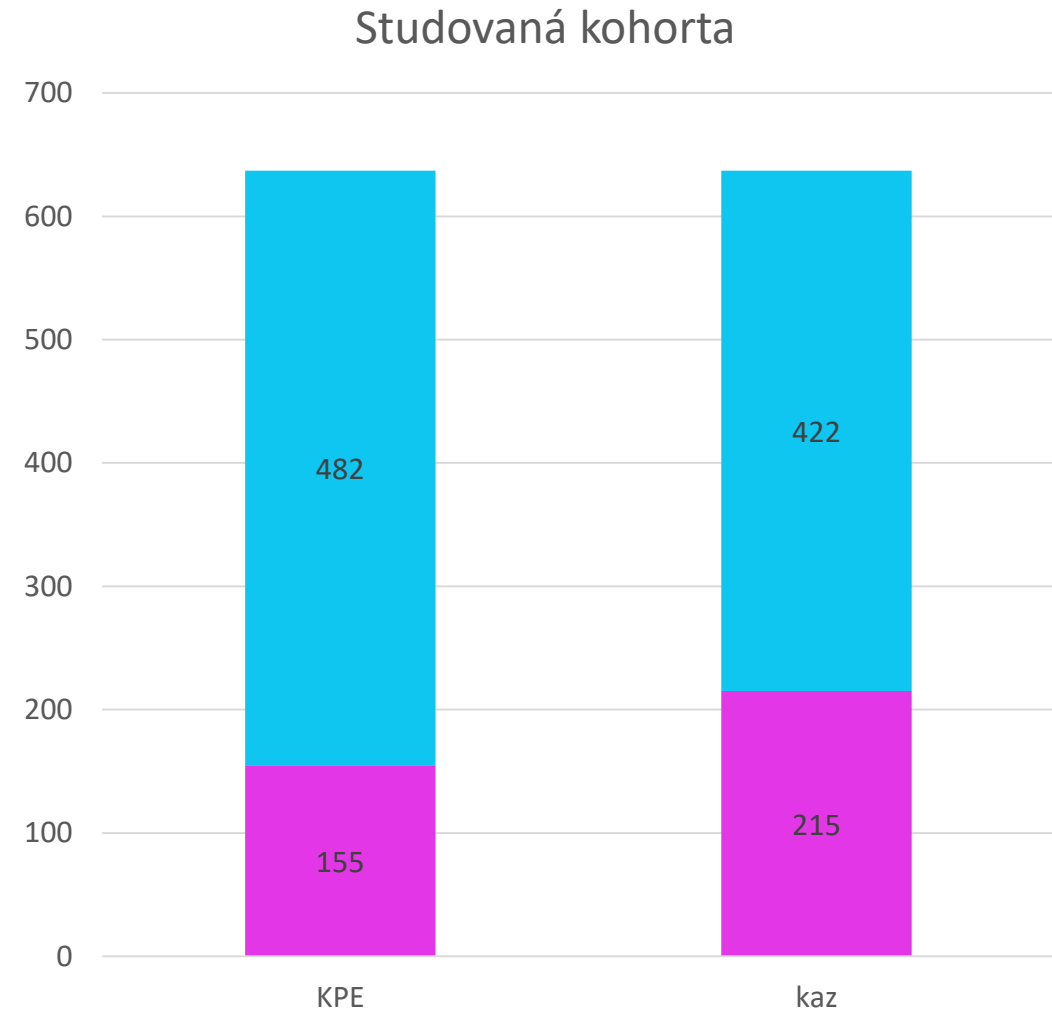


Anthony Sclafani PNAS 2007;
104:14887-14888

©2007 by National Academy of Sciences

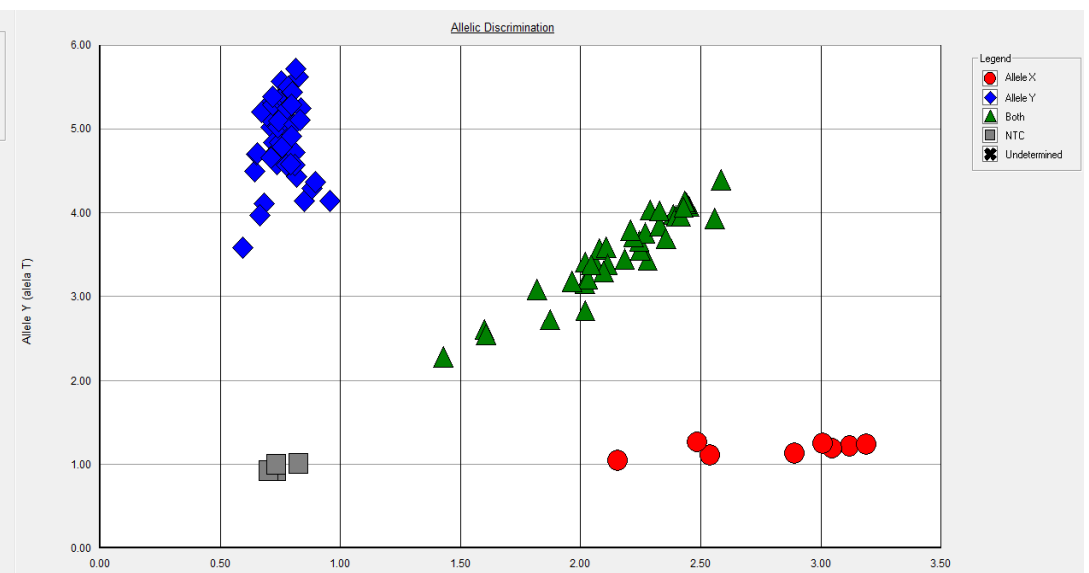
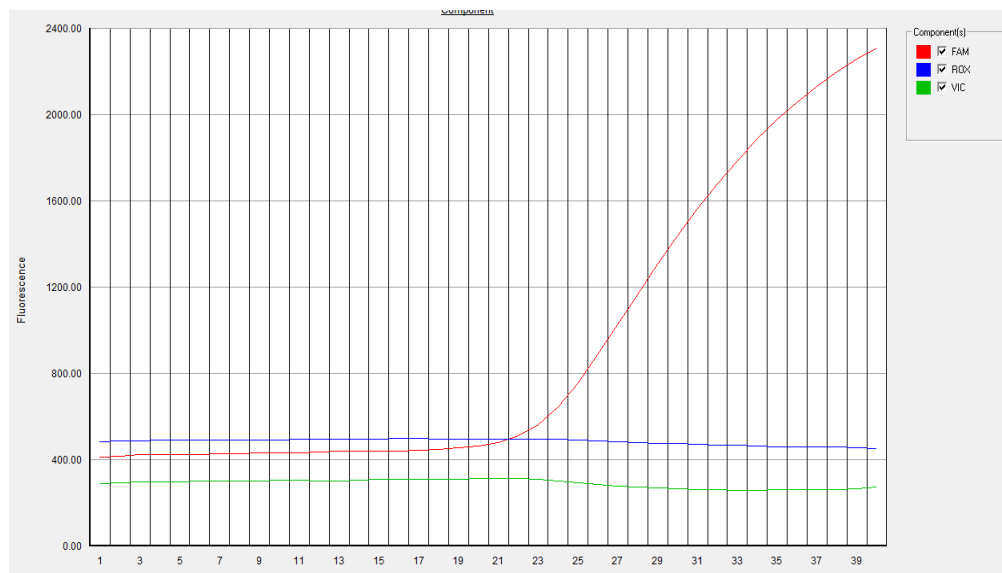
Genetická studie kontrol a případů

- na STK FNUSA klinicky vyšetřeno 637 českých dětí ve věku 11-13 let ze studie ELSPAC
 - ✓ 155 se zdravou denticí (KPE=0)
 - ✓ 482 se zubním kazem (KPE \geq 1)
- izolace DNA ze slin



