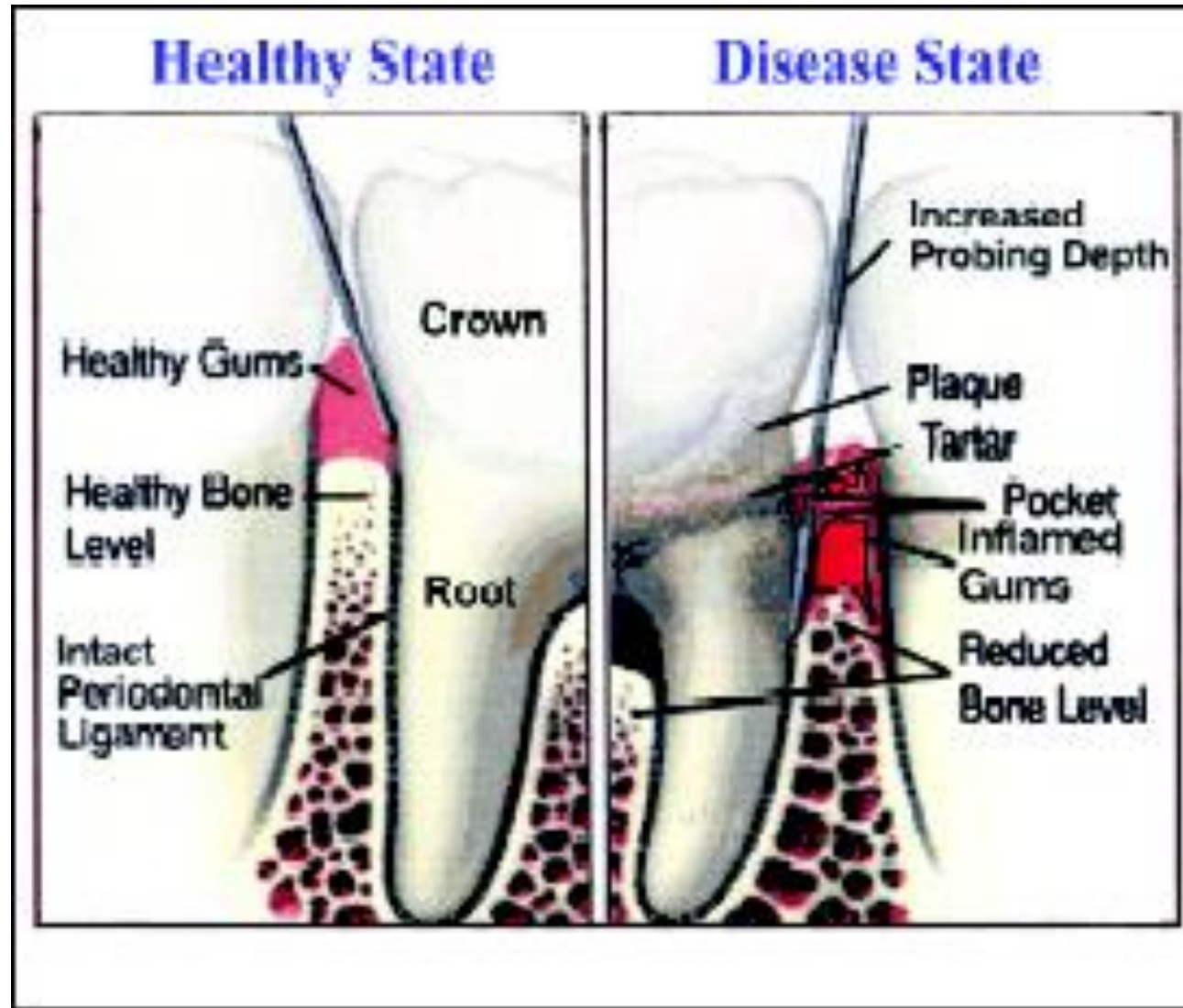


MUNI
MED

Genetika v ZL

Zánětlivé postižení parodontu



PERIODONTAL DISEASE



Periodontitis

- Advanced gum inflammation
- Bone loss
- Destruction of ligaments

Gingivitis

- Inflamed Gums

Monogenní onemocnění

- Jasná demonstrace genetické mutace v jednom lokusu podmiňuje náchylnost k rozvoji periodontitidy.

TABLE 2**Examples of Syndromic Forms of Periodontitis in Which Inheritance is Mendelian and Due to a Genetic Alteration at a Single Gene Locus**

Condition	Biochemical/Tissue Defect	Inheritance	OMIM
Papillon-Lefèvre syndrome	Cathepsin C	AR	245000
Haim-Munk syndrome	Cathepsin C	AR	245100
Ehlers-Danlos syndrome type 4	Collagen	AD	130050
Ehlers-Danlos syndrome 8	Collagen	AD	130080
Cyclic neutropenia	neutrophil elastase	AD	162800
Chronic familial neutropenia	Defect unknown	AD	162700
Chediak-Higashi syndrome	lysosomal trafficking regulator gene	AR	214500
Congenital disorder of glycosylation type IIc	GDP-fucose transporter-1	AR	266265
Leukocyte adhesion deficiency type 1	Leukocyte chain adhesion molecule CD18	AR	116920

Papillon LeFevre Syndrom (PLS)



Klinicky charakterizováno jako:

Palmoplantární hyperkeratosa

Těžký časný nástup parodontitidy, která vede k předčasné ztrátě primárního a sekundárního chrupu (odlišuje PLS od jiných palmoplantárních keratodermií)

Prevalence 1/4 miliony

Bez vztahu k pohlaví

CTSC gen kodující Katepsin C proteázu

CTSC gen leží na chromosomu 11q14-Q21; 7 exonů kóduje lysozomální proteázu katepsin C

Je exprimována ve vysokých hladinách v různých imunitních buňkách, včetně polymorfonukleárních leukocytů, makrofágů a v epiteliálních oblastech běžně postižených PLS, včetně dlaně, plosky, kolena, a ústní keratinizované gingivy (RT-PCR) (Hart et al., 1999).

Kathepsin C je proteáza, která zpracovává a aktivuje řadu granulárních serinových proteáz důležitých pro imunitní a zánětlivé reakce myeloidních a lymfoidních leukocytů

Mutace v genu pro katepsinu C (CTSC)

Exon 1 „nonsense“ mutace (856C→T): předčasný stop kodon v pozici 286. aminokyseliny

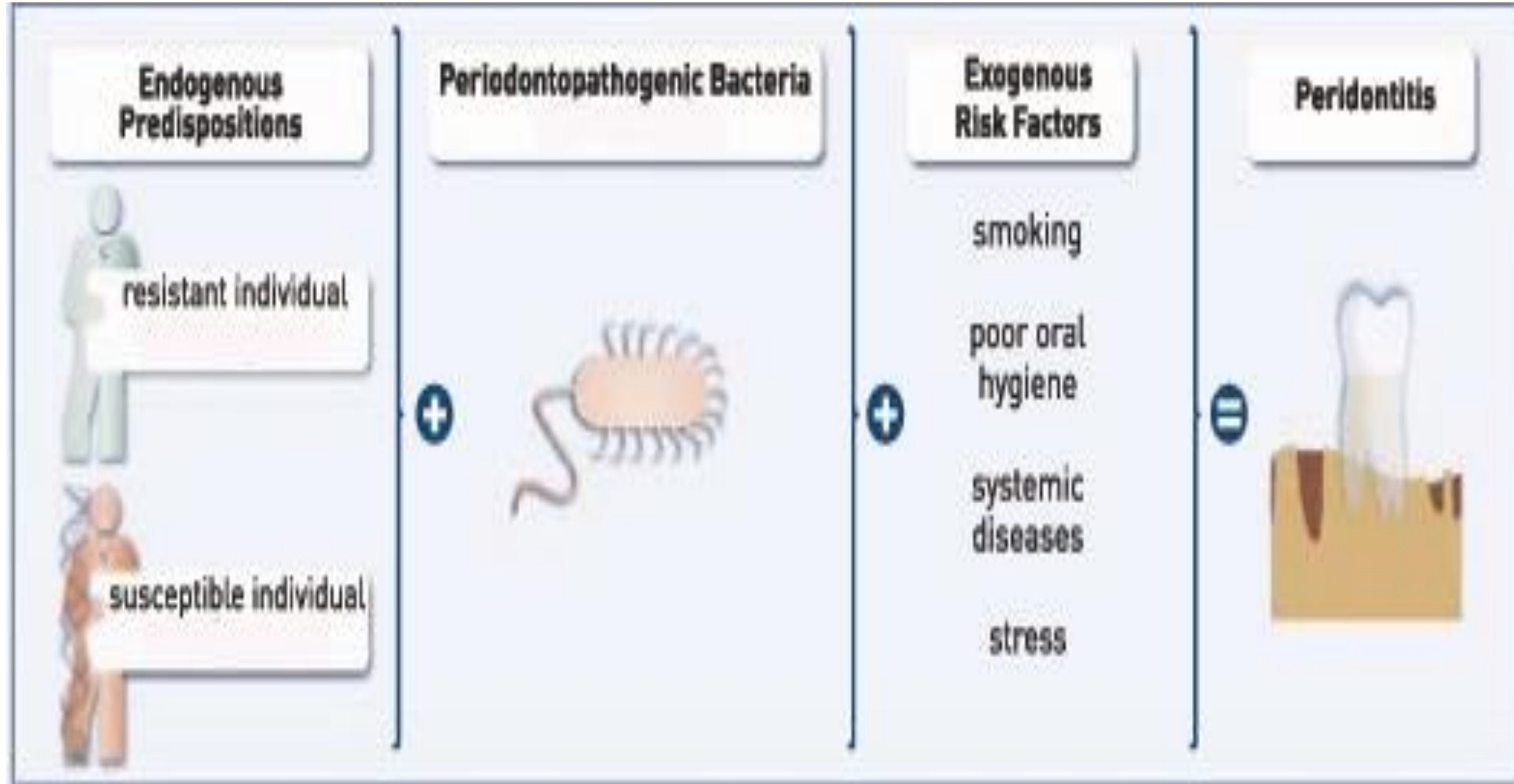
Tři mutace v exonu 2:

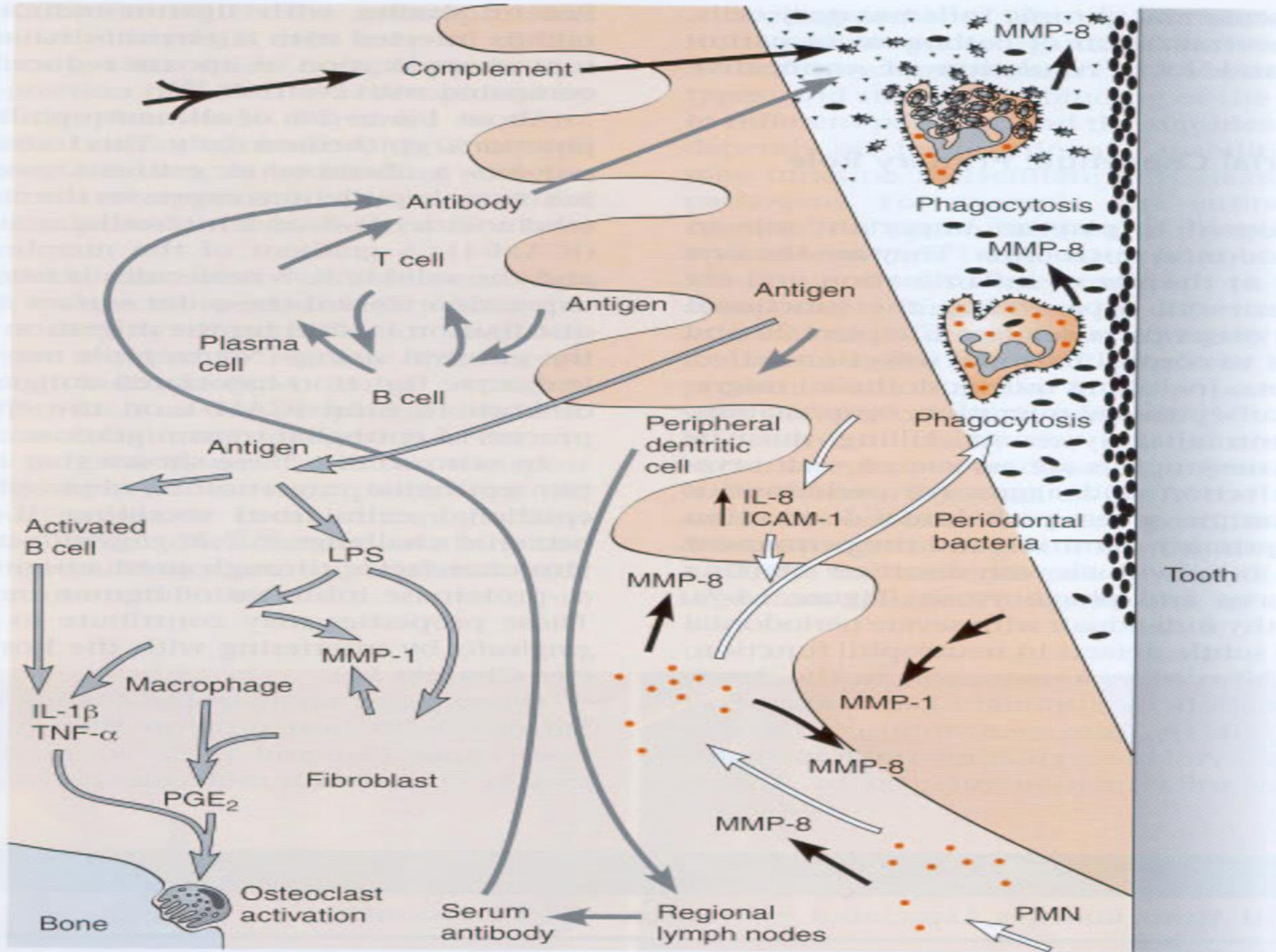
delece jednoho nukleotidu (2692delA) v kodonu 349: frameshift a předčasný stop kodon,
2 bp delece (2673-2674delCT): stop kodon v pozici aminokyseliny 343,
substituce G/A v kodonu 429 (2931G/A): předčasným stop kodon.

