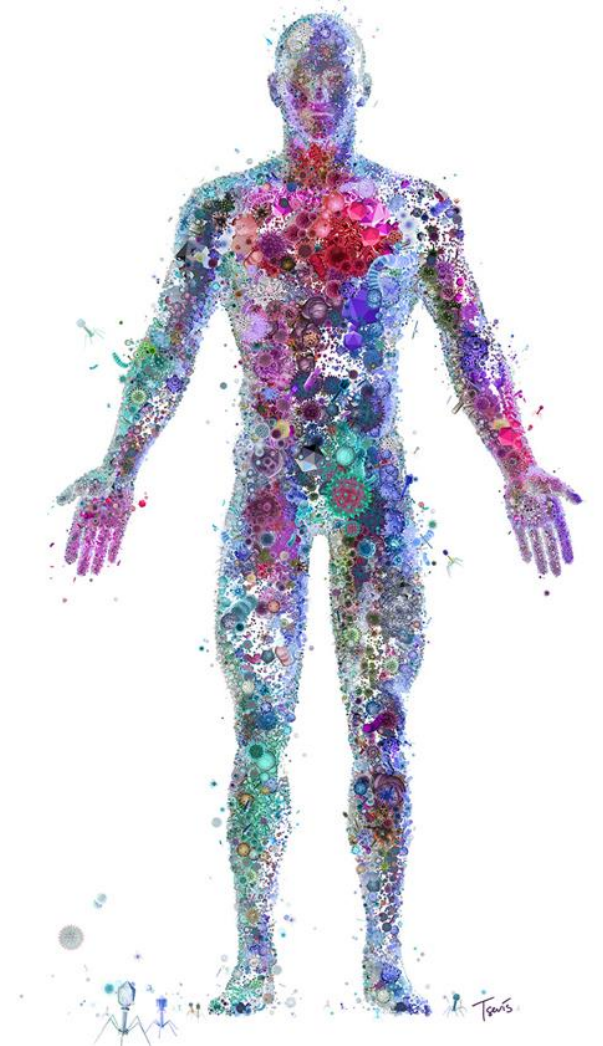


Etiopatogeneze multifaktoriálních chorob a lidský mikrobiom

doc. RNDr. Petra Bořilová Linhartová, Ph.D., MBA



Environmentální genomika

Výzkum a projekty

– DISCERN

2023-2025 HORIZON

– „Esophageal Cancer“

Co-PI, 2020-2023 AZV ČR

– „Cysts“