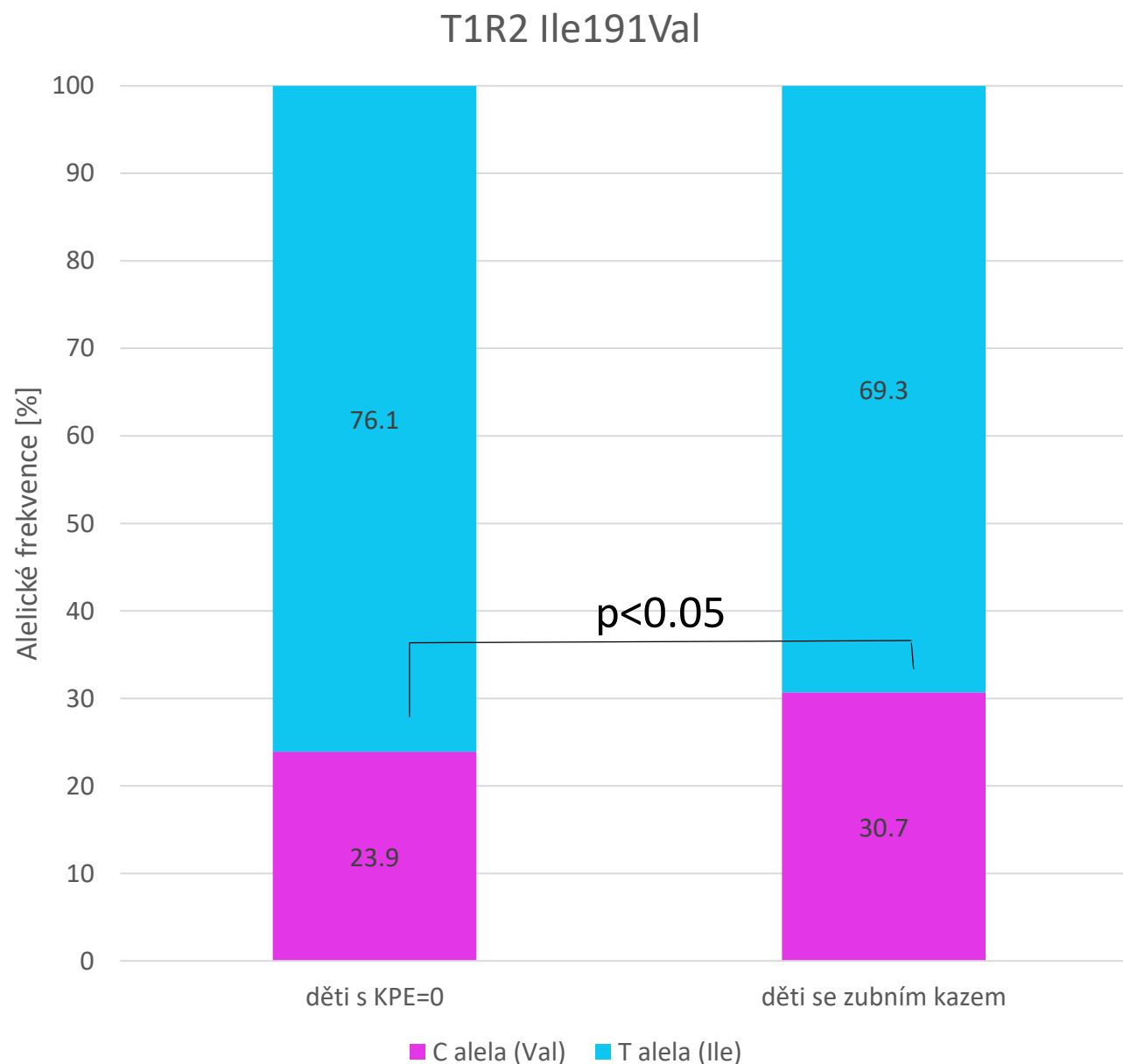
Metodika

- analýza SNPs v genech pro T1R2 (Ile191Val, rs35874116) a glukózový transportér GLUT2 (Thr110Ile, rs5400) – TaqMan realtime PCR metodika



Výsledky

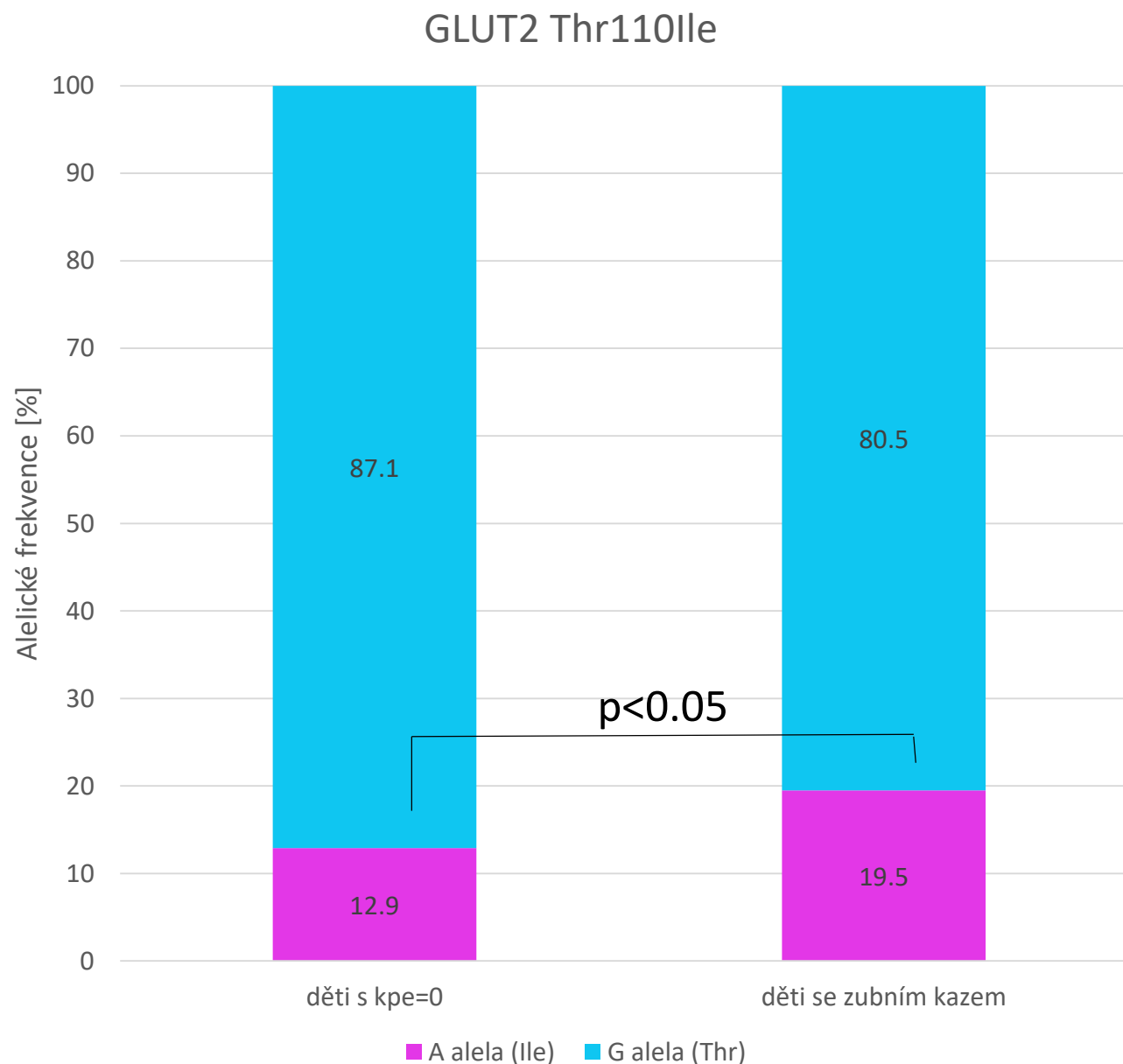
- dentice dětí s alelou C (Val) T1R2 Ile191Val jsou častěji postiženy zubním kazem než je tomu u dětí s alelou T (Ile)
- ✓ $p < 0,05$, OR=1,413, 95% interval spolehlivosti: 1,014-1,969



Výsledky

- dentice dětí s alelou A (Ile) GLUT2 Thr110Ile jsou častěji postiženy zubním kazem než je tomu u dětí s alelou G (Thr)
- ✓ $p < 0,05$, OR=1,639, 95% interval spolehlivosti: 1,089 - 2,466

Pozn. Ile alela spojena s vyšším příjmem cukrů



Shrnutí

- nové poznatky z molekulárně biologických a genetických studií na poli chuťových receptorů mohou přispět k pochopení jejich funkce ve zdraví i nemoci a napomoci tak k vývoji personalizované strategie prevence vzniku a rozvoje vybraných chronických chorob

[dx.doi.org/10.1080/10408398.2016.1152229](https://doi.org/10.1080/10408398.2016.1152229)

Genová variabilita v chuťových receptorech – biomarkery zdraví



■ sladká
 ■ "tučná"
 ■ kyselá
 ■ hořká
 ■ slaná
 ■ umami

Genetické asociační studie - zubní kaz

- DLX3, BMP2 – proteiny hrající úlohu při amelogenezi
- děti 13-15 let s/bez zubního kazu a děti 2-6 let se zubním kazem v dočasné dentici
- SNPs v DLX3 a BMP2 genech - NS

Caries Research

Short Communication

Caries Res 2017;51:590–595
DOI: 10.1159/000479828

Received: June 19, 2017
Accepted after revision: July 27, 2017
Published online: October 24, 2017

Lack of Association between *BMP2/DLX3* Gene Polymorphisms and Dental Caries in Primary and Permanent Dentitions

Jakub Kastovsky^{a, b} Petra Borilova Linhartova^{a, b}
Kristina Musilova^a Lenka Zackova^c Martina Kukletova^a
Lubomir Kukla^d Lydie Izakovicova Holla^{a, b, d}

^aClinic of Stomatology, Institution Shared with St. Anne's Faculty Hospital, ^bDepartment of Pathophysiology, and ^cStomatology Research Center, Faculty of Medicine, and ^dResearch Centre for Toxic Compounds in the Environment (RECETOX), Chemistry Section, Faculty of Science, Masaryk University, Brno, Czech Republic

Individuální náchylnost pacienta k zubnímu kazu a zánětlivým onemocněním v dutině ústní