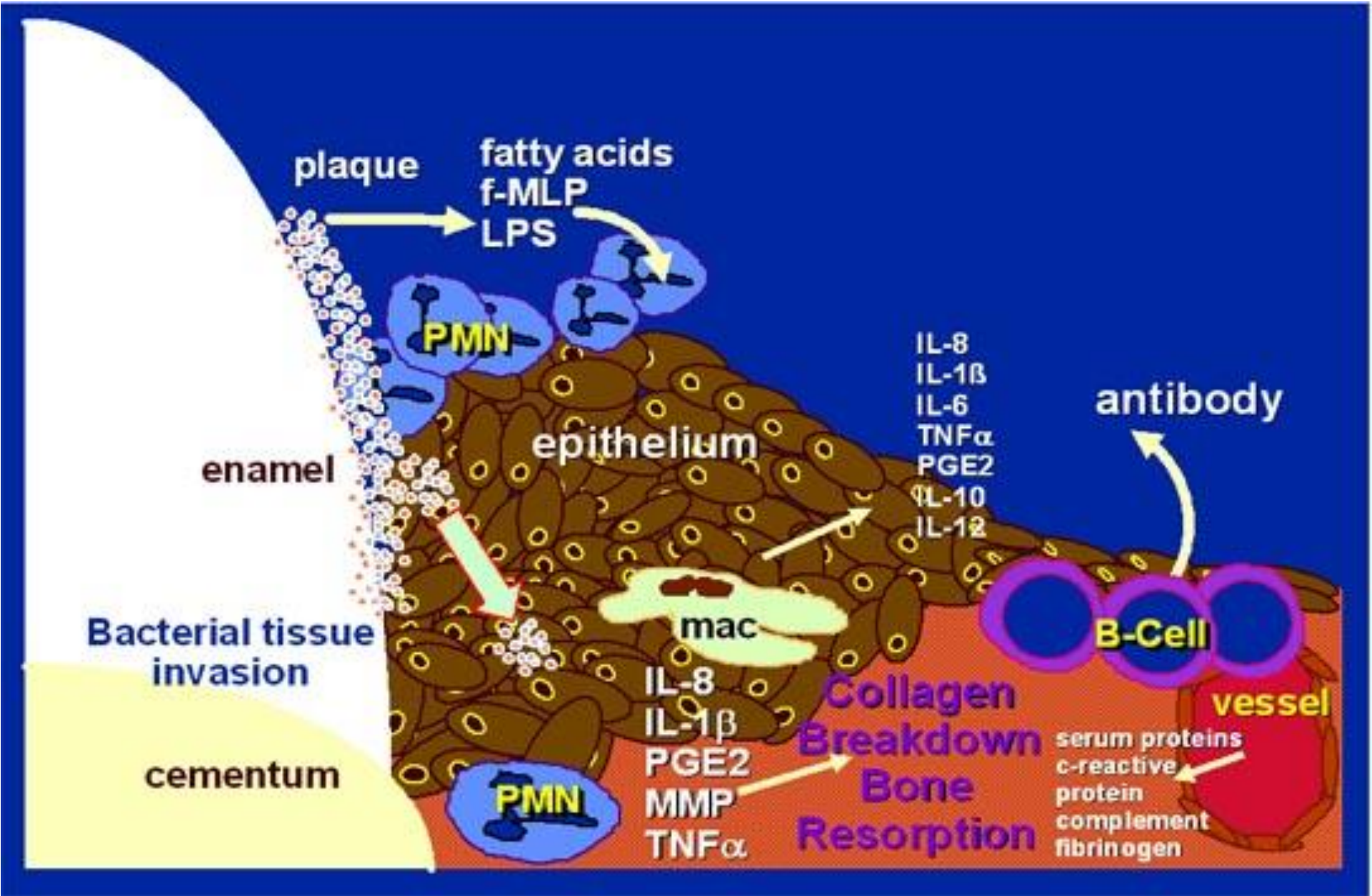
Zkrácený nebo konformačně alterovaný proteinu nemusí být transportován do organely a nemusí být schopen aktivovat protein kinázy

Jinými slovy, aktivita Katepsinu C u těchto pacientů téměř chybí

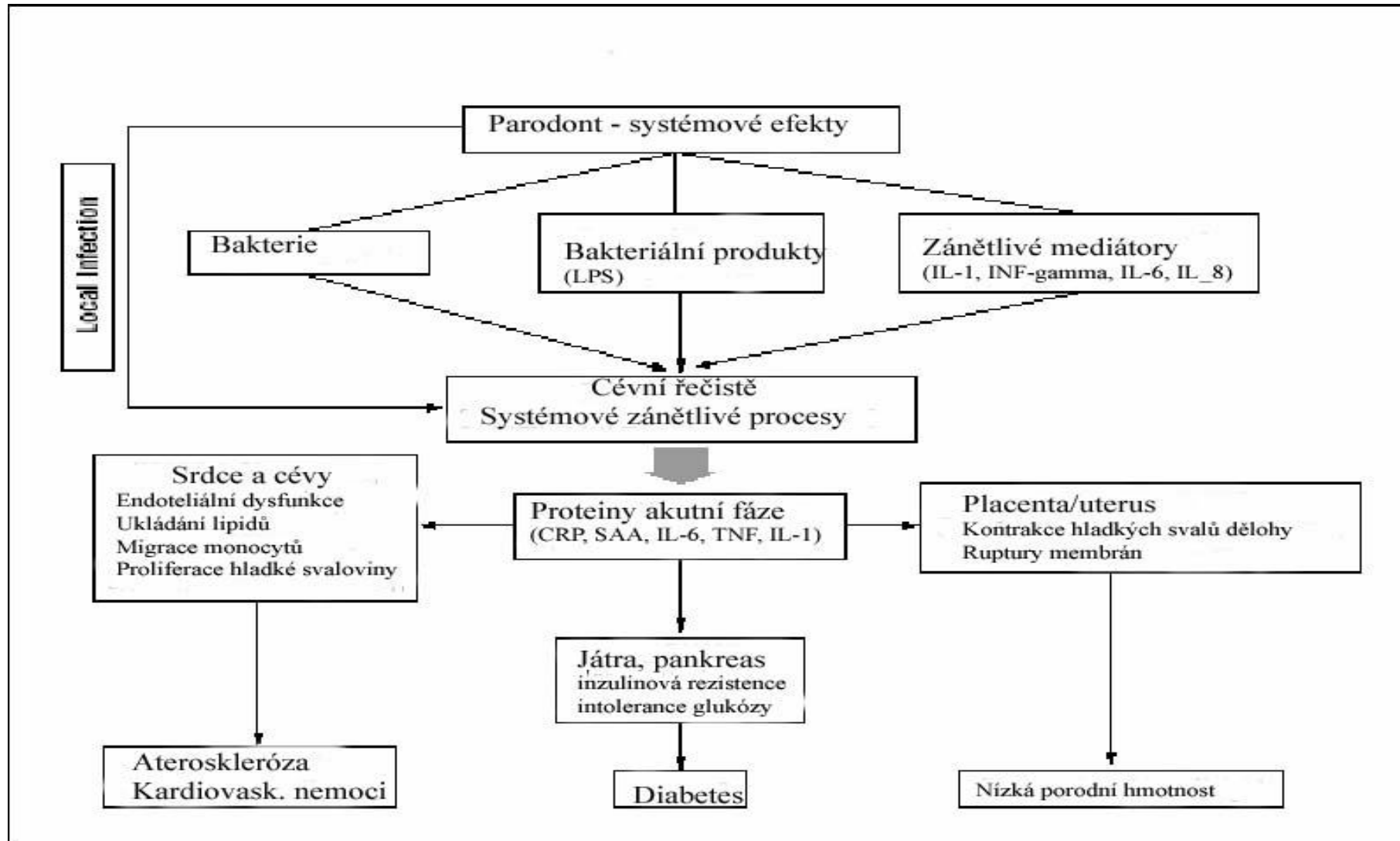
Multifaktoriální onemocnění







Onemocnění parodontu – lokální problém?



IL-1 Gene Polymorphisms

- 1997 Kornman et al – asociace polymorphismů v genu kódujícím IL-1a(-889) a IL-1B(+3953) se závažnějšími formami parodontitidy.
- IL-1 polymorfní klaster (**PST-periodontitis susceptibility trait**) byl asociován se závažností PD pouze u nekuřáků, rozlišil jedince s těžkou parodontitidou od mírného onemocnění.

Genetic control of IL-1: Genes and Locus of SNPs associated with controlling IL-1 biological activity

Genes	Polymorphism Locus	Current Locus assessed with test	Controlled product
IL-1A	Allele 2 -889	Allele 2 IL-1A +4845	IL-1 alpha
IL-1B	Allele 2 +3953	Allele 2 IL-1B +3954	IL-1 beta
IL-1RN			Protein receptor antagonist (impedes IL-1 alpha and beta)

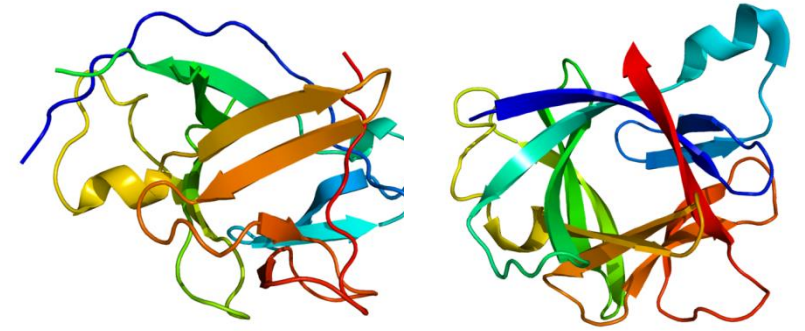
Genetic Susceptibility Test for periodontitis: tests for the presence of at least one copy of allele 2 at the **IL-1A +4845** loci and at least one copy of allele 2 at the **IL-1B +3954** locus.

* *IL-1A +4845 is being used because it is easier to identify than IL-1A -889 and it is essentially concordant with it.*

** *IL-1B +3953 has been now renumbered as IL-1B +3954 because the current convention indicates that the numbering of the transcription should begin at +1 instead of zero.*

Interleukin 1

- Prozánětlivý multifunkční cytokin.
- Umožňuje pronikání zánětlivých buněk do míst infekce
- Podporuje kostní resorption
- Stimuluje uvolňování eikosanoidů (PGE2) monocyty a fibroblasty
- Stimuluje uvolňování MMP, která degraduje proteiny ECM.
- Formy IL-1 α a IL-1 β



IL-1 jako modulátor periodontitidy

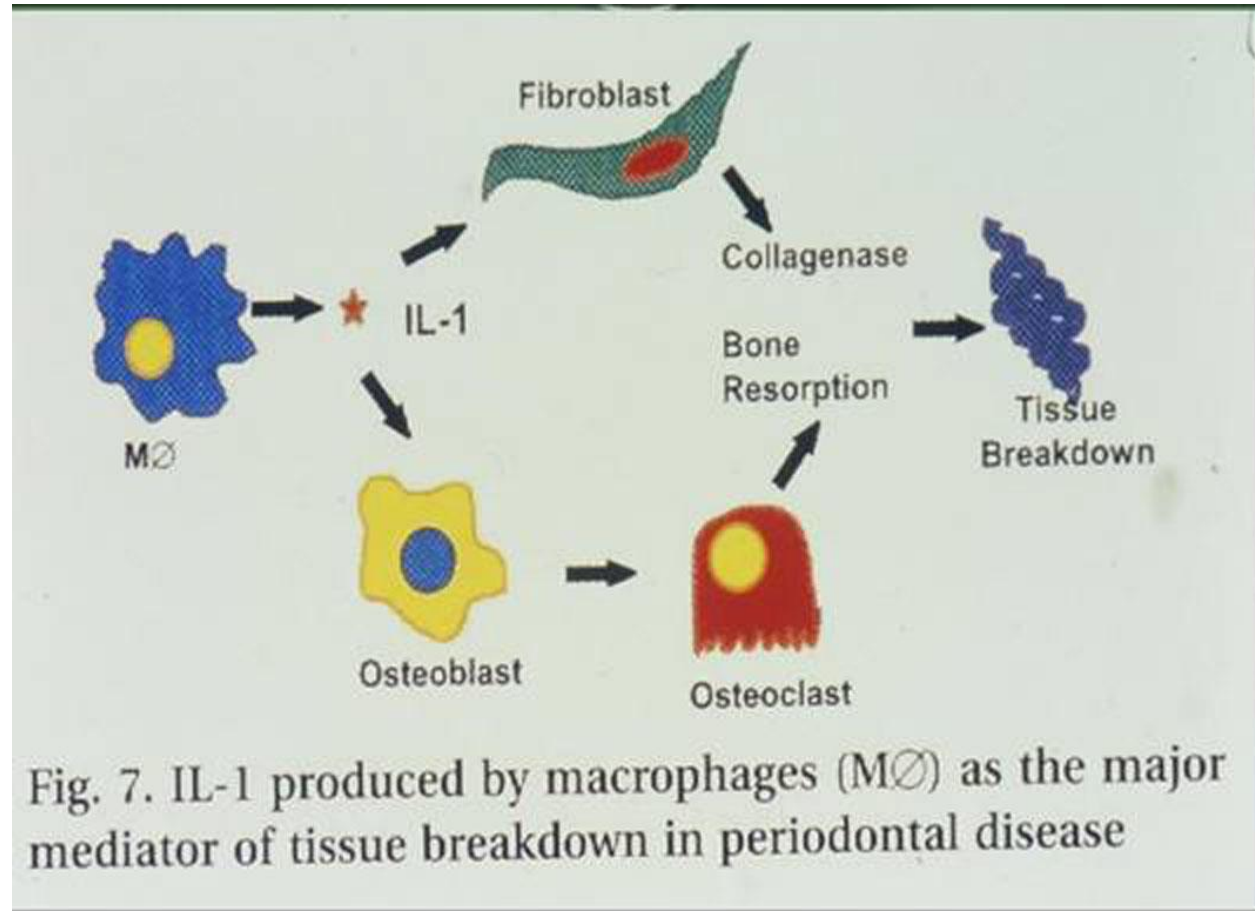


Fig. 7. IL-1 produced by macrophages (MØ) as the major mediator of tissue breakdown in periodontal disease

+IL-1 genotyp a IL-1 protein

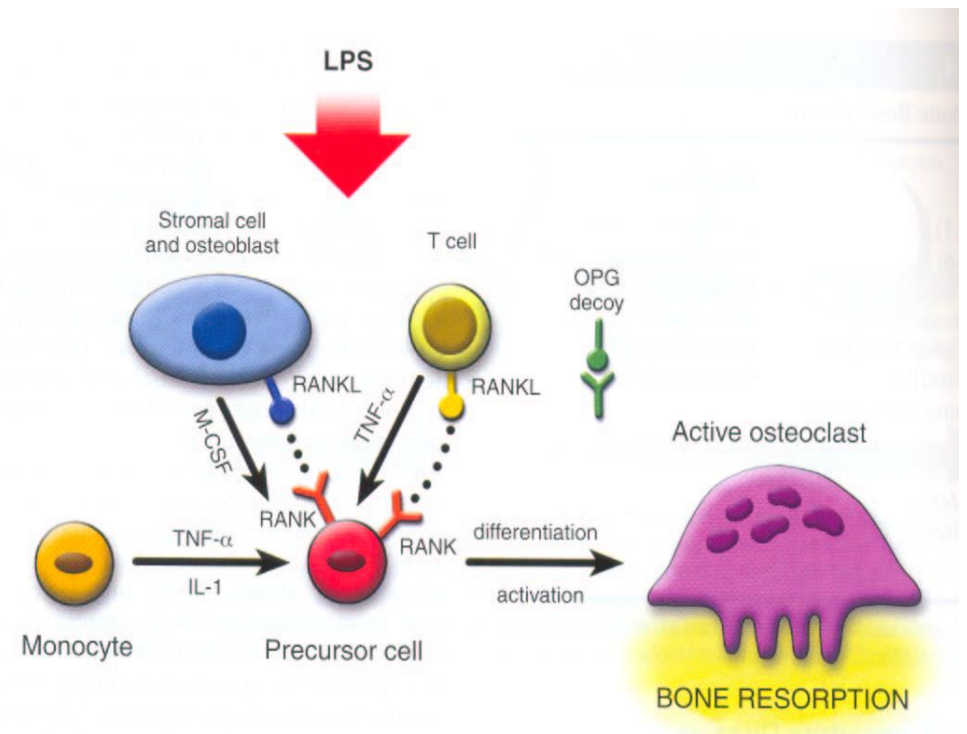
- Konkrétní parodontitidy-asociovaný IL-1 genotyp sestává z varianty v IL-1B genu, který je spojen s vysokými hladinami IL-1 (Poiciot et al 1992)
- Pacienti pozitivní pro sloučený IL-1A (4845) a IL-1B (3954) s parodontitidou-asociovaný genotyp mají vyšší hladiny IL-1B na GCF, ale ne v gingivální tkáni před a po ošetření (Kornmann et al 1999)
- Nositelé alely 2 (-889) u pacientů s chronickou parodontitidou vykazovali téměř čtyřnásobný nárůst hladiny IL-1 (Shirodaria et al., 2000)

TLR

- Poprvé popsány jako gen pro typ I transmembránového receptoru
 - důležitá úloha při dorzoventrálním vývoji embrya *Drosophily*
 - absence tolls vedla i k vážnému **postižení obranyschopnosti** proti plísním a G+ bakteriím
- ⇒ Nalezeny savčí homologa – podobná úloha ???