Genetické asociační studie - zubní kaz

- ENAM – protein hrající úlohu při vývoji skloviny
- děti 13-15 let s/bez zubního kazu a děti 2-6 let se zubním kazem v dočasné dentici
- SNP v ENAM genu - NS

Clinical Oral Investigations
<https://doi.org/10.1007/s00784-017-2280-2>

SHORT COMMUNICATION



Lack of association between *ENAM* gene polymorphism and dental caries in primary and permanent teeth in Czech children

Petra Borilova Linhartova^{1,2} • Tereza Deissova¹ • Kristina Musilova¹ • Lenka Zackova³ • Martina Kukletova¹ • Lubomir Kukla⁴ • Lydie Izakovicova Holla^{1,2,4} 

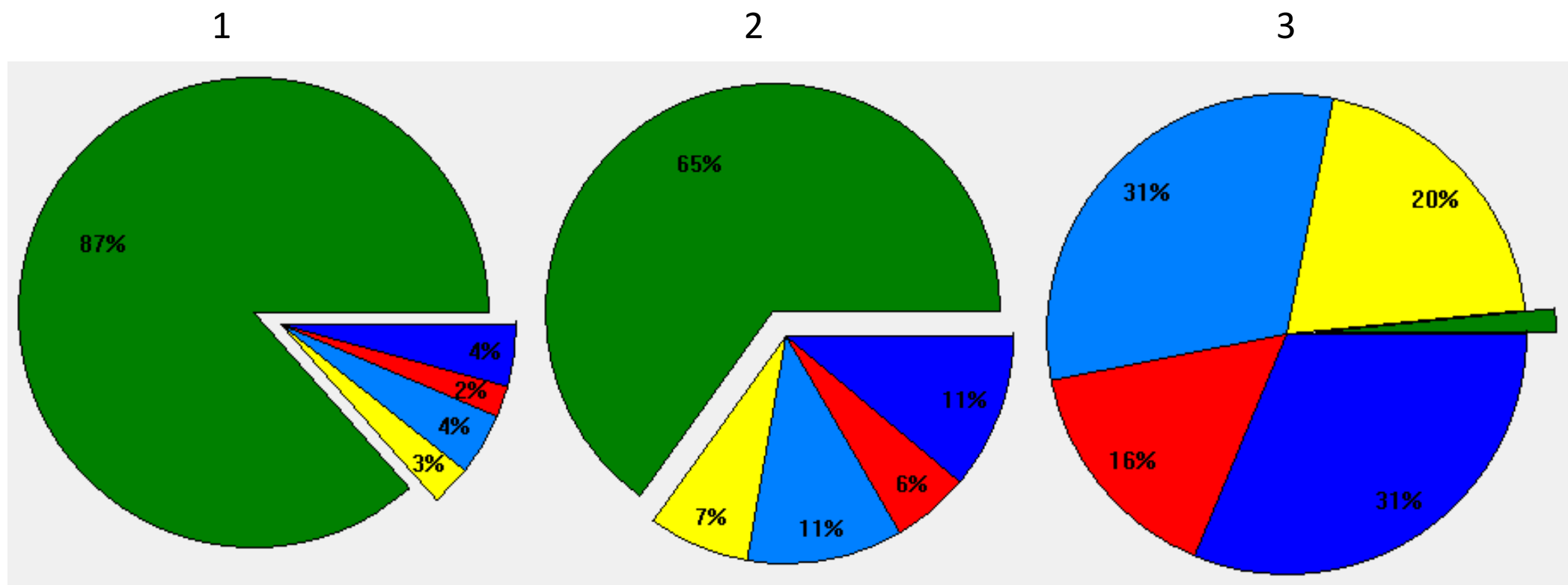
Received: 27 February 2017 / Accepted: 20 November 2017
© Springer-Verlag GmbH Germany, part of Springer Nature 2017

Individuální náchylnost pacienta k zubnímu kazu a zánětlivým onemocněním v dutině ústní

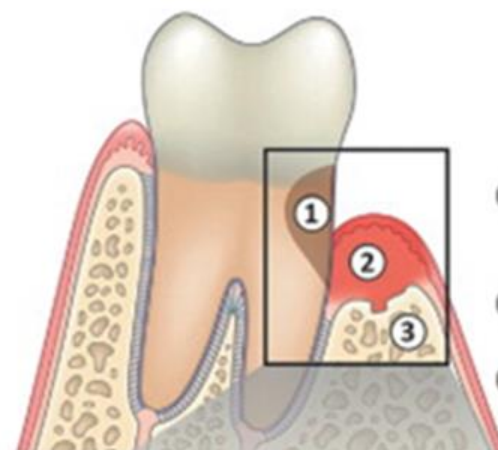
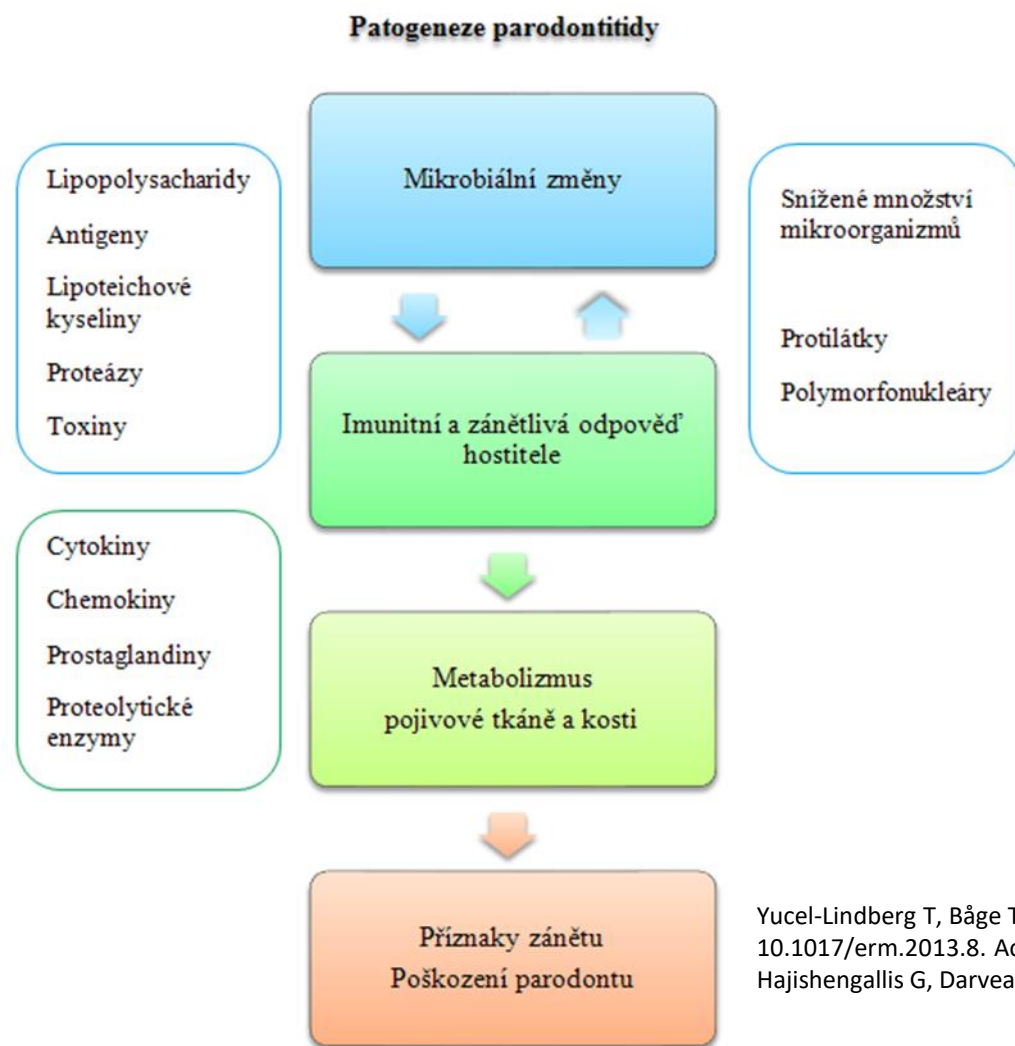
Zubní kaz - hodnocení rizika

Cariogram

- klinické posouzení rizika



Etiopatogeneze parodontopatií



- 1 Biofilm zasahující do parodontální kapsy
- 2 Zánětlivě změněná dásěň
- 3 Resorbovaná kost

Yucel-Lindberg T, Båge T. Inflammatory mediators in the pathogenesis of periodontitis. *Expert Rev Mol Med.* 2013;15:e7. doi: 10.1017/erm.2013.8. Accessed April 16, 2014.

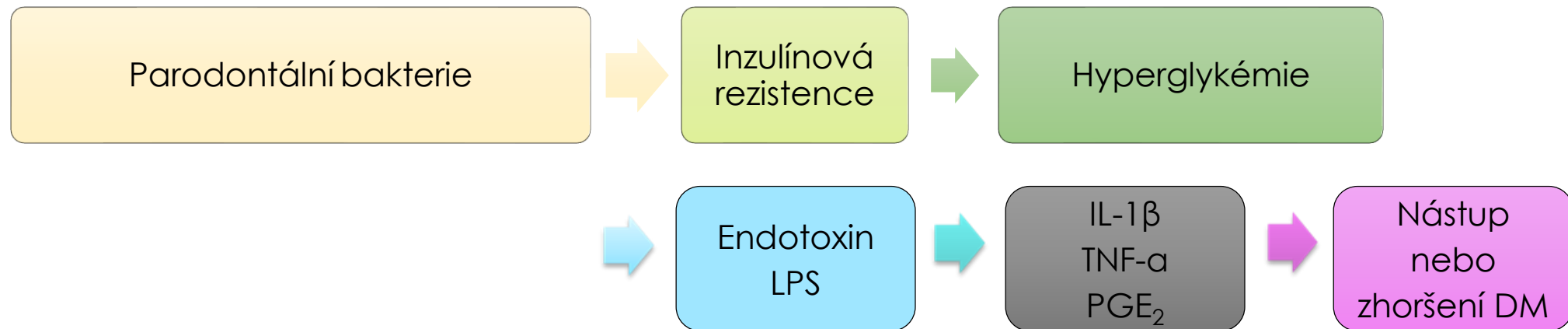
Hajishengallis G, Darveau RP, Curtis MA. The keystone-pathogen hypothesis. *Nat Rev Microbiol.* 2012;10(10):717-725.

Individuální náchylnost pacienta k zubnímu kazu a zánětlivým onemocněním v dutině ústní

Vztah DM a orálního zdraví

- v důsledku rozdílné imuno-/zánětlivé reaktivity na bakteriální osídlení parodontu při hyperglykémii se přibližně 3krát zvyšuje riziko vzniku parodontitidy u diabetiků s nediabetiky

Onemocnění parodontu → Diabetes mellitus



Kuo LC, Polson AM, Kang T. Associations between periodontal diseases and systemic diseases: a review of the inter-relationships and interactions with diabetes, respiratory diseases, cardiovascular diseases and osteoporosis. *Public Health*. 2008;122(4):417-433.

Individuální náchylnost pacienta k zubnímu kazu a zánětlivým onemocněním v dutině ústní

Kandidátní geny pro parodontitidu



MMPs



Cytokiny

ApoE

VDR

CD14



OPG

SPP1

Individuální náchylnost pacienta k zubnímu kazu a zánětlivým onemocněním v dutině ústní

Genetické asociační studie - parodontitida

- ApoE = pluripotentní glykoprotein, role v mtb lipidů, protizánětlivé účinky
- CP vs. kontroly, lipidové koncentrace v plazmě, parodontální bakterie
- CP - ↑TC a LDL (ApoE)

ARCHIVES OF ORAL BIOLOGY 60 (2015) 456–462

Available online at www.sciencedirect.com

ScienceDirect

Journal homepage: <http://www.elsevier.com/locate/aob>


ELSEVIER

Oral Biology

Apolipoprotein E gene polymorphisms in relation to chronic periodontitis, periodontopathic bacteria, and lipid levels

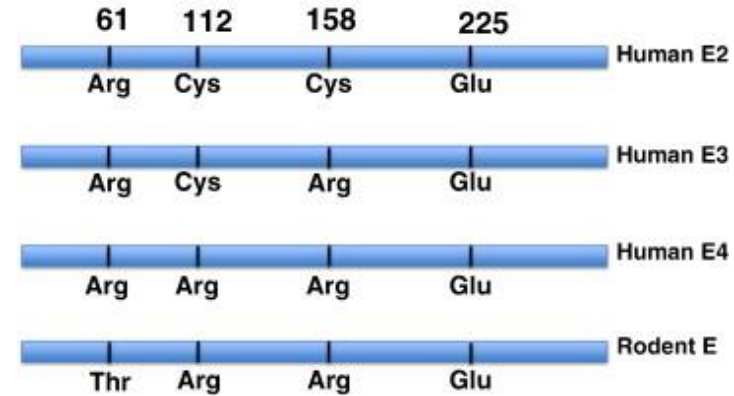
Petra Borilova Linhartova^a, Jirina Bartova^b, Hana Poskerova^c, Jan Machal^a, Jan Vokurka^c, Antonin Fassmann^c, Lydie Izakovicova Holla^{a,c,*}

^a Department of Pathophysiology, Faculty of Medicine, Masaryk University, Brno, Czech Republic
^b Institute of Clinical and Experimental Dental Medicine, General University Hospital and First Faculty of Medicine, Charles University, Prague, Czech Republic
^c Clinic of Stomatology, Institutions Shared with St. Anne's Faculty Hospital, Faculty of Medicine, Masaryk University, Brno, Czech Republic

 CrossMark

Individuální náchylnost pacienta k zubnímu kazu a zánětlivým onemocněním v dutině ústní

ApoE



Isoformy ApoE

- celkem asi 30 isoforem apoE
- v evropské populaci - isoformy E2, E3 a E4, lišící se aminokyselinami na 112. a 158. místě (kódovány alelami $\epsilon 2$, $\epsilon 3$ a $\epsilon 4$) – kodominance
- isoforma E3, v populaci nejvíce rozšířená, leží obecně svými biochemickými a funkčními vlastnostmi mezi E2 a E4
- **genotyp $\epsilon 2/\epsilon 2$** je podmínkou nutnou, ne však postačující k rozvoji **familiární hyperlipidémie III. typu** (FHLP III se vyskytuje u <10% nositelů $\epsilon 2/\epsilon 2$, ostatní jsou spíše normo- až hypolipidemičtí)
- nosičství **alely $\epsilon 4$** je vůbec nejvýznamnější genetickou determinantou pro vznik late-onset **Alzheimerovy demence**

Genetické asociační studie - parodontitida

- IL-4 = inhibuje Th1 a stimuluje Th2
- CP vs. kontroly, *in vitro* stimulace PBMCs, cytokinová produkce po stimulaci parodontální bakterie - *T. forsythia* i *P. intermedia* + IL-4 genotypy + IL-6 koncentrace

Hindawi Publishing Corporation
Mediators of Inflammation
Volume 2014, Article ID 185757, 11 pages
<http://dx.doi.org/10.1155/2014/185757>



Research Article

The Effect of IL-4 Gene Polymorphisms on Cytokine Production in Patients with Chronic Periodontitis and in Healthy Controls

**Jirina Bartova,¹ Petra Borilova Linhartova,² Stepan Podzimek,¹
Tatjana Janatova,¹ Kazi Svobodova,¹ Antonin Fassmann,³ Jana Duskova,¹
Jaromir Belacek,⁴ and Lydie Izakovicova Holla^{2,3}**

¹ Institute of Clinical and Experimental Dental Medicine, General University Hospital and First Faculty of Medicine, Charles University, Karlovo nám. 554/32, 12808 Prague, Czech Republic

² Department of Pathophysiology, Faculty of Medicine, Masaryk University, 65691 Brno, Czech Republic

³ Clinic of Stomatology, Faculty of Medicine, Masaryk University and St. Anne's University Hospital, 65691 Brno, Czech Republic

⁴ Institute of Biophysics and Informatics, First Faculty of Medicine, Charles University, 12108 Prague, Czech Republic

Individuální náchylnost pacienta k zubnímu kazu a zánětlivým onemocněním v dutině ústní

Genetické asociační studie - parodontitida

- IL-8 = chemokin a aktivátor neutrofilních granulocytů, iniciace a amplifikace akutní zánětlivé reakce a chronických zánětlivých procesů
- CP, AgP vs. kontroly, paropatogeny
- CP - protektivní haplotypy, vztah variability v IL-8 sekvenci a přítomnosti specifických bakterií

Hindawi Publishing Corporation
Mediators of Inflammation
Volume 2013, Article ID 342351, 8 pages
<http://dx.doi.org/10.1155/2013/342351>



Clinical Study

Haplotype Analysis of Interleukin-8 Gene Polymorphisms in Chronic and Aggressive Periodontitis

**Petra Borilova Linhartova,¹ Jan Vokurka,² Hana Poskerova,²
Antonin Fassmann,² and Lydie Izakovicova Holla^{1,2}**

¹ Department of Pathophysiology, Faculty of Medicine, Masaryk University, 625 00 Brno, Czech Republic

² Clinic of Stomatology, Institutions Shared with St. Anne's Faculty Hospital, Faculty of Medicine, Masaryk University, 656 91 Brno, Czech Republic

Individuální náchylnost pacienta k zubnímu kazu a zánětlivým onemocněním v dutině ústní

Genetické asociační studie - parodontitida

- IL-17 = pluripotentní cytokin, autoimunita (akcelerace apoptózy β buněk pankreatu), obranné reakce proti bakteriálním a kvasinkovým infekcím aktivací produkce antimikrobiálních peptidů a prozánětlivých cytokinů, chemokinů, MMPs a proteinů zapojených v mtb kostí
- T1DM (+CP), CP vs. kontroly, IL-17 koncentrace u PBMCs po stimulaci, paropatogeny
- *IL-17A* –197 A alela riziková pro T1DM, A alela - \uparrow c HbA1c u T1DM
- A alela - \uparrow c IL-17 v PBMCs (stimul *P. gingivalis* i nestimul)
- SNP + bakterie červeného komplexu u CP i T1DM+ CP