TLRs receptory a jejich ligandy u onemocnění parodontu

PRR	PAMP	Periodontal Pathogen
TLR-2	Lipoproteins Atypical LPS Outer membrane proteins Fimbriae	<i>Bacteroides forsythus</i> * <i>P. gingivalis</i> , <i>C. ochracea</i> Oral treponemes <i>P. gingivalis</i>
TLR-4	Nonendotoxic glycoprotein HSP-60 (GroEL)	<i>P. intermedia</i> <i>P. gingivalis</i>
TLR-9	LPS CpG-containing DNA	<i>A. actinomycetemcomitans</i> , <i>F. nucleatum</i> <i>A. actinomycetemcomitans</i> , <i>P. gingivalis</i> , <i>P. micros</i>



Periodontitis - akutní

Akutní periodontitis (apikální)

- Hyperémie a serózní exsudace
- Hnisání, osteoklastická přestavba kostní tkáně
- 4 fáze
 - ✓ *Periodontální (desmodontální)*
 - ✓ *Endoseální*
 - ✓ *Periotální*
 - ✓ *Submukosní*
- Silná bolestivost ve všech fázích, otoky v pozdějších fázích
- vztah polymorfismů v genech pro ***IL1B, IL1RN, FcγRIIb, VDR*** a ***TLR4*** s agresivním typem parodontitidy.

Periodontitis - chronická

- ⊙ Sekundárně z akutní periodontitis
- ⊙ Primárně chronická (častější)

Formy

- ⊙ Cirkumskriptní (granulomatozní)
- ⊙ Granulomatozně progresivní – pístěle (slizniční, kožní)
- ⊙ Difúzní – odbourávána i alveolární kost
- ✓ *Granulační tkán*
- ✓ *Makrofágy*
- ✓ *Možnost tvorby radikulární cysty*

S chronickým typem parodontitidy jsou spojovány polymorfismy v genech pro ***IL1B, IL1RN, IL6, IL10, VDR, CD14, TLR4 a MMP1.***

Meta-analýza publikovaných dat asociovala varianty polymorfismů ***IL1A-889, IL1B 3954, IL1B-511, TNFA-308 a IL6-174*** k agresivní i chronické parodontitidě.

M U N I
M E D

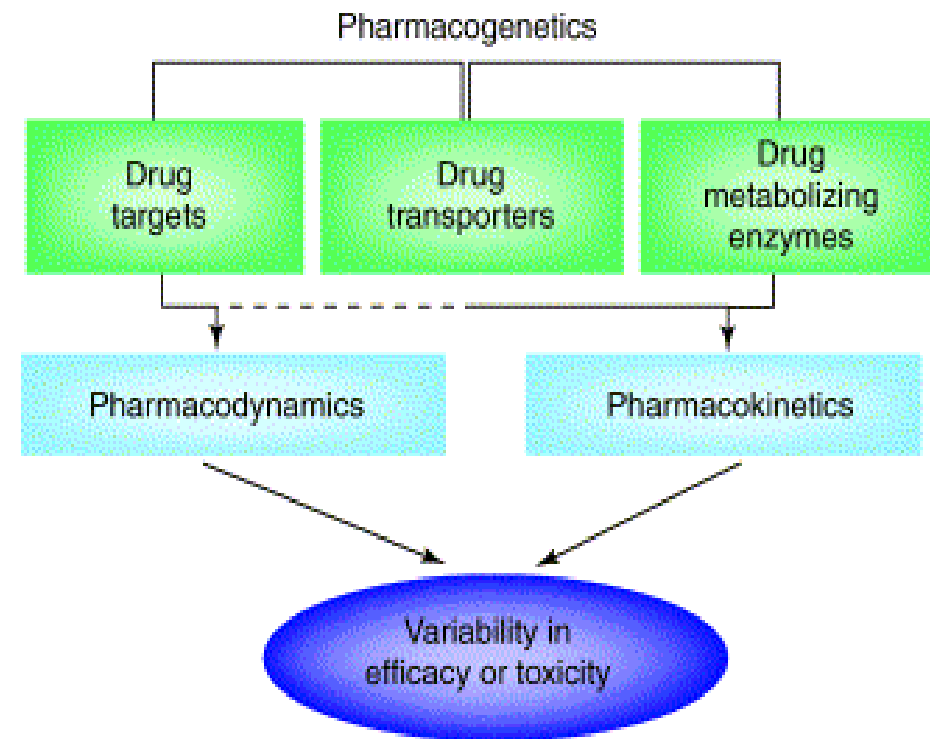
Farmakogenetika

Na základě interdisciplinárního integrace znalostí farmakologie a genetiky popsat vliv dědičnosti na odpověď organismu na různé léky.

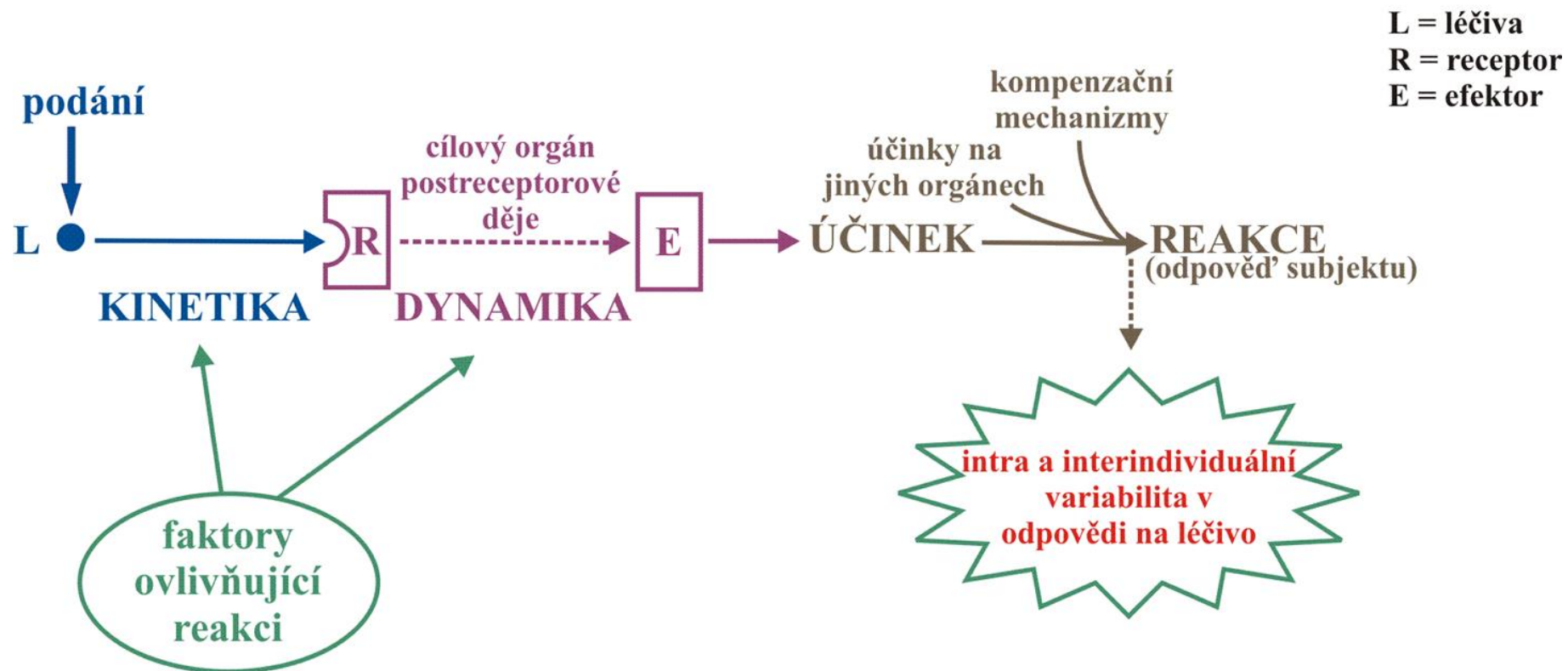
➤ **Farmakogenomika**

✓ **Farmakodynamika:** popisuje žádoucí či nežádoucí účinky léků na organismus
(lék → organismus)

✓ **Farmakokinetika:** se zabývá hladinami léků a jeho metabolitů v různých tkáních a vstřebáváním léků, jejich distribucí, metabolismem a eliminací
(organismus → lék)



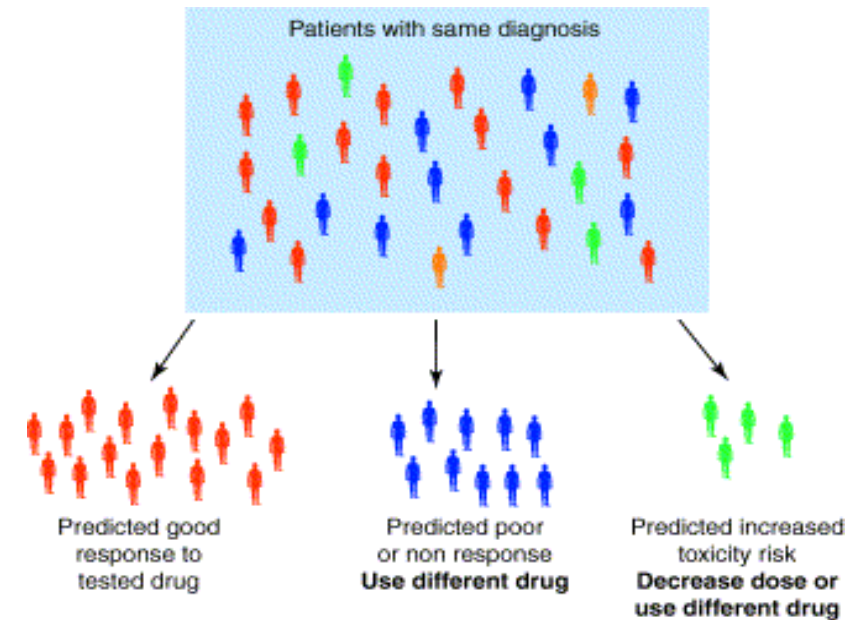
Fáze a faktory rozhodující o reakci subjektu na léčivo



Vztah ke genům

Téměř každá dráha metabolismu léku, jeho transportu nebo aktivace je ovlivněna genetickou variabilitou.

Klinická variabilita v odpovědi
Riziko vedlejších účinků
Genotypově specifické dávkování
Polymorfní cíle léku



Výhody „Genomické medicíny“ – klinický potenciál

Odhalení onemocnění v raném stádiu, kdy je snadnější účinně léčit;
Usnadnění výběru optimální léčby a omezit léčbu pokus-
chyba;
Snížení výskytu nežádoucích účinků;
Zvýšení odpovědnosti pacienta na léčbou;

Zlepšení výběru cílů ve vývoji léků a snížit čas, náklady a selhání klinických zkoušek;
Důraz na prevenci;
Snížení celkových nákladů na zdravotní péči.

- Nutnost přesné diagnózy (k fenotypicky podobným stavům mohou vést různé patobiochemické mechanismy).
- Individuální odpověď jedince na terapii může záležet na genech, vstupujících do interakce s metabolismem léku nebo jeho působením.

Klinicky relevantní genetické polymorfismy ve vztahu k vedlejším účinkům léků

Gene ^a	Polymorphism	Minor allele frequency ^b	Drug(s)	Genetic association	Refs
Drug metabolizing enzymes					
<i>TPMT</i>	Multiple	0,3% of Caucasian population carry two nonfunctional alleles	Thiopurines	Hematological toxicities	[19–22]
<i>CYP2D6</i>	Multiple	1–2% of Asians and African descent and 6–8% of Caucasians carry two nonfunctional alleles	Numerous cardiovascular drugs, antidepressants antipsychotics Codeine	Enhanced drug effect and increased toxicity	[19,23–25]
<i>CYP2C9</i>	*2 (Arg144Cys)	0.02–0.10	Warfarin	Decreased drug efficacy Increased bleeding risk, decreased dose requirements	[26,27] [28–30]
<i>CYP2C9</i>	*3 (Ile359Leu)	0.02–0.08			
Drug Transporter <i>ABCB1</i>	3435C→T (Ile1145Ile)	0.10–0.50	Numerous, including anticonvulsants, protease inhibitors, digoxin and others	Differences in plasma drug concentration and efficacy	[3,31–34]
Drug-targets or pharmacological response proteins					
<i>ADRB1</i>	Ser49Gly	0.15–0.30	β-blockers	Blood pressure lowering by β-blockers	[35,36]
<i>ADRB2</i>	Arg389Gly Arg16Gly	0.25–0.47 0.41–0.54	β-agonists	Bronchodilation and cardiovascular responses to β-agonists	[37,38]
<i>DRD3</i>	Gln27Glu Ser9Gly	0.07–0.35 0.30–0.70	Antipsychotics	Differential antipsychotic efficacy, antipsychotic-induced tardive dyskinesia and acute akathisia	[39–41]
<i>ADD1</i>	Gly460Trp	0.06–0.60	Diuretics	Differential antihypertensive response and differences in degree of reduction in risk for myocardial infarction and stroke in hypertensives	[42–44]
<i>GNB3</i>	C825T (creates splice variant)	0.32–0.76	Diuretics, antidepressants	Differential drug efficacy	[45,46]
<i>APOE</i>	ε2 Cys130 and Cys176 ε3 Cys130 and Arg176 ε4 Arg130 and Arg176	0.04–0.16 0.60–0.85 0.09–0.25	Tacrine, statins	Differential drug efficacy	[47–49]
<i>F5</i>	Arg506Gln (Factor V Leiden)	Absent to 0.04	Estrogen, oral contraceptives	Increased venous thromboembolism risk	[50,51]

Klinicky relevantní genetické polymorfismy ve vztahu k účinnosti léků

Disease	Treatment	Comment	Reference
M3-AML	all <i>trans</i> -retinoic acid	Patients with PLZF/RARA fusion are not responsive to retinoids.	[4]
Glioma	carbamustine, BCNU	Only tumors with CpG methylation of the promoter of the <i>O</i> ⁶ -methylguanine-DNA-methyltransferase gene respond to treatment with alkylating substances.	[22]
Asthma	5-lipoxygenase inhibitors	ALOX5 promoter genotype influences response to treatment; individuals with two non-wild type alleles show no response to 5-LOH inhibitors.	[23]
	β_2 adrenergic agents	Gly16-allele of β_2 adrenergic receptor is associated with much stronger bronchodilator desensitisation than Arg16.	[24]
Depression	imipramine	Fast metabolisers do not reach therapeutic drug levels with normal dosage.	[19]

CYP3A4 – 50% metabolizovaných léků

CYP2D6 – 20%

CYP2C9 + CYP2C19- 15 %

CYP2D6, CYP2C9, CYP2C19 a CYP2A6 byly
prokázány jako funkčně polymorfní

Např. ovlivňuje metabolismus warfarinu, acenocoumarolu a dalších léků (phenytoin, tolbutamid, glipizide a další perorální antidiabetika typu sulfonylurey).