Hindawi Publishing Corporation
 Mediators of Inflammation
 Volume 2016, Article ID 2979846, 9 pages
<http://dx.doi.org/10.1155/2016/2979846>



Research Article

Interleukin-17A Gene Variability in Patients with Type 1 Diabetes Mellitus and Chronic Periodontitis: Its Correlation with IL-17 Levels and the Occurrence of Periodontopathic Bacteria

Petra Borilova Linhartova,^{1,2} Jakub Kastovsky,^{1,2} Svetlana Lucanova,¹ Jirina Bartova,³ Hana Poskerova,¹ Jan Vokurka,¹ Antonin Fassmann,¹ Katerina Kankova,² and Lydie Izakovicova Holla^{1,2}

¹Clinic of Stomatology, Institutions Shared with St. Anne's Faculty Hospital, Faculty of Medicine, Masaryk University, 656 91 Brno, Czech Republic

²Department of Pathophysiology, Faculty of Medicine, Masaryk University, 625 00 Brno, Czech Republic

³Institute of Clinical and Experimental Dental Medicine, General University Hospital and First Faculty of Medicine, Charles University, 128 08 Prague, Czech Republic

Individuální náchylnost pacienta k zubnímu kazu a zánětlivým onemocněním v dutině ústní

Genetické asociační studie - parodontitida

- IL-1 a IL-6 = prozánětlivé cytokiny
- pilotní data

Původní práce
Original Article

Genová variabilita v imunoregulačních faktorech u pacientů s chronickou parodontitidou a diabetes mellitus

(Původní práce – experimentální studie)

Gene Variability in Immunoregulatory Factors in Patients with Chronic Periodontitis and Diabetes Mellitus

(Original Article – Experimental Study)

Bořilová Linhartová P.^{1,2}, Valová S.², Kaštovský J.^{1,2}, Poskerová H.¹, Vokurka J.¹, Fassmann A.¹, Izakovičová Hollá L.^{1,2}

¹Stomatologická klinika LF MU a FN u sv. Anny, Brno

²Ústav patologické fyziologie LF MU, Brno

ČESKÁ
STOMATOLOGIE
ročník 115,
2015, 4,
s. 89–97

Individuální náchylnost pacienta k zubnímu kazu a zánětlivým onemocněním v dutině ústní

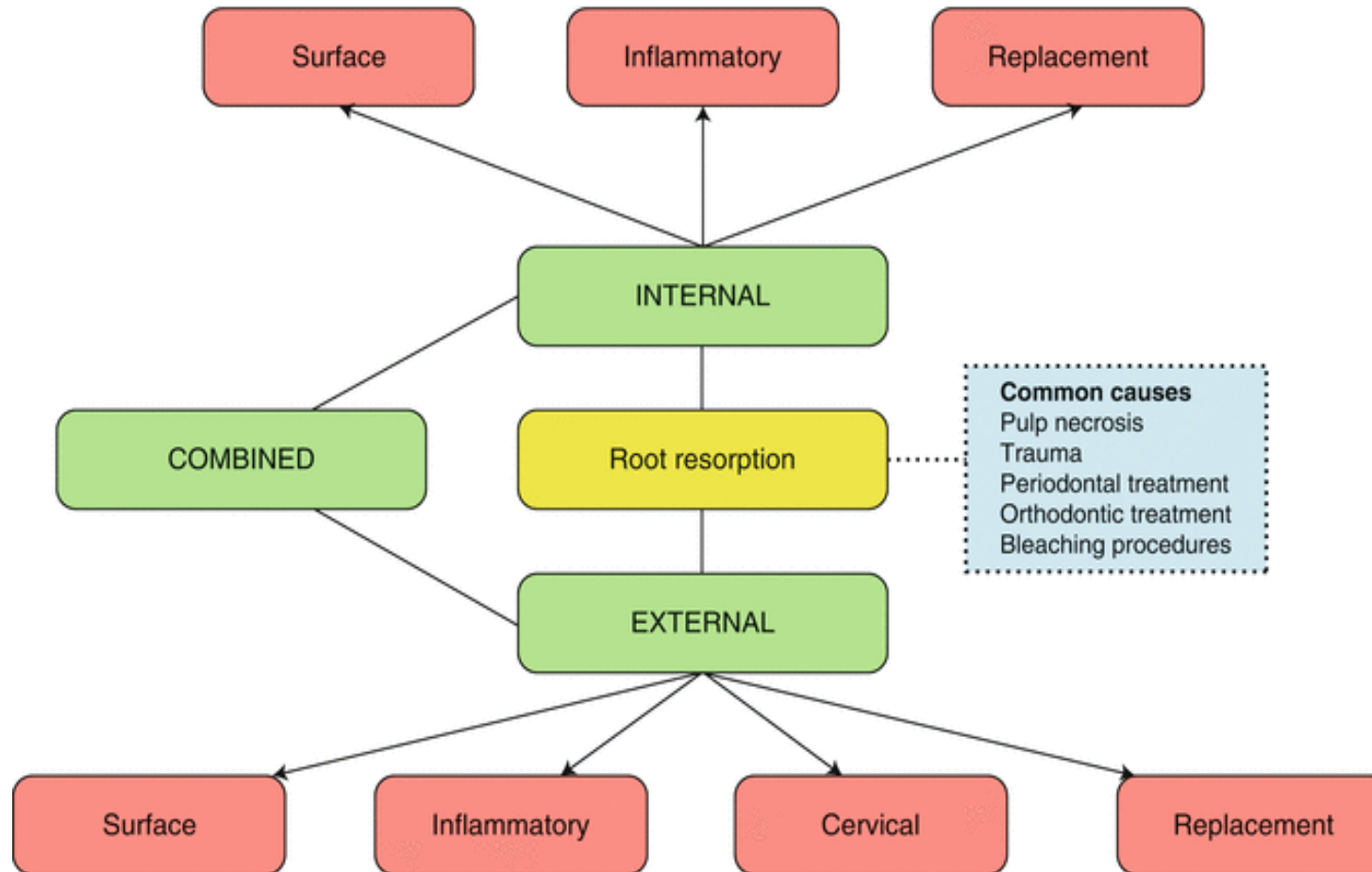
Individuální náchylnost k parodontitidě - test

PerioPredict x OralDNALabs x GenoType IL-1

- IL-1 genové varianty



Etiopatogeneze EARR



Darcey J, Qualtrough A. Resorption: part 1. Pathology, classification and aetiology. Br Dent J. 2013 May;214(9):439-51. doi: 10.1038/sj.bdj.2013.431.

Individuální náchylnost pacienta k zubnímu kazu a zánětlivým onemocněním v dutině ústní

Kandidátní geny pro EARR



Cytokiny

P2RX7

VDR



OPG

SPP1

Individuální náchylnost pacienta k zubnímu kazu a zánětlivým onemocněním v dutině ústní

Genetické asociační studie - EARR

- IL-1 = α a β formy (pro-), antagonist receptoru (protizánětlivý)
- EARR vs. kontroly, po ortodontické léčbě, 11-21 let
- IL-1RN – krátká alela riziková pro vznik EARR u dívek

ORAL DISEASES

Oral Diseases (2013) 19, 262–270 doi:10.1111/j.1601-0825.2012.01973.x

© 2012 John Wiley & Sons A/S

All rights reserved

www.wiley.com

ORIGINAL ARTICLE

***IL1* gene polymorphisms in relation to external apical root resorption concurrent with orthodontia**

P Linhartova¹, P Cernochova², L Izakovicova Holla^{1,2}

¹Department of Pathophysiology, Faculty of Medicine, Masaryk University, Brno, Czech Republic; ²Clinic of Stomatology, Institutions Shared with St. Anne's Faculty Hospital, Faculty of Medicine, Masaryk University, Brno, Czech Republic

Individuální náchylnost pacienta k zubnímu kazu a zánětlivým onemocněním v dutině ústní

Genetické asociační studie - EARR

- P2RX7, IL-17, SPP1, OPG
- EARR vs. kontroly, po ortodontické léčbě, 11-21 let
- délka léčby i P2RX7 haplotyp rizikový pro EARR



Oral Diseases (2017) 23, 29–35 doi:10.1111/odi.12564
© 2016 John Wiley & Sons A/S. Published by John Wiley & Sons Ltd
All rights reserved

www.wiley.com

ORIGINAL ARTICLE

Genetic determinants and postorthodontic external apical root resorption in Czech children

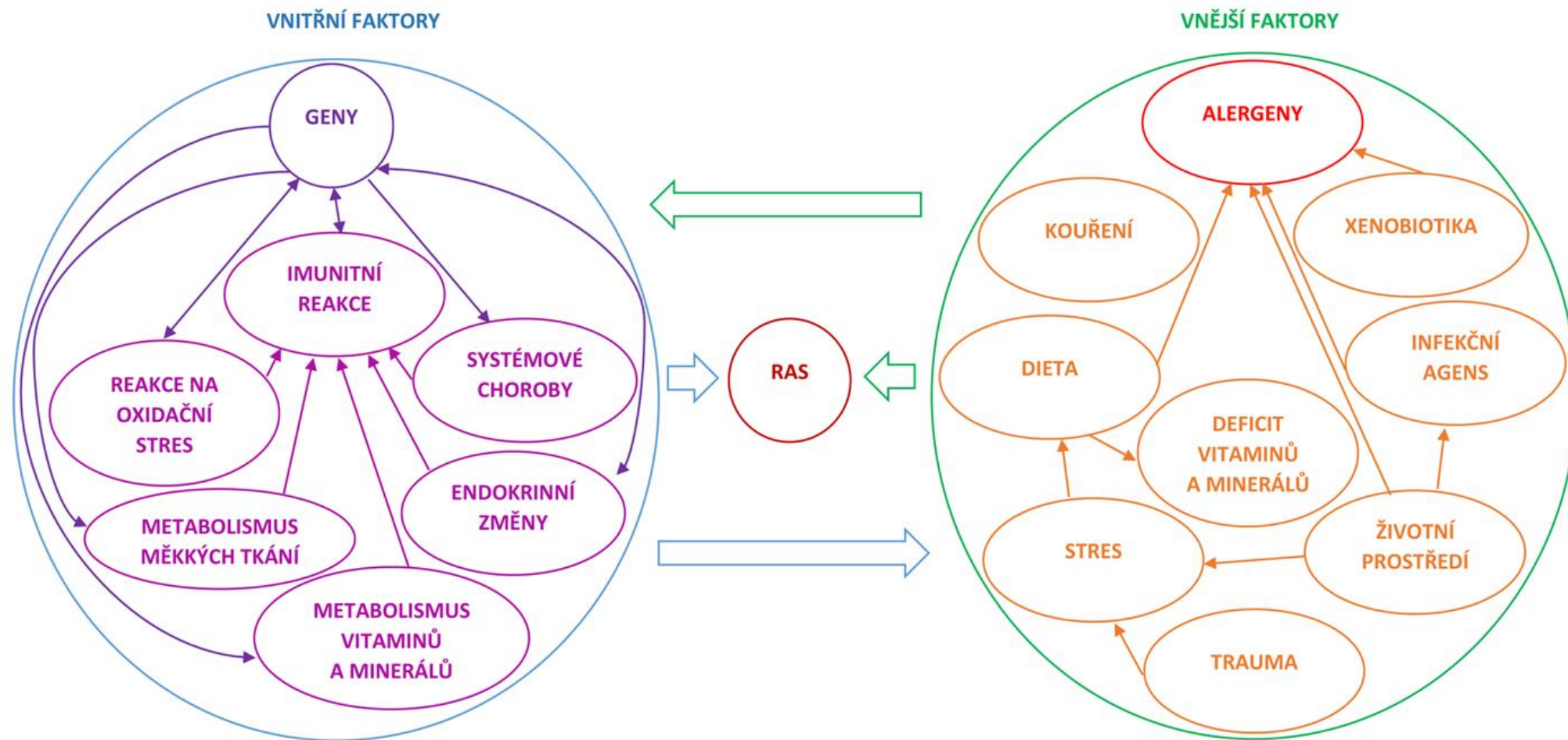
P Borilova Linhartova^{1,2}, P Cernochova¹, J Kastovsky^{3,*}, Z Vrankova^{3,*}, M Sirotkova^{3,*},
L Izakovicova Holla^{1,2}

¹Clinic of Stomatology, Institutions Shared with St. Anne's Faculty Hospital, Faculty of Medicine, Masaryk University, Brno;

²Department of Pathophysiology, Faculty of Medicine, Masaryk University, Brno; ³Faculty of Medicine, Masaryk University, Brno, Czech Republic

Individuální náchylnost pacienta k zubnímu kazu a zánětlivým onemocněním v dutině ústní

Etiopatogeneze RAS



Individuální náchylnost pacienta k zubnímu kazu a zánětlivým onemocněním v dutině ústní

Kandidátní geny pro RAS

Přehledový článek
Review

Vrozená náchylnost k recidivující aftózní stomatitidě

(Přehledový článek)

Genetic Predisposition to Recurrent Aphthous Stomatitis

(Review)

Bořilová Linhartová P.^{1,2}, Valová S.^{1,2}, Izakovičová Hollá L.^{1,2}

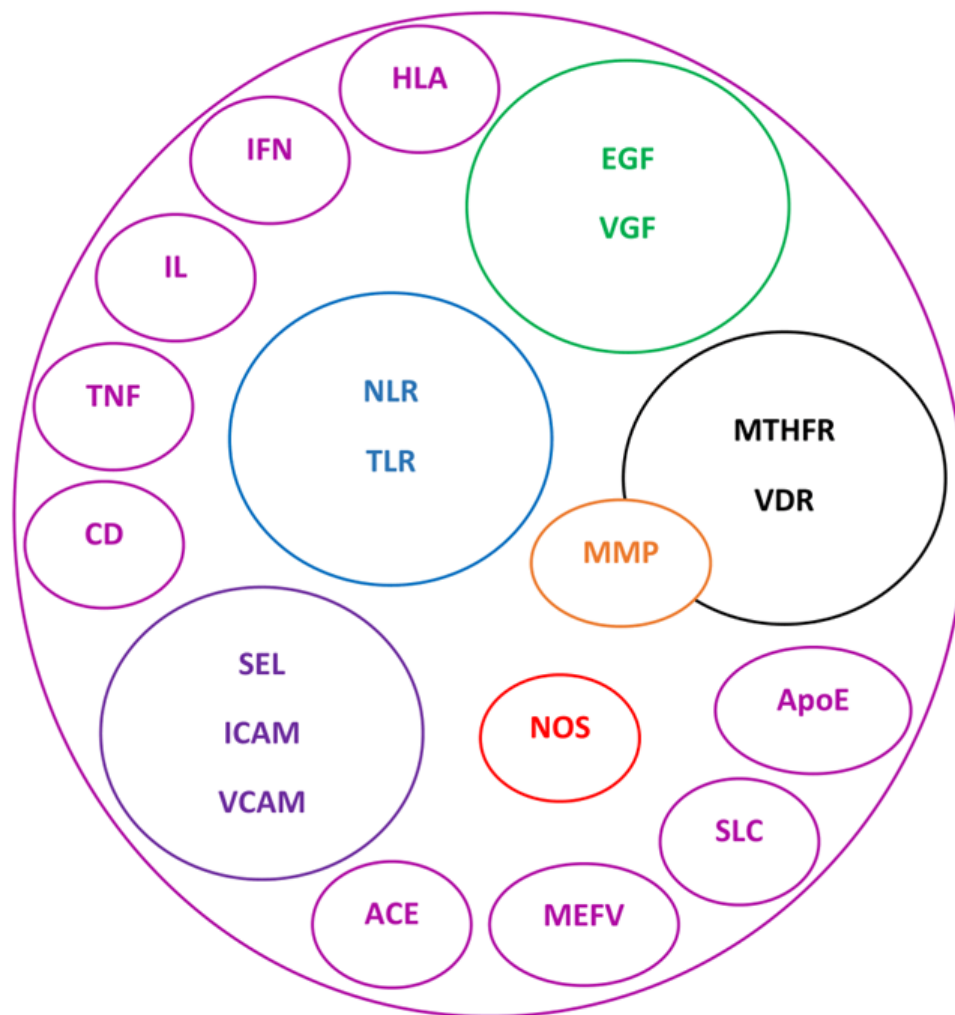
¹Stomatologická klinika LF MU a FN u sv. Anny, Brno

²Ústav patologické fyziologie LF MU, Brno

ČESKÁ
STOMATOLOGIE
ročník 117,
2017, 2,
s. XX-XX

Individuální náchylnost pacienta k zubnímu kazu a zánětlivým onemocněním v dutině ústní

Kandidátní geny pro RAS



IMUNITNÍ REAKCE

RŮSTOVÉ FAKTORY

RECEPTORY PRO PAMP

ADHEZNÍ MOLEKULY

METABOLISMUS VITAMINŮ A MINERÁLŮ

METABOLISMUS MĚKKÝCH TKÁNÍ

REAKCE NA OXIDAČNÍ STRES

Individuální náchylnost pacienta k zubnímu kazu a zánětlivým onemocněním v dutině ústní

Genetické asociační studie - RAS

- IL-1 a IL-6 = prozánětlivé cytokiny
- pacienti s RAS vs. kontroly, vyloučení osob s chorobami projevujícími se vředy
- SNPs v IL-1 a IL-6 genech - NS

Accepted: 16 May 2017

DOI: 10.1111/jop.12594

ORIGINAL ARTICLE

WILEY Journal of
Oral Pathology & Medicine

Association study of *interleukin-1* family, *interleukin-6*, and its receptor gene polymorphisms in patients with recurrent aphthous stomatitis

Lydie Izakovicova Holla^{1,2}  | Simona Valova^{1,2} | Petra Borilova Linhartova^{1,2} |
Jirina Bartova³ | Jitka Petanova⁴ | Pavel Kuklinek⁵ | Antonin Fassmann¹

Individuální náchylnost pacienta k zubnímu kazu a zánětlivým onemocněním v dutině ústní

Genetické asociační studie - RAS

- NLRP3 = inflamzóm
- pacienti s RAS vs. kontroly, vyloučení osob s chorobami projevujícími se vředy
- jen *NLRP3* rs4612666 TT genotyp asociován s rizikem RAS