Cytochrom P₄₅₀2C9 (CYP2C9)

dvě alelické varianty genu CYP2C9^{1, 2}

CYP2C9*2

záměna C⁴³⁰T v exonu 3 vede k substituci Arg¹⁴⁴Cys

CYP2C9*3

záměna A¹⁰⁷⁵C v exonu 7 vede k substituci Ile³⁵⁹Leu

in vitro má CYP2C9*1 normální, zatímco varianta CYP2C9*2 vykazuje menší a CYP2C9*3 podstatně menší enzymatickou aktivitu^{3, 4}

fenotypickým projevem je snížení clearance léků závislých na CYP2C9

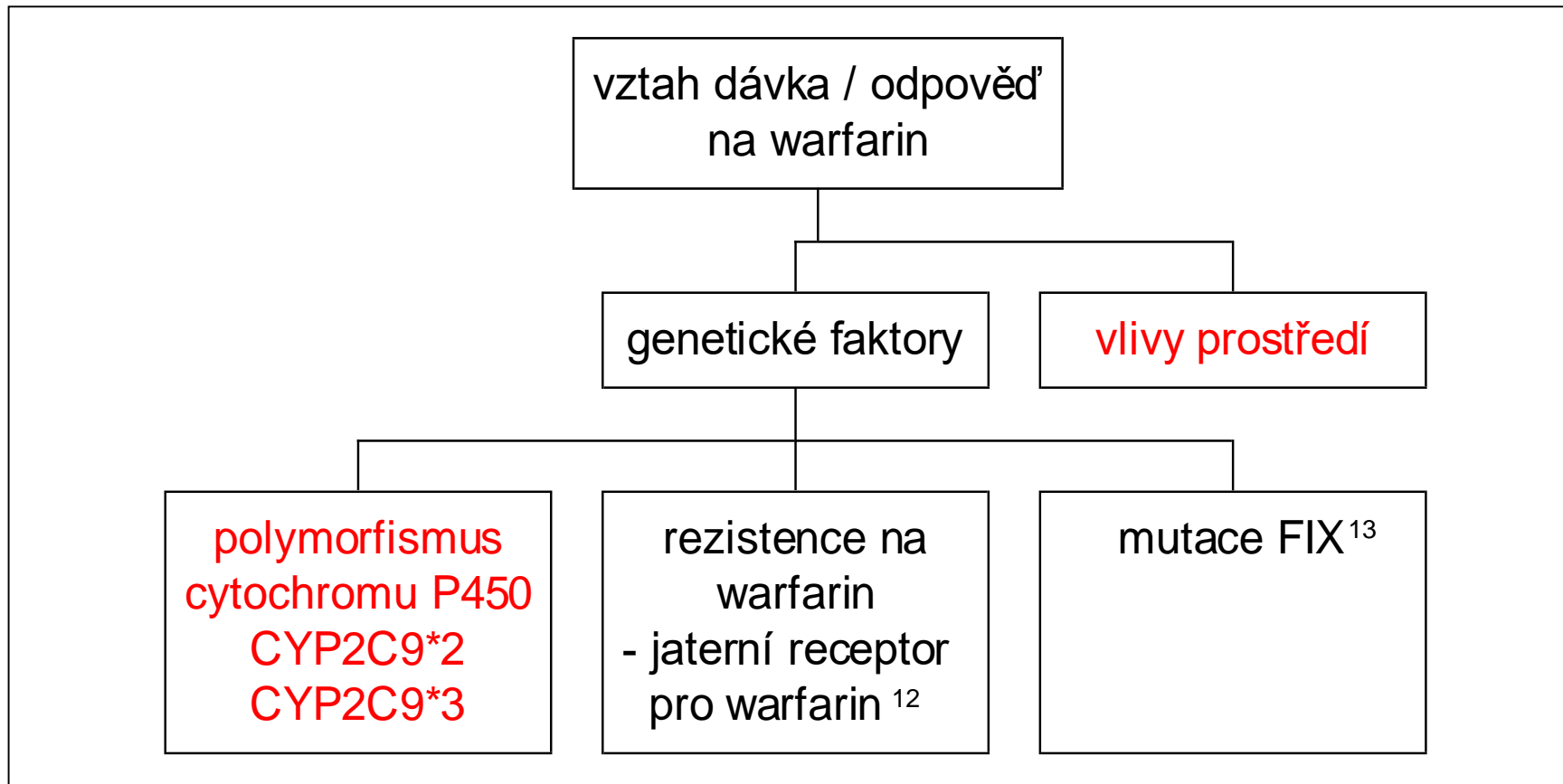
1. Stubbins MJ et al: Pharmacogenetics 1996; 6:429-329

2. Veronese ME et al: Biochem J 1993; 289:533-8

3. Rettie AE et al: Pharmacogenetics 1994; 4:39-42

4. Haining RL et al: Arch Biochem Biophys 1996; 333:447-58

Dávka / antikoagulační efekt warfarinu



12. Alving BM et al: Arch Intern Med 1985; 145:499-501

13. Oldenburg J et al: Br J Hematology 1997; 98:240-4

CYP2C9 ACTIVITA

<u>Warfarin Dose*</u>	<u>Genotype</u>
5.63 (2.56)	*1/*1
4.88 (2.57)	*1/*2
3.32 (0.94)	*1/*3
4.07 (1.48)	*2/*2
2.34 (0.35)	*2/*3
1.60 (0.81)	*3/*3

From: Higashi MK, et al. Association between CYP2C9 genetic variants and anticoagulation-related outcomes during warfarin therapy. *JAMA* 287:1690-1698, 2002.

Klinické projevy polymorfismu CYP2C9

předávkování při zahájení antikoagulace standardními režimy ^{14, 16, 17, 18, 19}

nižší udržovací dávka nutná k dosažení a udržení terapeutického rozmezí ^{11, 15, 16, 18, 19}

vyšší riziko předávkování dané interakcemi s léky metabolizovanými a/nebo reagujícími s CYP2C9 ^{17, 21}

nestabilita antikoagulační terapie ^{15, 16}

delší přetrvávání antikoagulačního efektu po přerušení léčby nebo snížení dávky warfarinu

14. Aithal GP et al: Lancet 1999; 353:717-9

15. Taube J et al: Blood 2000; 96:1816-9

16. Higashi HK et al: JAMA 2002; 287:1690-8

17. Verstuyft C et al: Eur J Clin Pharmacol 2003; 58:739-45

Interakce s léky metabolizovanými a/nebo reagujícími s CYP2C9

17, 20, 21

Soutěž o substrát	Enzymový induktor	Enzymový inhibitor
ASA a většina <u>NSAID</u>	rifampicin	fluvoxamin (ostatní SSRI slabí)
fenobarbital, fenytoin	fenobarbital, fenytoin	<u>omeprazol</u>
S-warfarin	<u>karbamazepin</u>	<u>inhibitory HMG-CoA reductázy</u>
losartan		tolbutamid
tolbutamid		cimetidin (slabý)
sulfonamidy, dapson		<u>azolová antimykotika</u> (slabá)
<u>diazepam</u> , tenazepam		ritonavir
fluoxetin, moclobemid		<u>desethylamiodaron</u>
zidovudin		

20. Topinková E et al: Postgrad Med 2002; 5:477-82

21. Naganuma M et al: J Cardiovasc Pharmacol Ther 2001; 6:636-7

Rychlost metabolismu

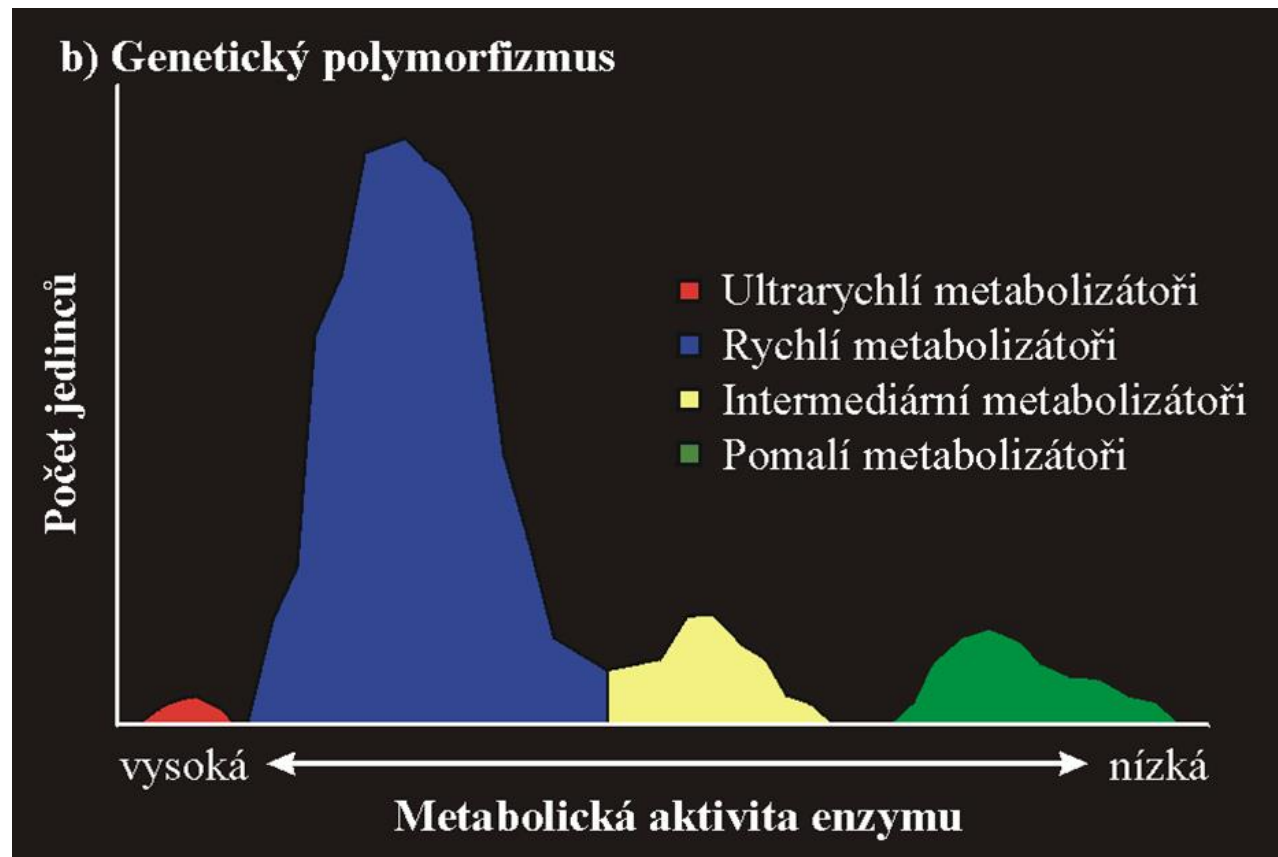
Dle aktivity enzymu může být populace rozdělena do čtyř hlavních skupin - pomalí **metabolizátoři (PM)**, **intermediární metabolizátoři (IM)**, **efektivní metabolizátoři (EM)** a **ultrarychlí metabolizátoři (UM)**.

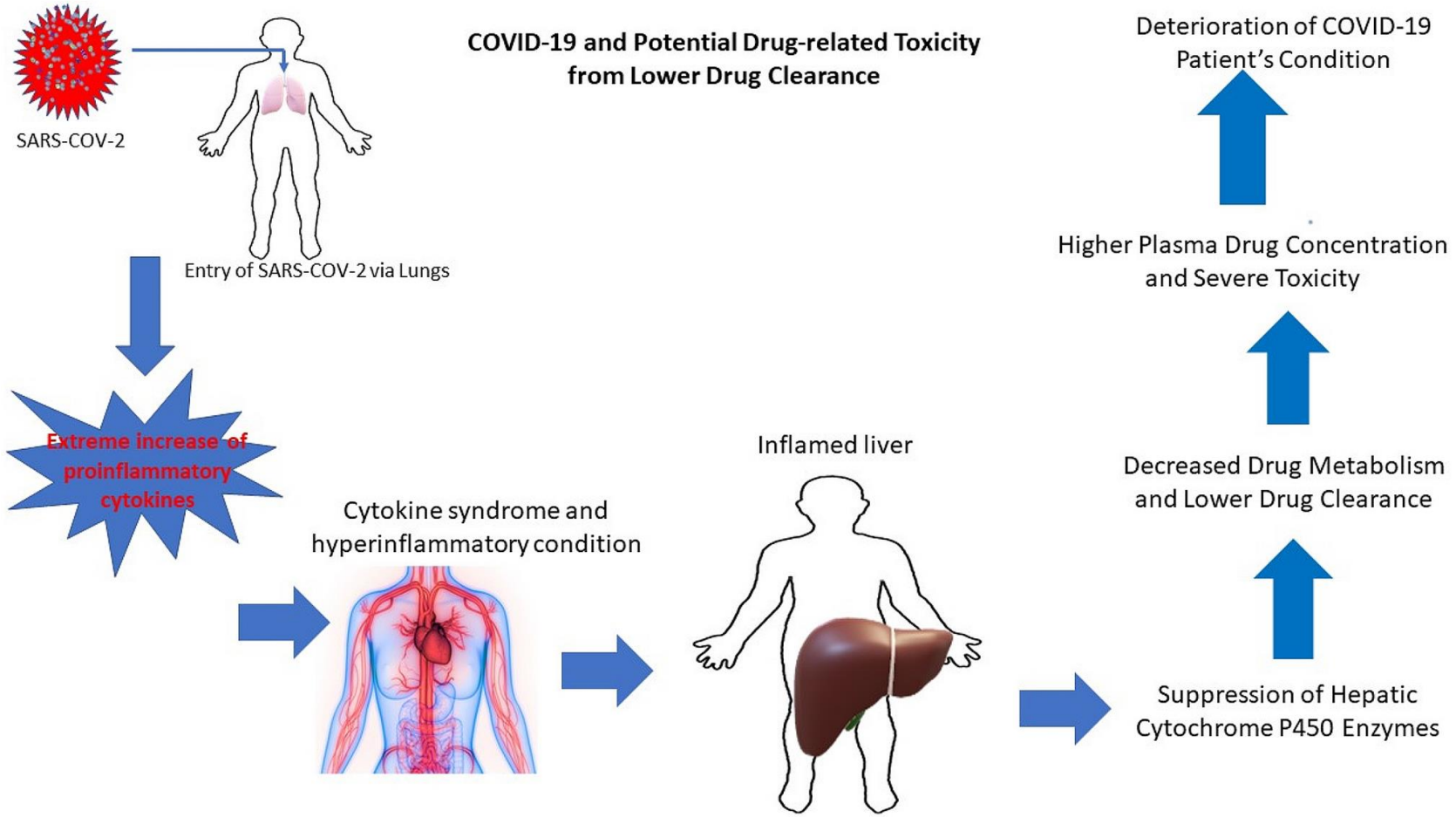
Většina jedinců bílé populace patří mezi tzv. extenzivní metabolizátory (EM), u nichž jsou léčiva metabolizována předpokládanou rychlostí.

5-10 % jedinců je geneticky determinováno jako pomalí metabolizátoři (PM), kteří mají zpomalené odbourávání látek metabolizovaných a jsou ohroženi vyšším výskytem nežádoucích účinků léčby.

Intermediární metabolizátoři (IM) jsou zastoupeni v 10-15 % a při dlouhodobé léčbě jsou svými reakcemi na léčbu srovnatelní se skupinou PM.