ORIGINAL ARTICLE

Association of the NOD-like receptor 3 (*NLRP3*) gene variability with recurrent aphthous stomatitis in the Czech population

Simona Slezakova, Petra Borilova Linhartova, Lucie Masopustova, Jirina Bartova, Jitka Petanova, Pavel Kuklinek, Antonin Fassmann, Ladislav Dusek, Lydie Izakovicova Holla ✉

Farmakogenetická studie

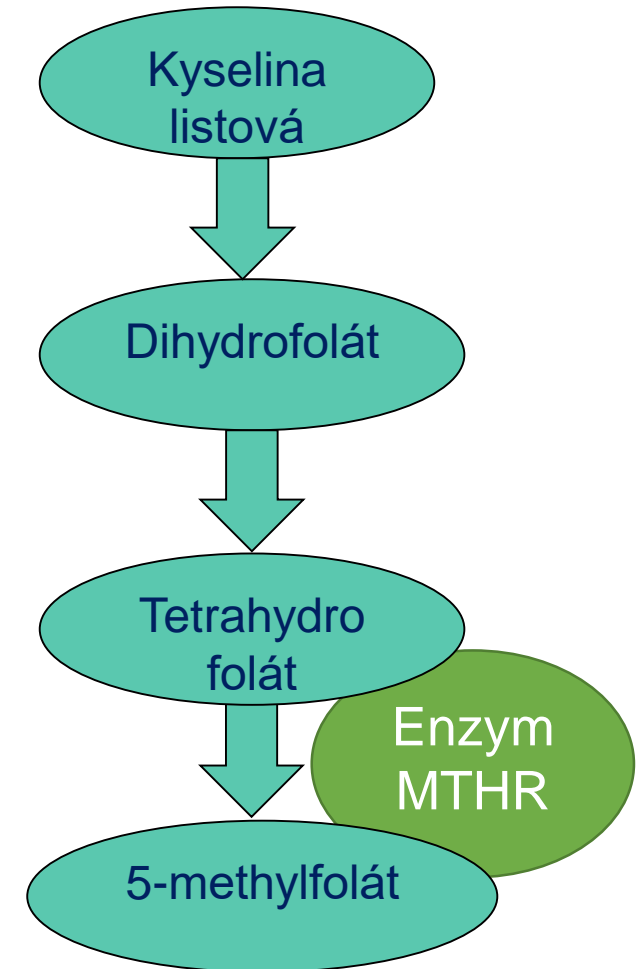
- symptomatická terapie, podpůrná terapie – **Škachova kúra**

kyselina listová, pyridoxin

- kyselina listová je pouze prekurzorem biologicky aktivní látky – folátu označeného jako vitamin B₉
- glukosaminová sůl 5-methylfolátu (4. generace) - oproti 3. generaci je dlouhodobě stabilní, má vysokou rozpustnost ve vodě, lepší biologickou dostupnost a bezpečnost






Farmakogenetická studie

- MTHFR (methylen-tetrahydrofolát-reduktáza)
 - polymorfizmy: C677T, A1298C
 - geneticky podmíněná snížená aktivita enzymu
 - zpomalená metylace homocysteinu na methionin
 - akumulace homocysteinu v plazmě
 - KV riziko
 - ❖ Zvýšená prevalence tromboembolických poruch u nositelů
 - ❖ u homozygotních nositelek variantních alel zvýšené riziko spontánních abortů
 - ❖ vyšší toxicita cytostatika CMF (cyklofosfamid, MTX, 5-FU)



Farmakogenetická studie

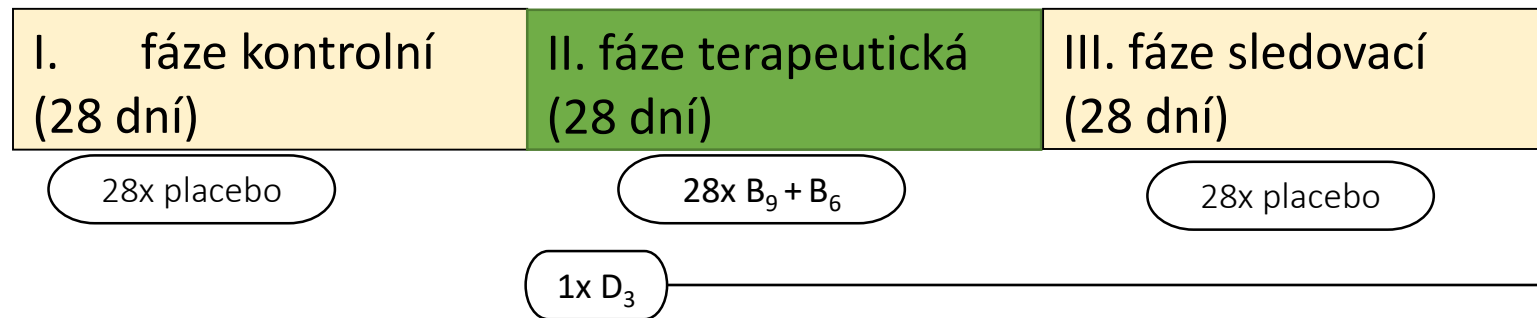
- Pilotní studie

SNP	A1298C <i>MTHFR</i> (rs1801131) MAF (C)=34 %			
	genotyp	AA	AC	CC
	funkce enzymu <i>MTHFR</i>	100 %	80-100 %	60 %
	frekvence v EUR populaci	43 %	45 %	12 %
C677T <i>MTHFR</i> (rs1801133) MAF (T)=31 %	CC	--/--	--/+-	--/++
	100 %	100%	80%	60%
	46 %	EM	EM	IM 
	CT	+/---	+/-+-	+-/++
	65 %	65%	50%	30%
	44 %	IM 	IM 	PM
	TT	++/--	++/+-	++/++
	20 %-30 %	<30%	<30%	<10%
	10 %	PM 	PM 	PM

**haplogenotyp
funkce enzymu *MTHFR*
předpokládaný fenotyp
osoby s RAS v naší studii**

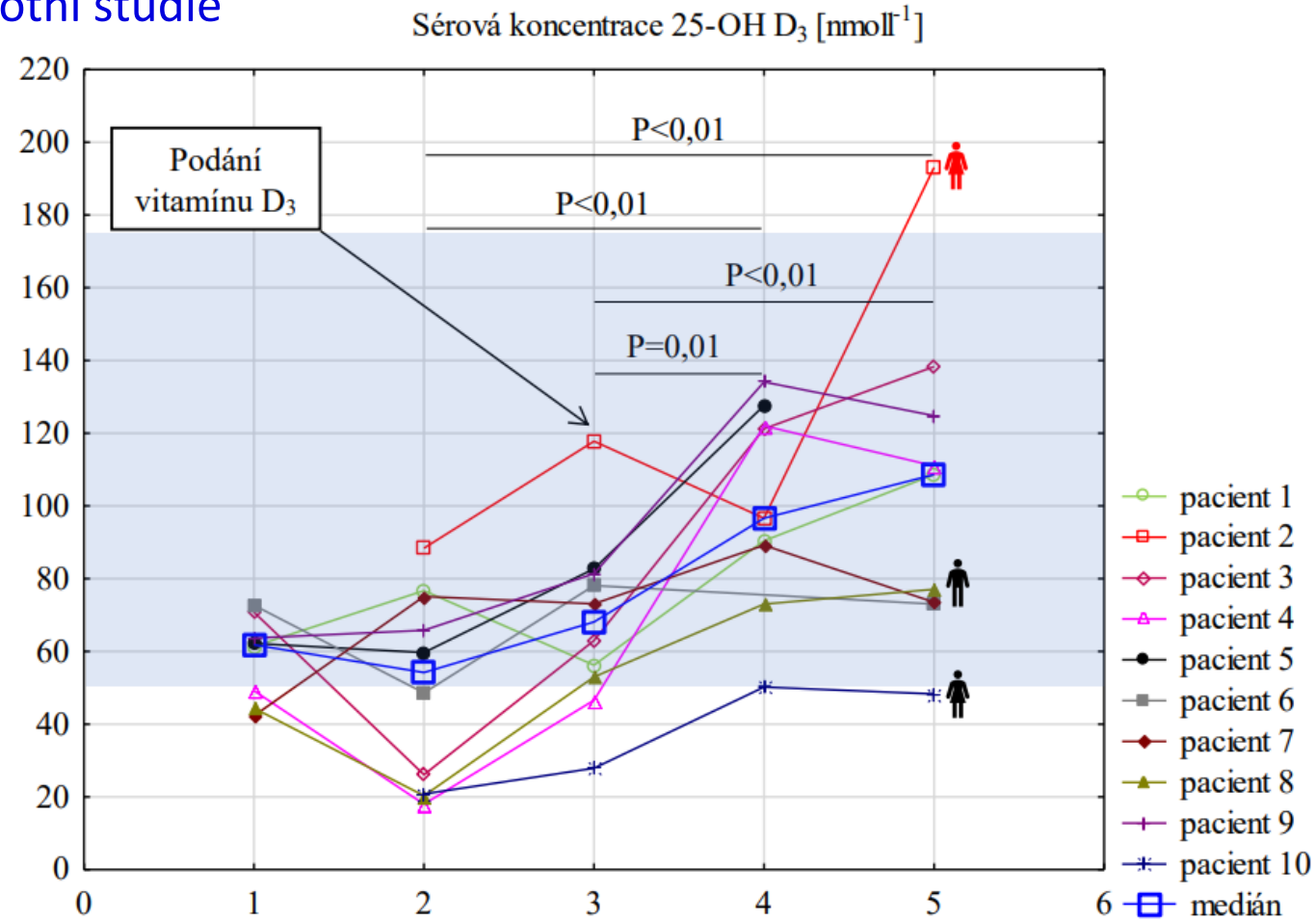
Farmakogenetická studie

- Design pilotní studie
 - 10 pacientů – genotypizovaní na haplogenotypy v genu MTHFR (IM a PM)
 - Farmakoterapie v upraveném designu dvojitě zaslepené zkřížené studie (cross-over design) probíhala od jara 2018 v délce trvání 3 měsíců.
 - Pacientům byl ve třífázovém schématu podáván aktivní folát (glukosaminová sůl 5-methylfolátu), vitamíny B₆ a D₃



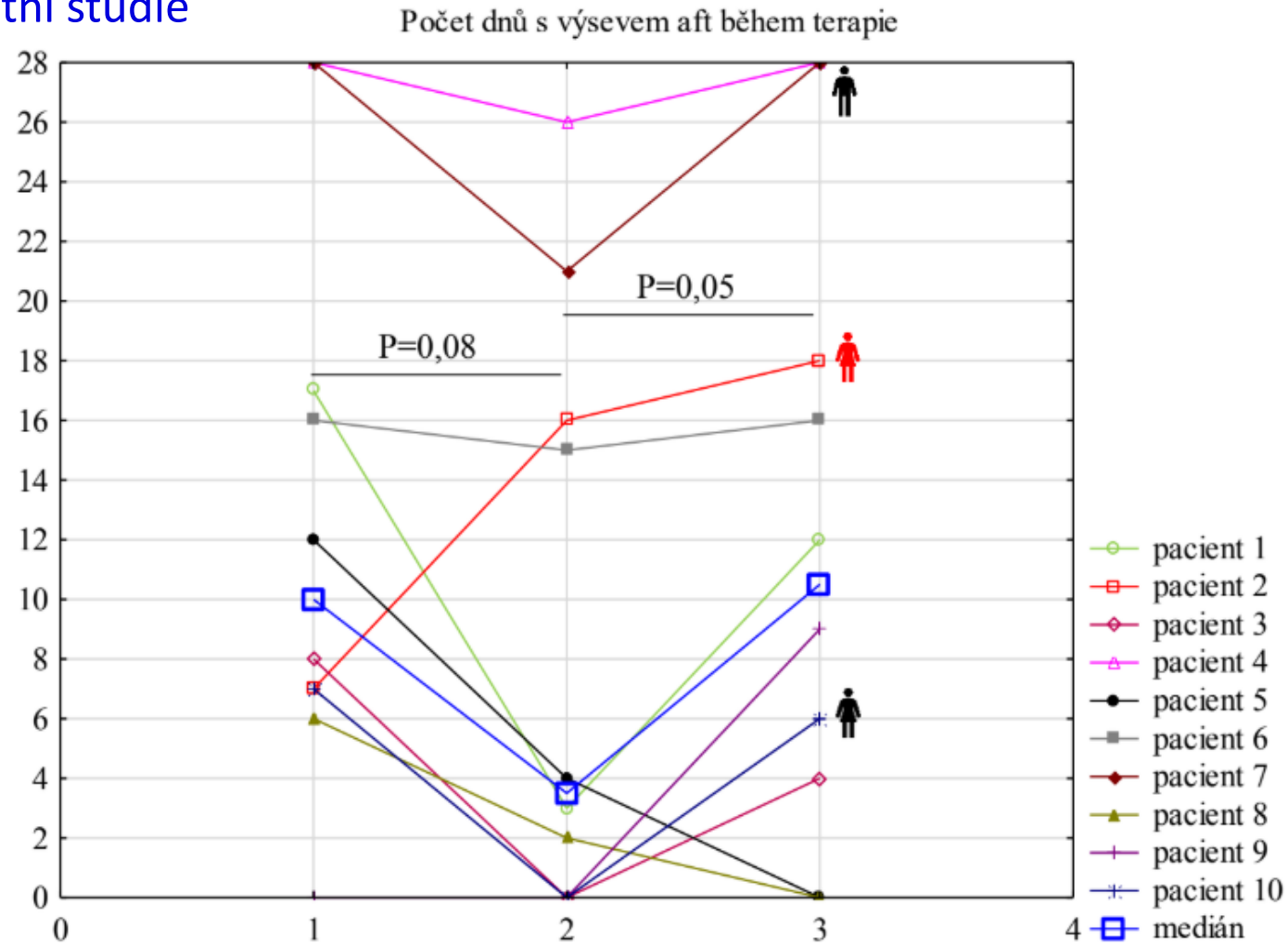
Farmakogenetická studie

- Výsledky pilotní studie



Farmakogenetická studie

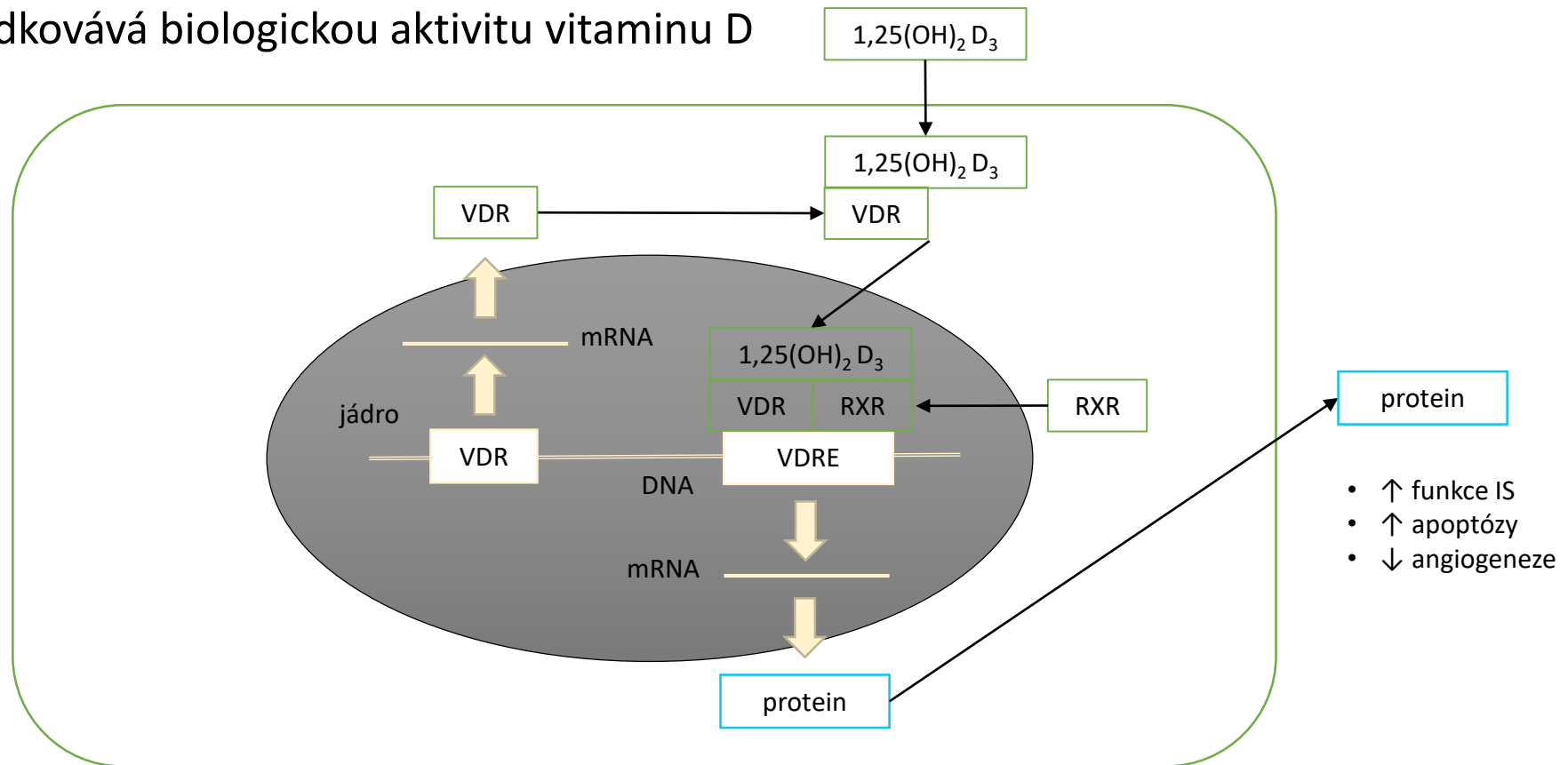
- Výsledky pilotní studie



Farmakogenetická studie

- VDR

– zprostředkovává biologickou aktivitu vitamínu D



Upraveno dle Khan TA, et al., 2015