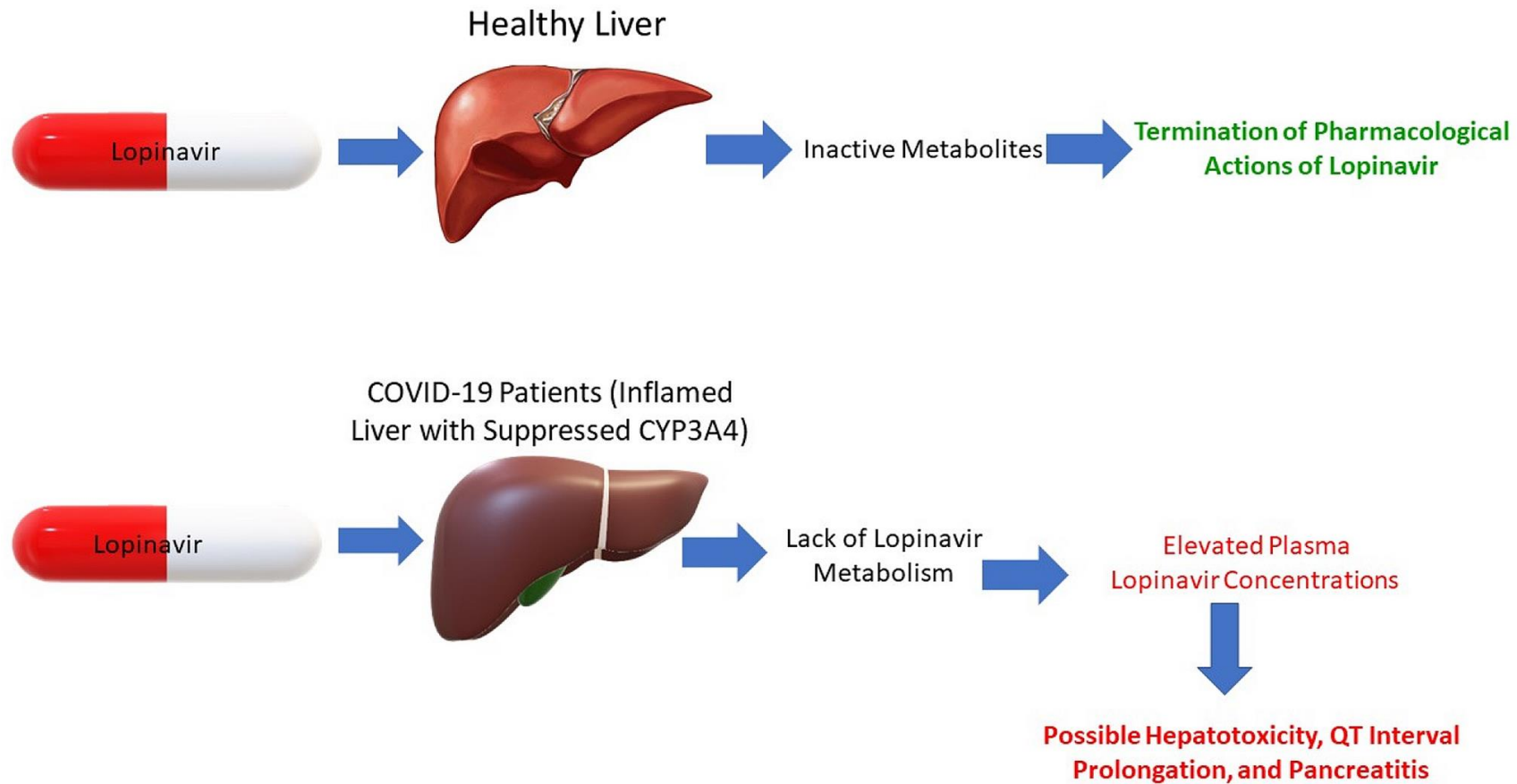
U ultrarychlých metabolizátorů (UM) probíhá metabolizace intenzivněji a klinicky nereagují na běžné dávky léků a je zastoupena v 5-10 %.





Marker	CYP1A2	CYP2B6	CYP2C9	CYP2C19	CYP2D6	CYP3A4	Model	Ref.
IL-1 β	ND	ND	ND	ND	ND	↓↓↓	Human hepatoma cells	[87]
IL-6	ND	ND	ND	ND	ND	↓↓↓		
TNF α	ND	ND	ND	ND	ND	↓↓↓		
IL-1 β	ND	ND	ND	ND	ND	↓↓↓	Human hepatocytes	[45]
IL-1 β	↔	↔	↔	ND	ND	↔	Human hepatocytes	[113]
IL-6	↔	↓↓↓	↓	ND	ND	↓↓↓		
IL-6	↓↓	↓↓↓	ND	ND	ND	↓↓↓	HepaRG cells	[114]
IL-1	↓↓↓	ND	ND	ND	ND	↓↓↓	Human hepatocytes	[115]
IL-6	↓	ND	ND	ND	ND	↓↓		
TNF α	↓↓	ND	ND	ND	ND	↓↓		
IL-1	ND	↔	↔	↔	ND	↓↓↓	Human hepatocytes	[42]
IL-6	ND	↓↓↓	↓↓	↓↓	ND	↓↓↓		
TNF α	ND	↔	↔	↔	ND	ND		
IL-2	ND	↓↓	ND	ND	ND	↓↓	Peripheral blood mononuclear cells	[116]
IL-6	ND	↓	ND	ND	ND	↓		
IL-10	ND	↔	ND	ND	ND	↔		
IL-6	↓↓↓	↓↓↓	↓↓↓	↓↓	ND	↓↓↓	Cryopreserved human hepatocytes	[40]

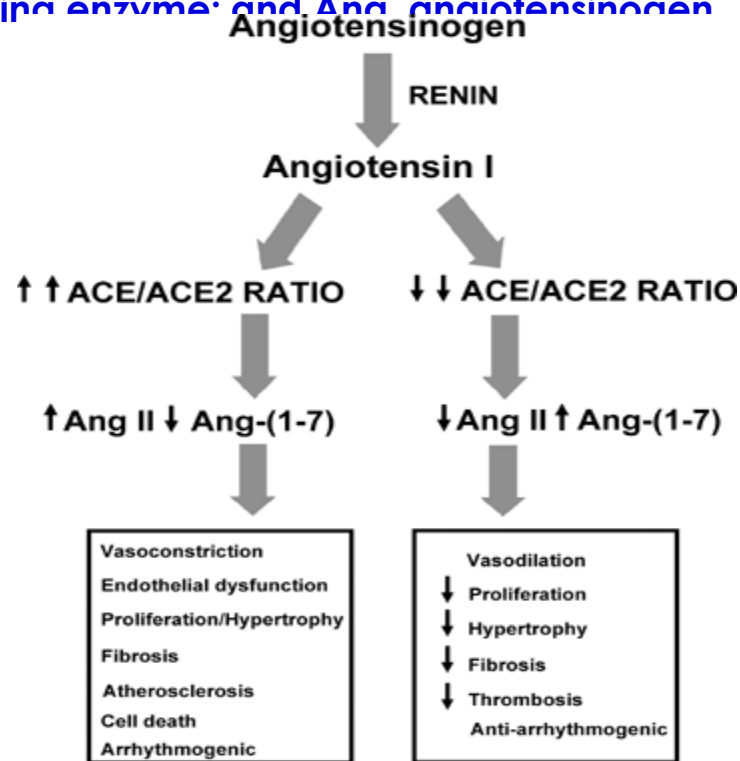
↓ indicates up to 25% decrease, ↓↓ indicates 26–50% decrease, ↓↓↓ indicates > 50% decrease, ↔ indicates no change, *CYP* cytochrome P450, *IL* interleukin, *ND* not determined

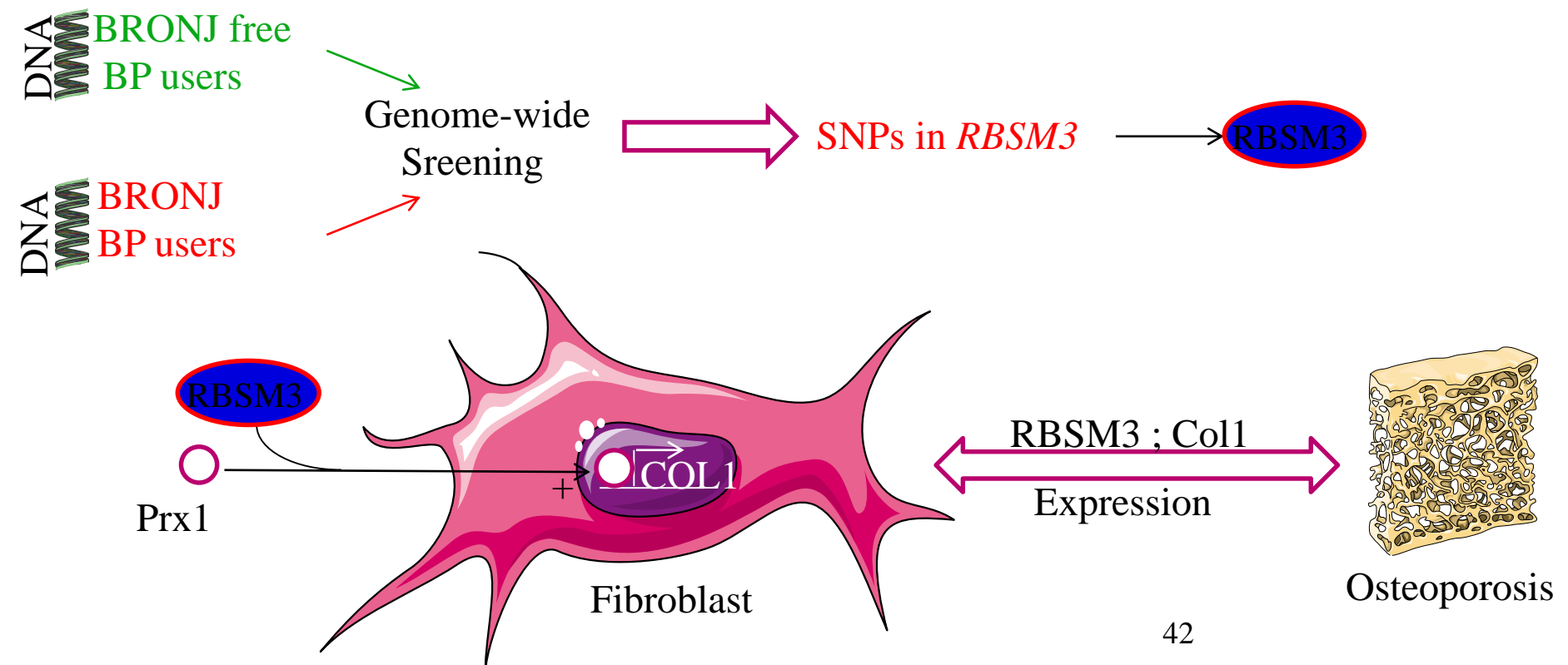
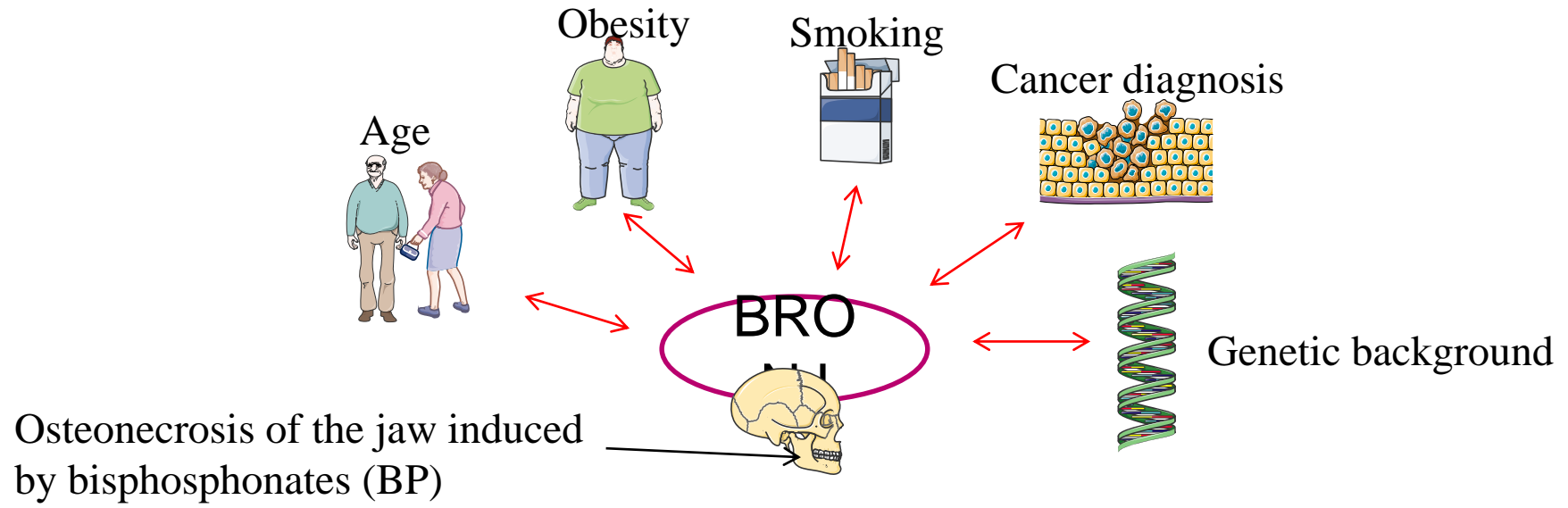


Difference in drug metabolism and pharmacological outcomes between healthy and inflamed liver in COVID-19 patients. Lopinavir, an anti-retroviral drug that has been repurposed for COVID-19, has been taken as an example, but this prototype flowchart is applicable to all drugs that are metabolized to inactive metabolites by cytochrome P450 enzymes, especially, through the CYP3A4 isoform

The vasoconstrictor/proliferative and the vasodilator/antiproliferative actions of the RAS mediated by Ang II and Ang(1-7), respectively, depend on the ACE/ACE2 ratio balance

Abbreviations: ACE, angiotensin-converting enzyme; and Ang, angiotensin





Metotrexát u RA

Efektivita léčby revmatoidní artritidy (RA) metotrexátem (MTX) 46% - 65 % (ACR 20)

Při léčbě MTX se mohou vyskytnout nežádoucí účinky.

Alespoň jeden u 72,9% pacientů, závažné až u 30% pacientů.

gastrointestinální toxicita (nevolnost, zvracení, průjem, 20% - 65%

hepatotoxicita 10% - 43%

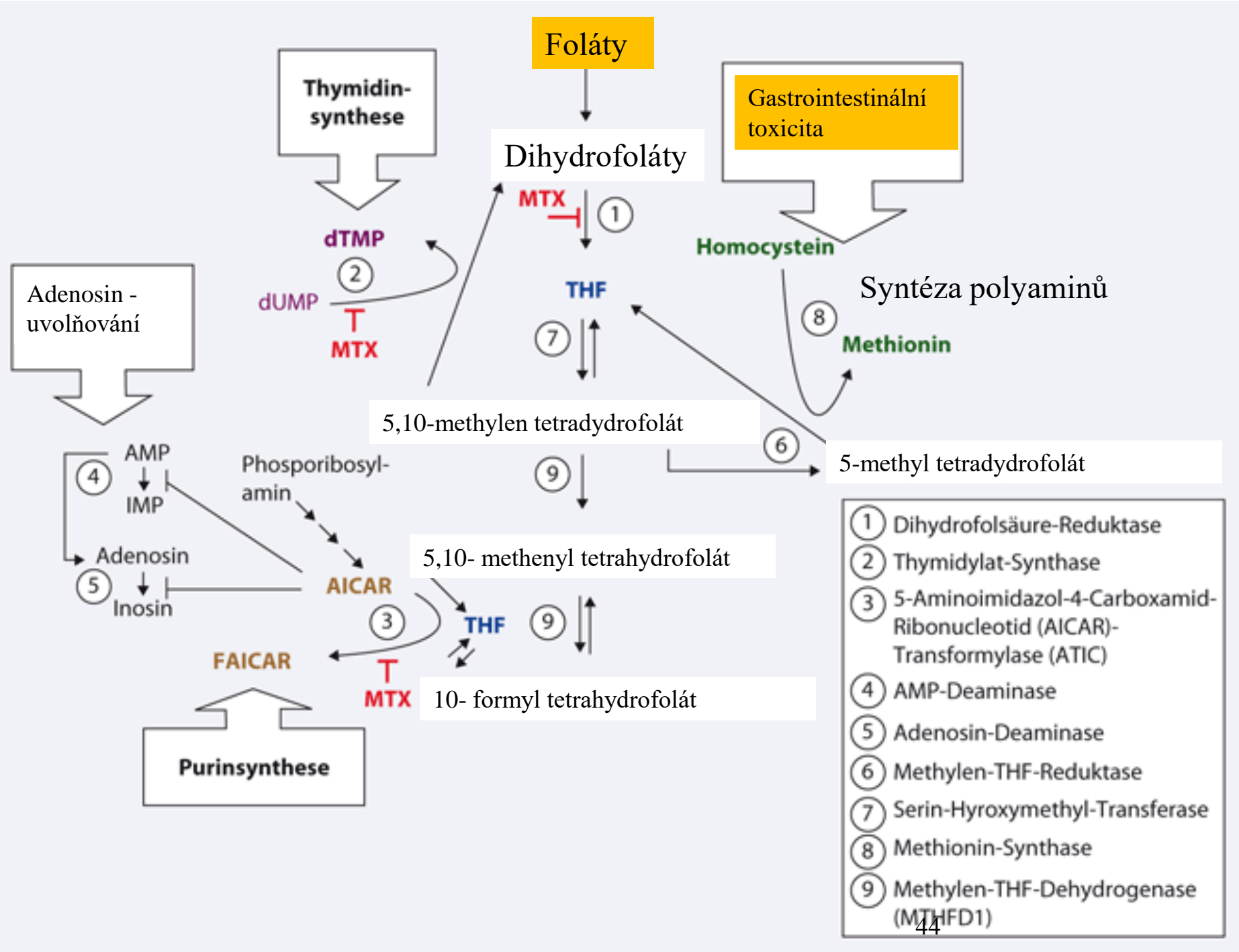
orální ulcerace 37%

alopecie až 4%

pulmonální toxicita 2,1% - 8%

útlum kostní dřeně lehký 12%

pancytopenie 0.8%



Účinek MTX v buňce – cíle pro SNPs

MTXPG přímo inhibuje enzymy důležité pro syntézu purinů a pyrimidinů – thymidylát syntázu (**TYMS**) a dihydrofolát reduktázu (**DHFR**). DHFR se účastní na konverzi homocysteinu na methionin a tím pro **syntézu polyaminů**.

Metabolismus adenosinu

Ovlivnění metabolismu adenosinu patří k nejdůležitějším mechanismům protizánětlivého působení metotrexátu.

MTXPG inhubuje 5-aminoimidazol-4-karboxamid ribonukleotid formyltransferáza (ATIC), tím zprostředkovává vliv na **metabolismus adenosinu** (imunopresivní účinek).

Nitrobuněčný metabolismus MTX – cíle pro SNPs

Vstup do buněk pro foláty a antifoláty

přenašeč **SLC19A1** nebo *reduced folate carrier* (RFC-1)

folátové receptory (FR- α a FR- β), endocytóza - nižší afinita MTX k receptorům než foláty (malý význam metabolické cesty)

Transport MTX z buňky - efluxní transportéry z rodiny ABC (ATP-binding cassette) např. (**ABCC1-4** a **ABCG2**).

Intracelulární metabolismus – přidání 2 až 5 glutamátových skupin → aktivní metabolit, polyglutamát metotrexátu (**MTXPG**), v buňce se hromadí. Tento proces je katalyzován **folylpolyglutamát syntetázou (FPGS)** a je reverzibilní prostřednictvím **gamaglutamyl hydrolázy (GGH)**

Methotrexát

Table 1. Pharmacogenetics of MTX transporters*

Gene	Polymorphism	Amino acid substitution in enzyme	Biochemical effects	Clinical effects	Reference
RFC-1	G80A	Histidine to arginine at codon 27	May affect transcriptional activity of RFC1 gene and MTX entry into cell	May affect response to MTX	48, 72
ABCB1	C3435T	No amino acid substitution	May affect MTX entry into cell	May affect response to MTX	55

* MTX = methotrexate; RFC-1 = reduced folate carrier 1; ABCB1 = ATP binding cassette transporter B1.

Table 2. Pharmacogenetics of MTHFR*

Gene	Polymorphism	Amino acid substitution in enzyme	Biochemical effects	Clinical effects (ref.)
MTHFR	C677T	Alanine to valine	Thermolabile MTHFR with decreased activity; increased plasma homocysteine	May increase the following: GI toxicity (60); hepatic and GI toxicity, alopecia, stomatitis, and rash (62,63); headache, lethargy (74). No effect on toxicity (62); no effect on efficacy or toxicity (71)
MTHFR	A1298C	Glutamine to alanine	May decrease MTHFR activity and increase plasma homocysteine	May affect MTX efficacy (63); may increase susceptibility to RA and decrease MTX toxicity (62). No effect on efficacy or toxicity (71)

* MTHFR = methylenetetrahydrofolate reductase; GI = gastrointestinal; MTX = methotrexate; RA = rheumatoid arthritis.

Methotrexát

Table 3. MTX pathway pharmacogenetics

Gene	Role in MTX pathway	Polymorphism	Effects on gene product/enzyme	Clinical effects	Reference
ATIC	Conversion of AICAR to 10-formyl-AICAR; target of MTX	C347G	May decrease ATIC activity and affect AICAR accumulation and adenosine release	May affect MTX efficacy and toxicity	72, 74
TYMS	Conversion of dUMP to dTMP; target of MTX	5'-UTR 28-bp repeat	May increase TYMS enzyme activity	May affect MTX efficacy and toxicity	71, 74
		3'-UTR 6-bp deletion	May decrease TYMS mRNA stability and expression	May affect MTX efficacy	71

* MTX = methotrexate; ATIC = aminoimidazole carboxamide ribonucleotide transformylase; AICAR = aminoimidazole carboxamide ribonucleotide; TYMS = thymidylate synthase; 5'-UTR = 5'-untranslated region.

Table 4. Other genes with potential pharmacogenetic implications in the MTX pathway*

Gene	Role in MTX pathway	Polymorphism	Effects on gene product/enzyme	Postulated clinical effects	Reference
GGH	Conversion of long-chain MTXPGs to short-chain MTXPGs by removal of glutamates	C452T	Decreased binding affinity of GGH for MTXPGs	May affect MTX efficacy	76
		C401T	Affects MTXPG levels	–	47
DHFR	Reduction of DHF to THF; target of MTX	3'-UTR T721A and C829T	May increase DHFR expression	May affect MTX efficacy	77
MS	Methylation of homocysteine to methionine	A2756G	May decrease MS activity; increase homocysteine levels	May affect MTX toxicity	79, 80
MTRR	Methylation of cobalamin cofactor required for the action of MS	A66G	May decrease MTRR activity; increase homocysteine levels	May affect MTX toxicity	81, 82

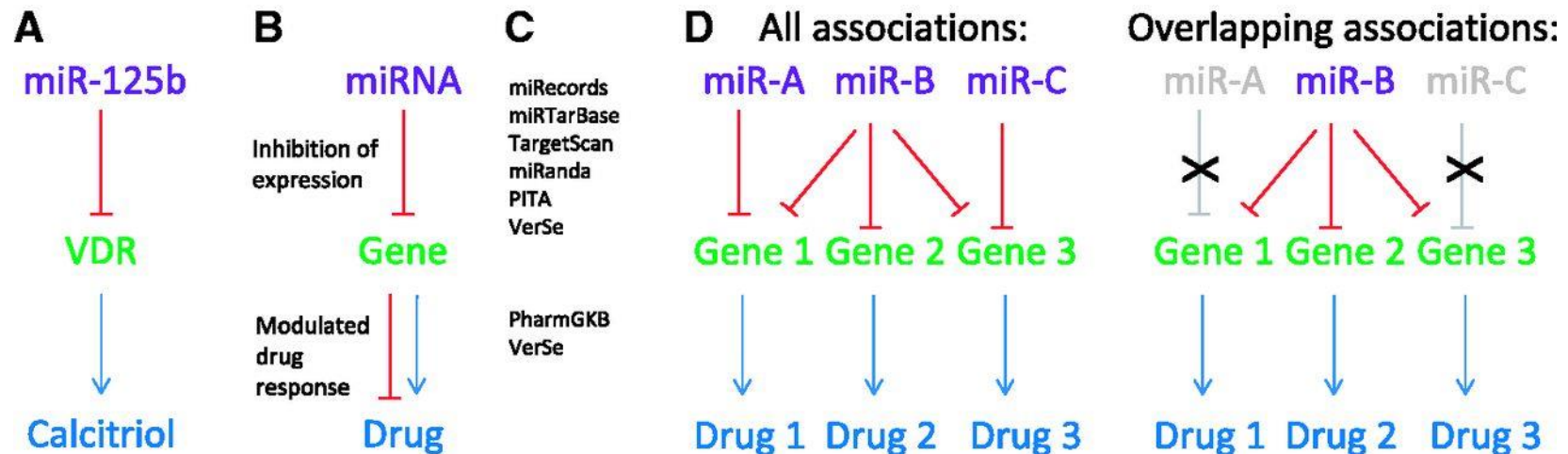
* MTX = methotrexate; GGH = γ -glutamyl hydrolase; MTXPGs = methotrexate polyglutamates; DHFR = dihydrofolate reductase; DHF = dihydrofolate; THF = tetrahydrofolate; 3'-UTR = 3'-untranslated region; MS = methionine synthase; MTRR = methionine synthase reductase.

MDR1

MDR1 (ATP-binding cassette B1/multidrug resistance 1) is an efflux pump that transports toxic endogenous substances, drugs and xenobiotics out of cells. It is known to affect susceptibility to many hematopoietic malignancies. ABCB1/MDR1 polymorphisms may either change the protein expression or alter its function, suggesting a possible association between ABCB1/MDR1 single nucleotide polymorphisms (SNP) and clinical aspects of T-cell lymphoma. Therefore, association of two polymorphisms in the gene with clinical staging and therapy was evaluated.

MicroRNA (miRNA) – regulace genů důležitých pro funkci léků.
 Interakce miR-gen–lék prostřednictvím degradace farmakologicky relevantního cíle.

(A) An example of an experimentally verified miRNA pharmacogenomic set. miR-125 b inhibits vitamin D receptor (VDR) expression.

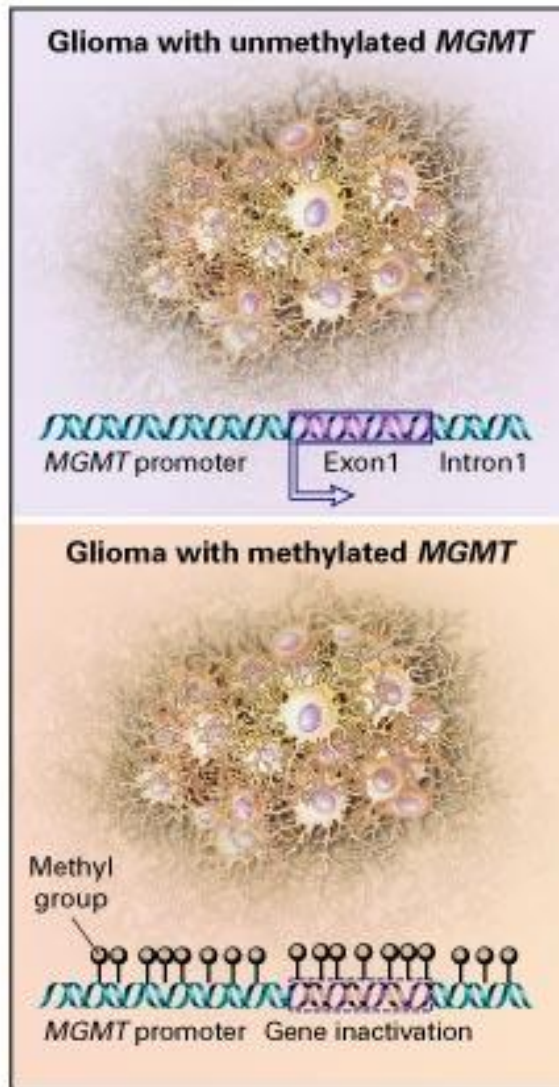


Rukov J L et al. Brief Bioinform 2013;bib.bbs082

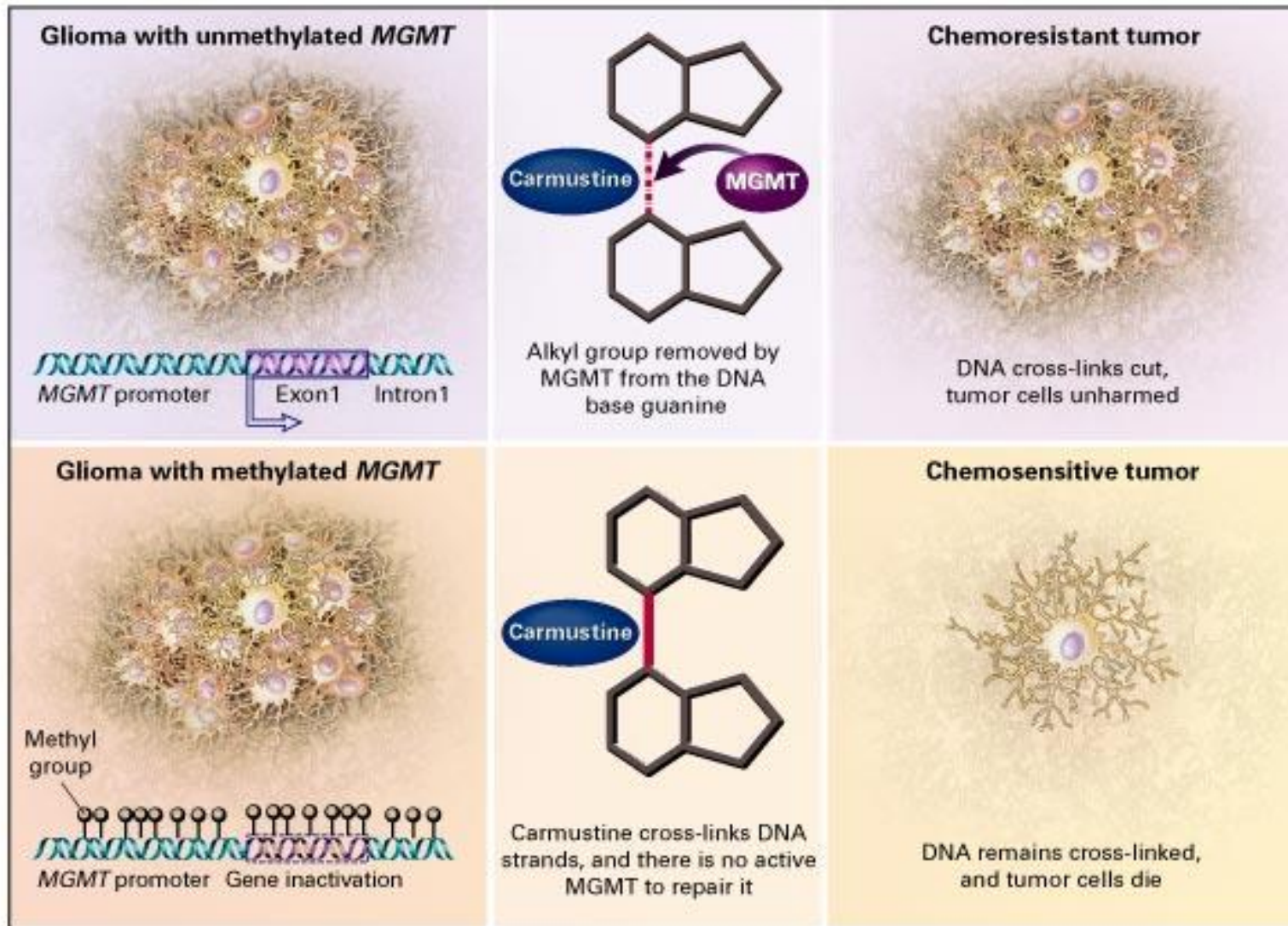
Epigenetika

MGMT – methylguanine-DNA
methyltransferase

Metilatilace promotoru MGMT
silencing genu

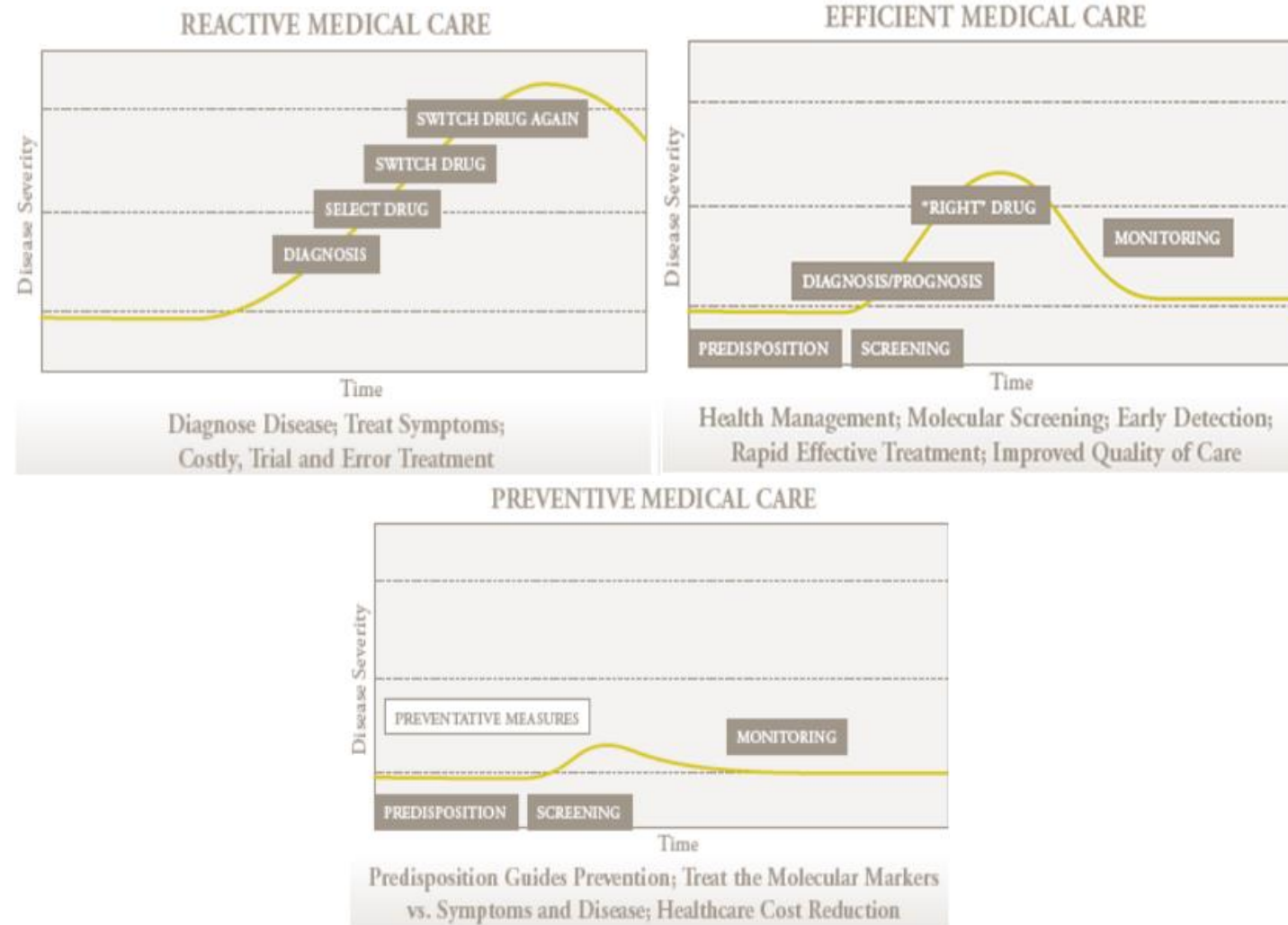


From: Esteller M, et al. Inactivation of the DNA-repair gene *MGMT* and the clinical response of gliomas to alkylating agents. *NEJM* 243:1350-1354, 2000.



From: Esteller M, et al. Inactivation of the DNA-repair gene *MGMT* and the clinical response of gliomas to alkylating agents. *NEJM* 243:1350-1354, 2000.

Perzonalizovaná medicína





gene therapy

Genová terapie: typy nemocí

Infekční nemoci

Rakoviny

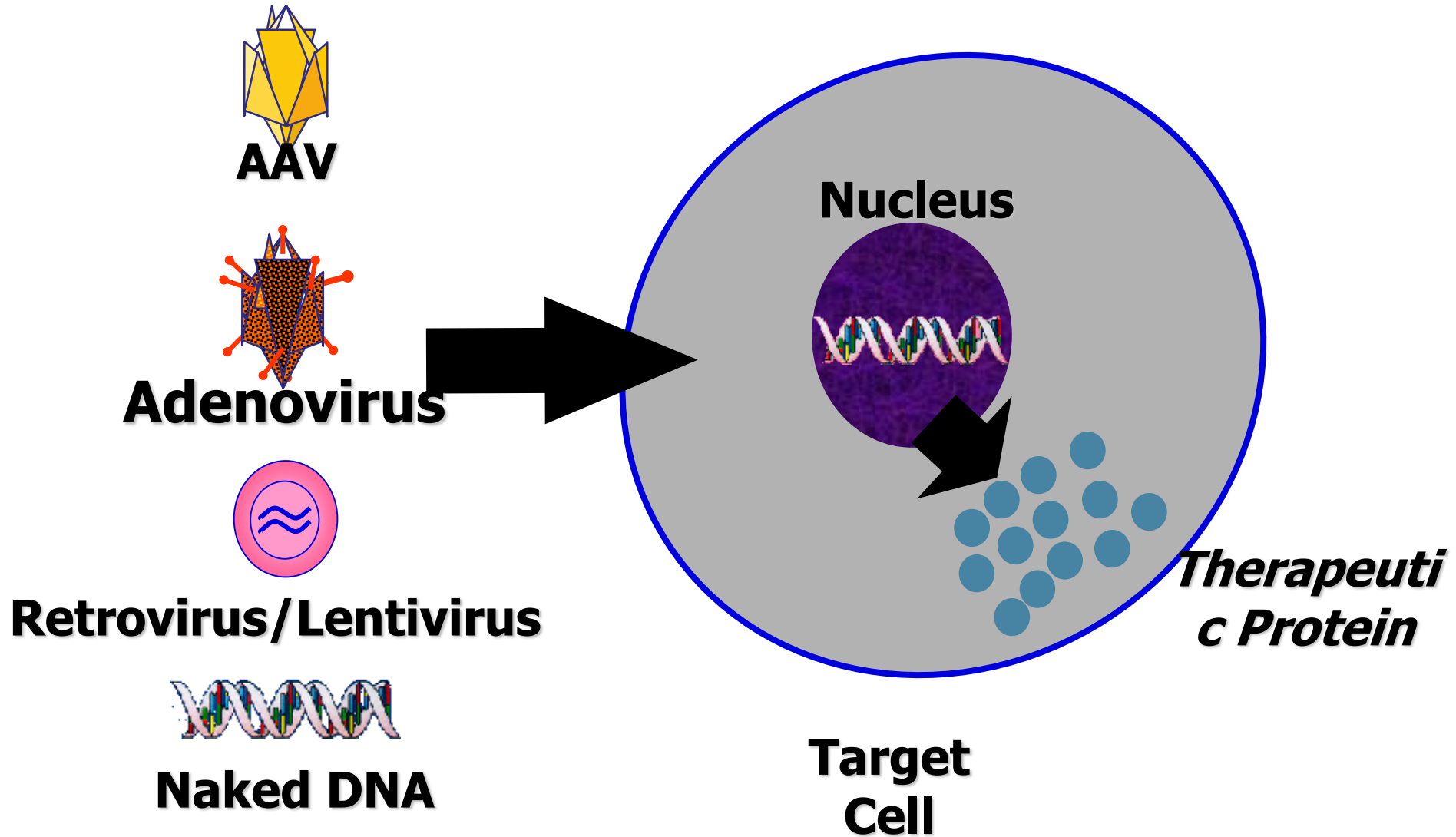
Vrozené nemoci

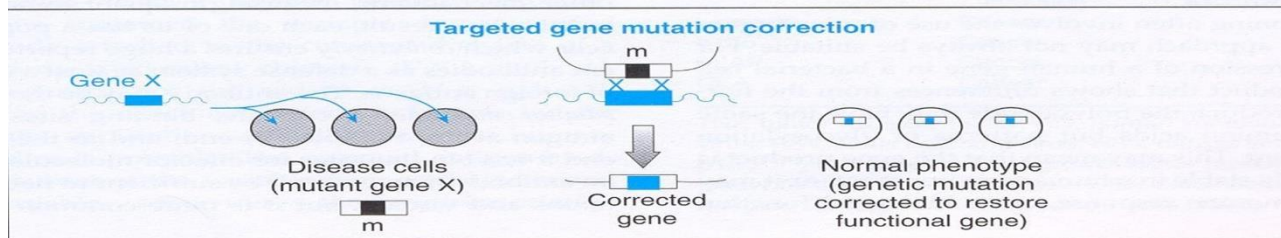
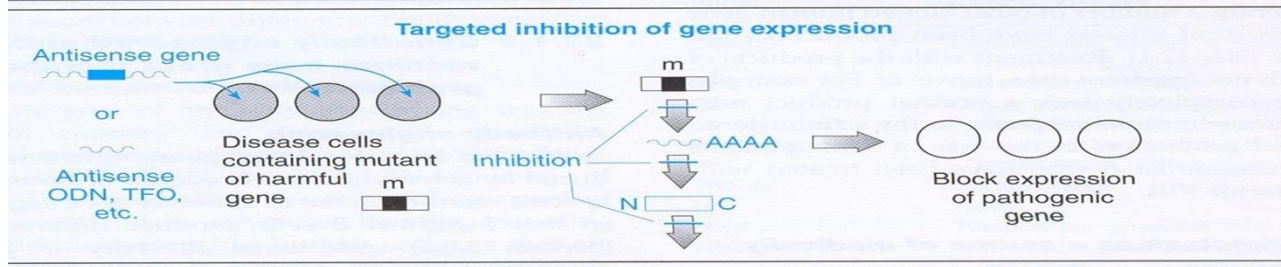
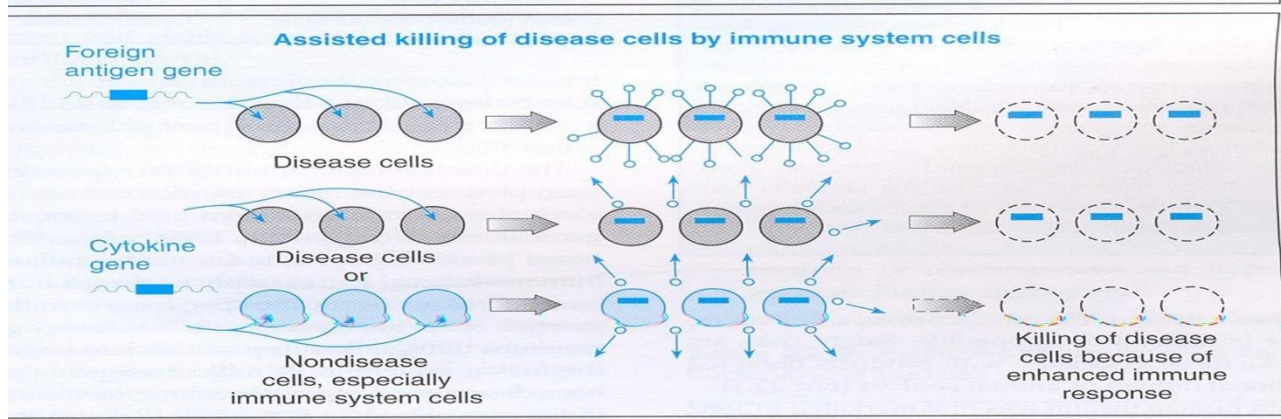
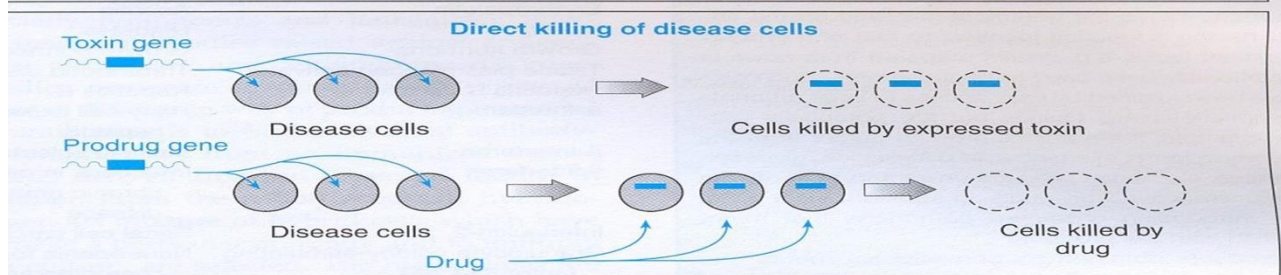
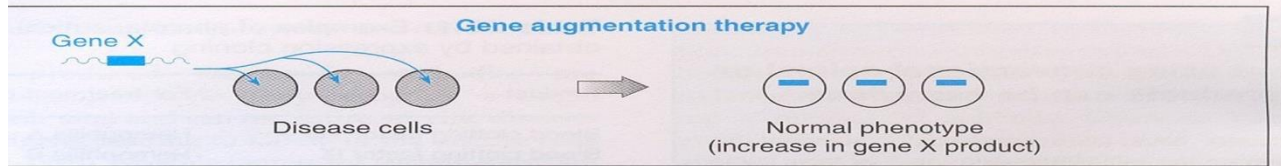
Nemoci imunitního systému

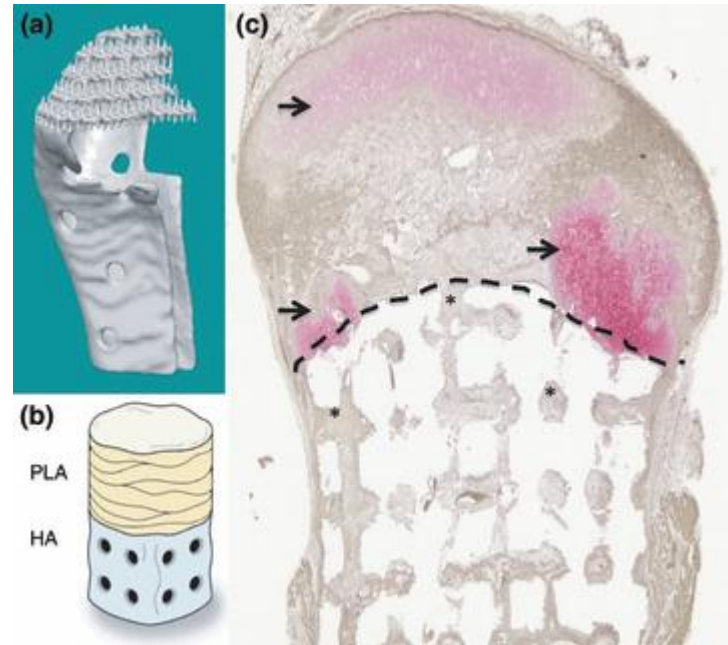
Genová terapie

- Zahrnuje jakoukoliv proceduru, určenou k léčení nemoci **genetickou modifikací buněk pacienta.**
- Do buněk se **transferují**: geny, jejich části nebo oligonukleotidy.
- Genová terapie *in vivo*: transfer přímo do buněk pacienta
- Genová terapie *in vitro*: genové modifikace probíhají mimo organismus
- Genová terapie *ex vivo*: modifikované buňky se vracejí do organismu

Principy genové terapie







Tissue Engineering v praxi: - temporomandibulární kloub.

(a) design teoretického, místně specifického implantátu temporomandibulárního kloubu pomocí pevné výroby bez formy

(b) Kompozitní konstrukce z PLLA s **diferencovanými prasečími chondrocyty a hydroxyapatitem (HA)**.

(c) Implantát za 4 týdny po implantaci.

Review Article

Tissue engineering: state of the art in oral rehabilitation

E. L. SCHELLER*, P. H. KREBSBACH* & D. H. KOHN*,† *Department of Biologic and Materials Sciences, School of Dentistry, **J**
 Oral Rehabil. 2009 Feb 17. [Epub ahead of print -**doporučuji přečíst!!!**]

Metody doručení genu do tkáně

vektor	kapa- cita	snadnost produkce	integrace do genomu	trvání exprese	transdukce nedělicích se buněk	existující imunita	bezpečnost	přeno s do poto mstva
nevirální	bez limitu	+++	zřídka	dočasná	++	ne	+++	ne
onko- retroviry	8 kb	++	ano	stabilní	-	ne	inserční mutagenese aktivace onkogenů	může
lentiviry	8 kb	+	ano	stabilní	++	ne	inserční mutagenese aktivace onkogenů	může
adenoviry	30 kb	+	ne	dočasná	+++	ano	hyperimunitní odpověď	ne
adeno- asociated virus AAV	4.6 kb	+	možná	dlouho- trvající	++	slabá	+++	může
Herpes viry	150 kb	+	ne	dočasná	++	ano	hyperimunitní odpověď	ne

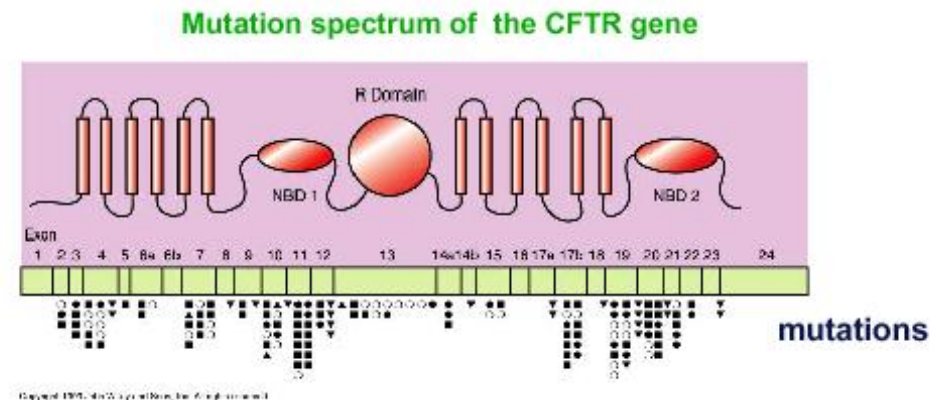
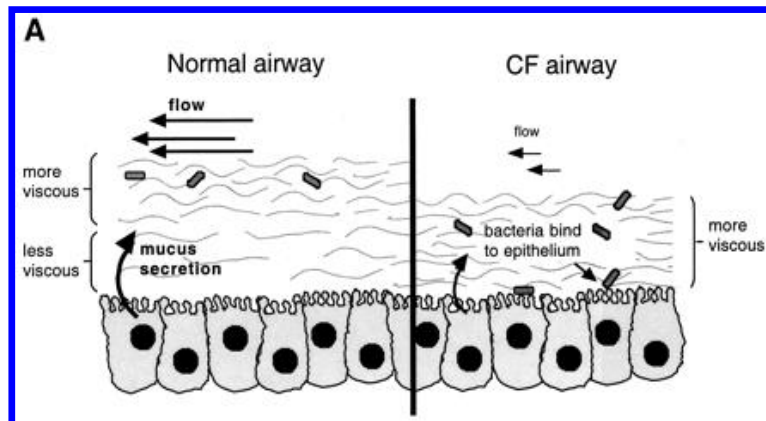
Nemoci v současnosti léčené genovou

terapií - př. ve fázi klinického testování

nemoc	defekt	cílové buňky	četnost
těžká imunodeficience (SCID)	adenin deaminasa	buňky kostní dřeně T-lymfocyty	1/1.000.000
hemofilie muži	krevní faktor VIII a IX	játra, svaly	1/1.000.000
Cystická fibrosa	CF	plicní alveoly	1/2.500
Deficience alfa-1-antitrypsinu	emfyzém	plicní alveoly	1/3.500
rakovina	nespecifické		1/4
Neurodegenerativní nemoci Parkinson, Alzheimer	degradace neuronů	neurony v mozku	1/250
infekční nemoci AIDS, hepatitis B		T-lymfocyty, makrofágy	

Cystická fibróza

- mutace v iontovém přenašeči CFTR transmembrane conductance regulator
- nejvíce postihuje plicní alveoly, střevní epitel a pankreas – zvýšena produkce hlenu, citlivost k plicním infekcím.
- výhodou pro terapii je že stačí pouze několik molekul proteinu na buňku aby se jí vrátila normální funkčnost.
- úspěšné pokusy v kulturách a na myších transformovaných pomocí liposomů
- u lidí se zavedla jako pomocná léčba sprejováním adenoviru nesoucího transgen CFTR do nosu, účinné v plicích, nepůsobí na slinivku

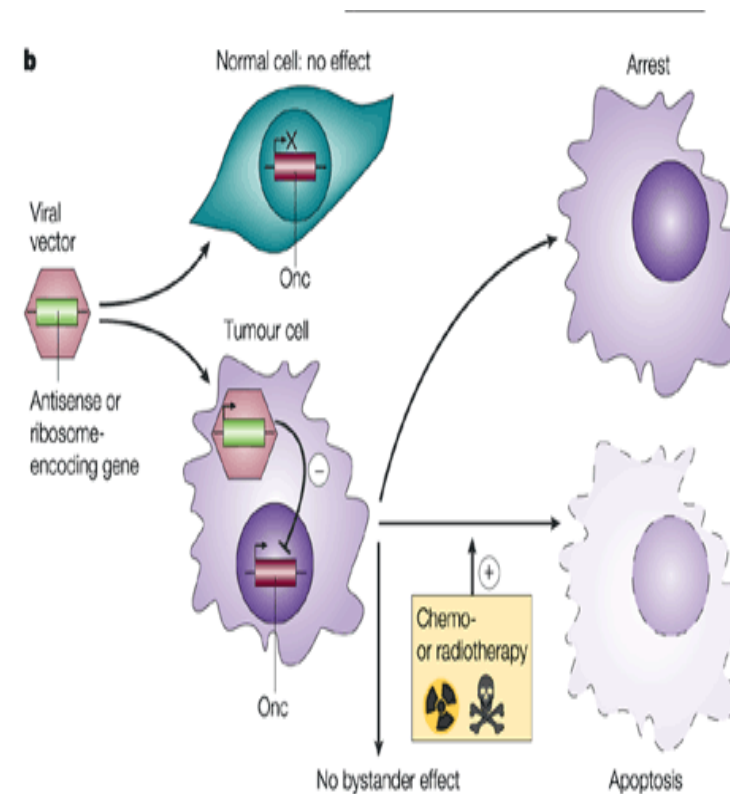
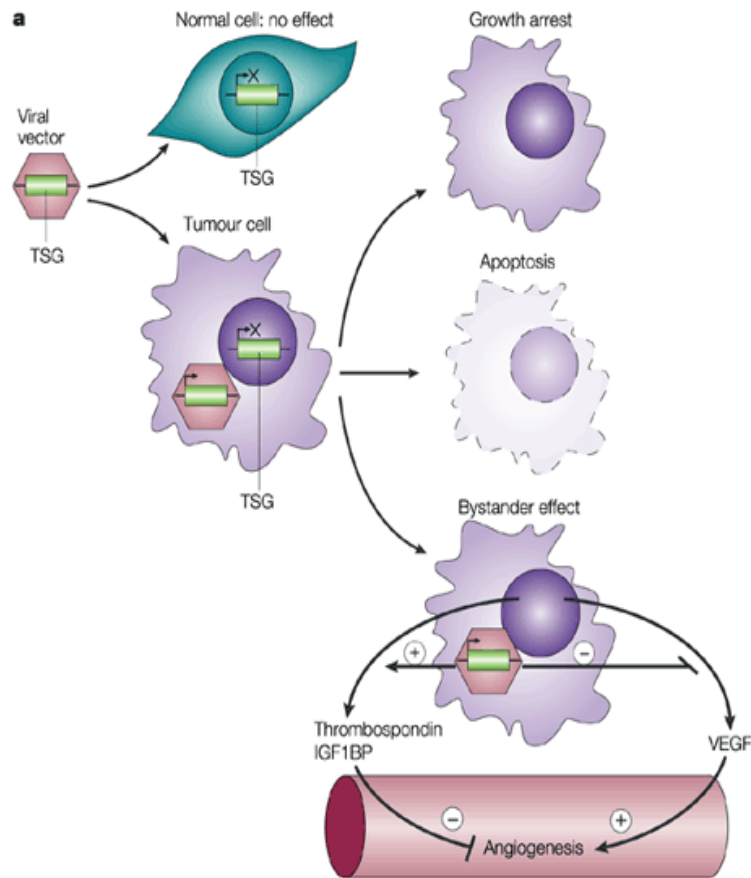


principy genové terapie rakoviny

využití onkoretrovirálních vektorů

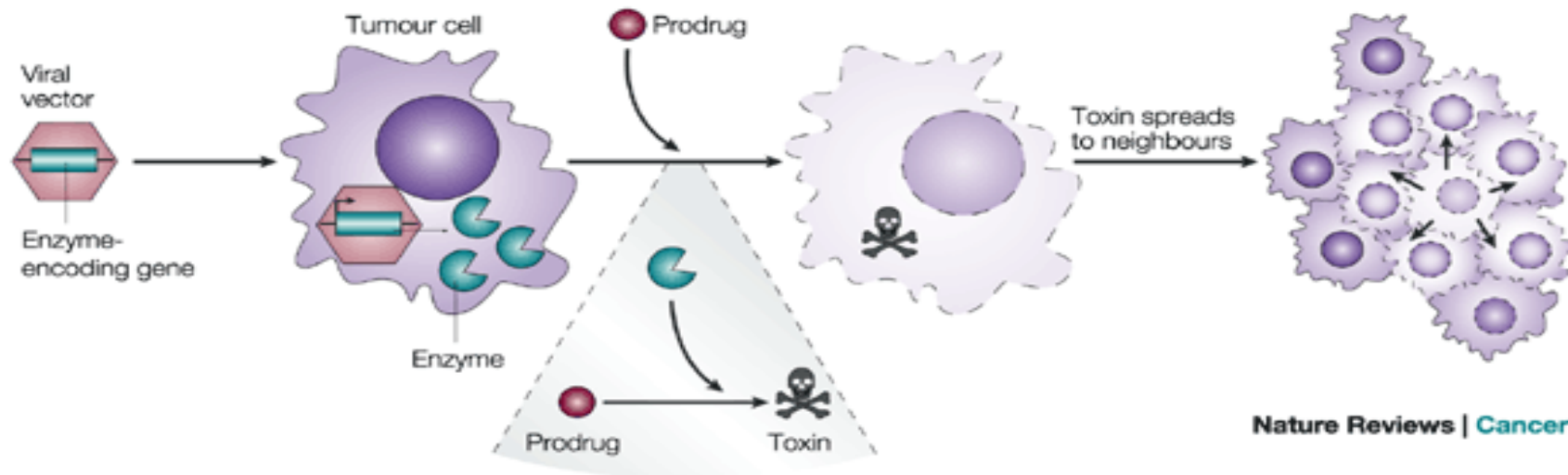
doručení nemutovaného supresorového genu p53

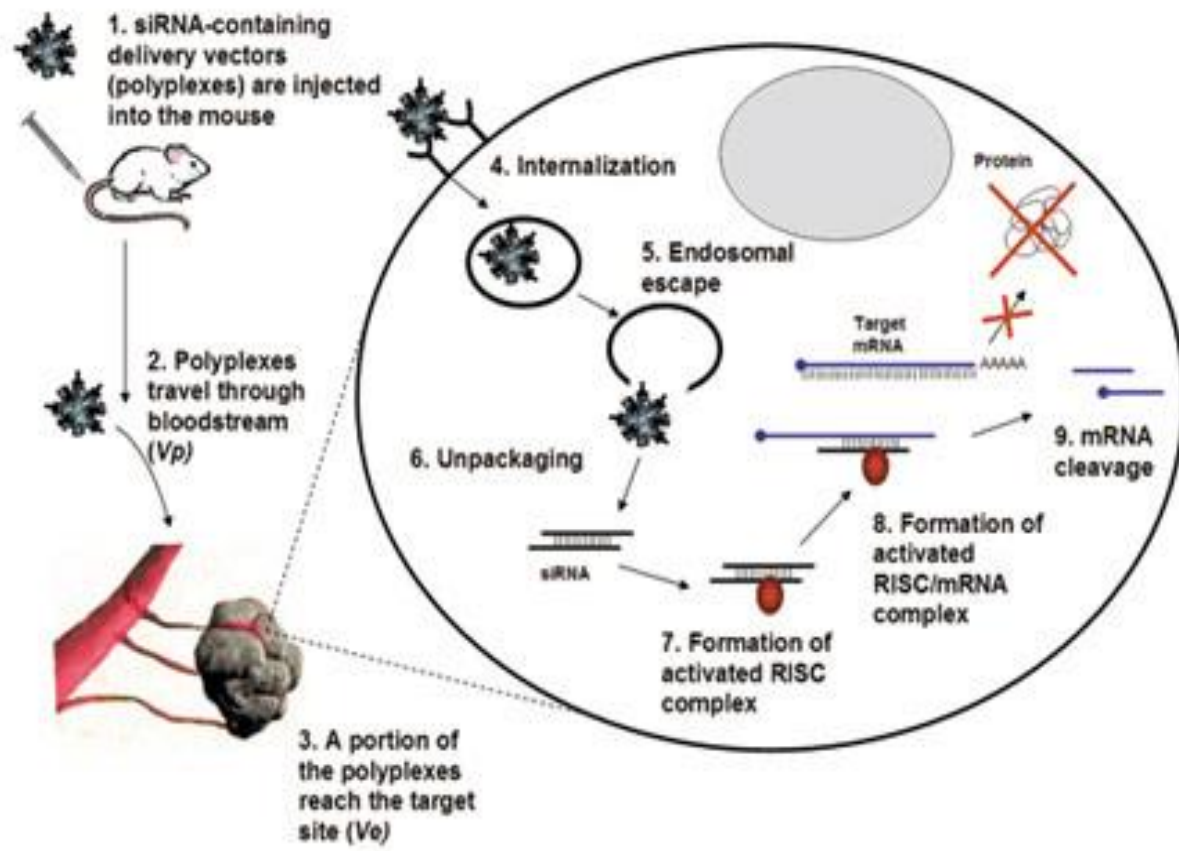
doručení konstruktu zajišťující zastavení exprese onkogenu (**antisense konstrukt**)



principy genové terapie rakoviny

doručení sebevražedného genu přeměňující pro-drug na toxin





Děkuji vám za pozornost 😊