PI, 2020-2023 AZV ČR

– „Nano-floss with Probiotics“

Co-PI, 2020-2023 TAČR

– „Oral Health“

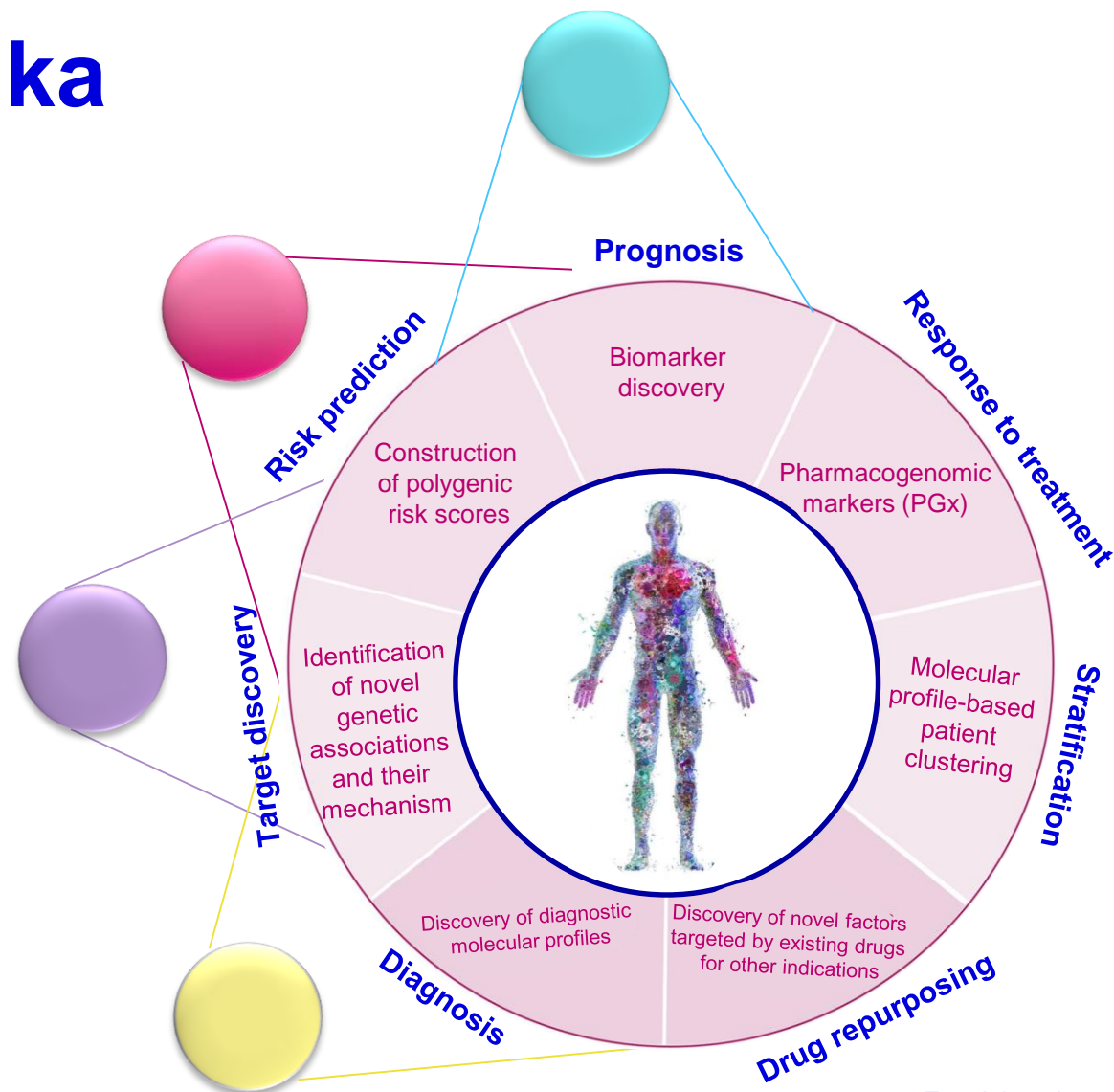
Co-PI, 2017-2020 AZV ČR

Epigenetics

Human genome analysis

Metagenomics

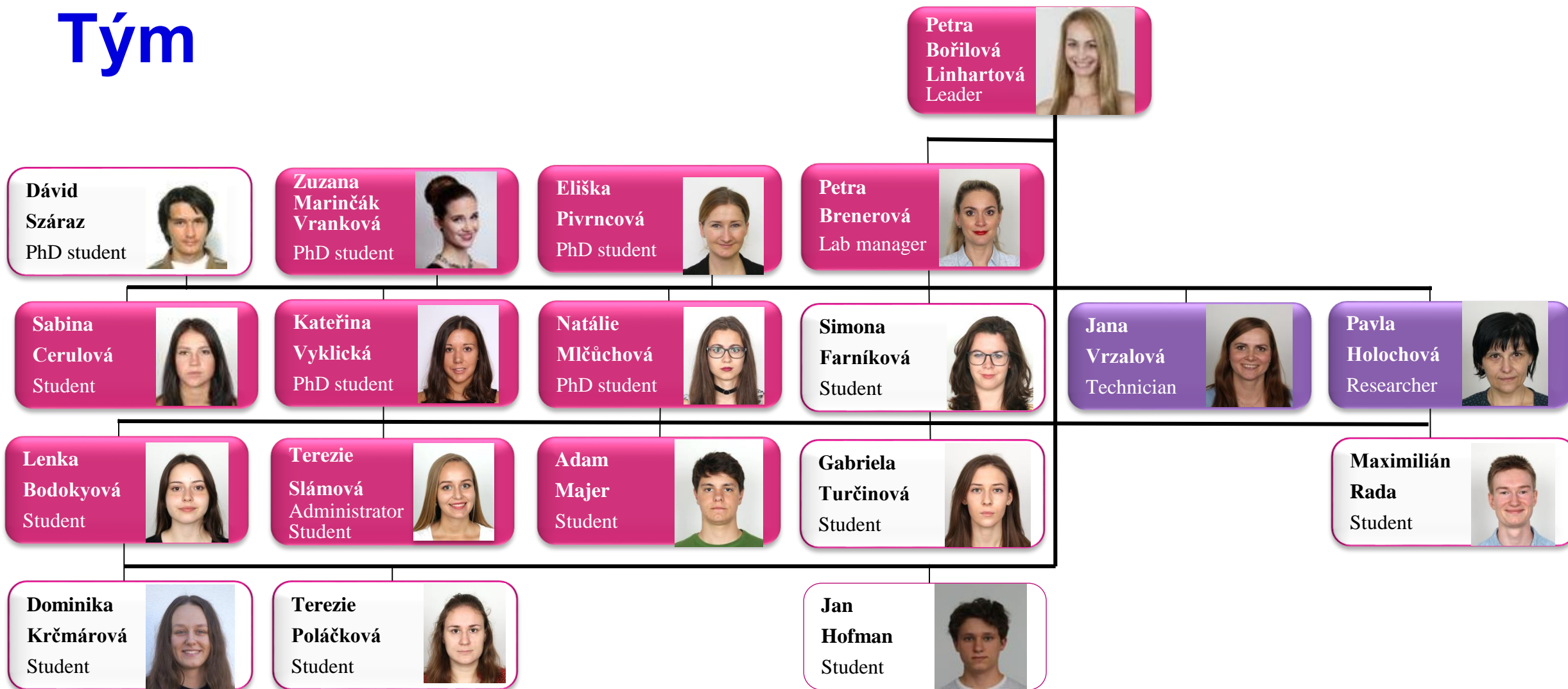
Transcriptomics



Zeggini et al., 2019

MUNI | RECETOX

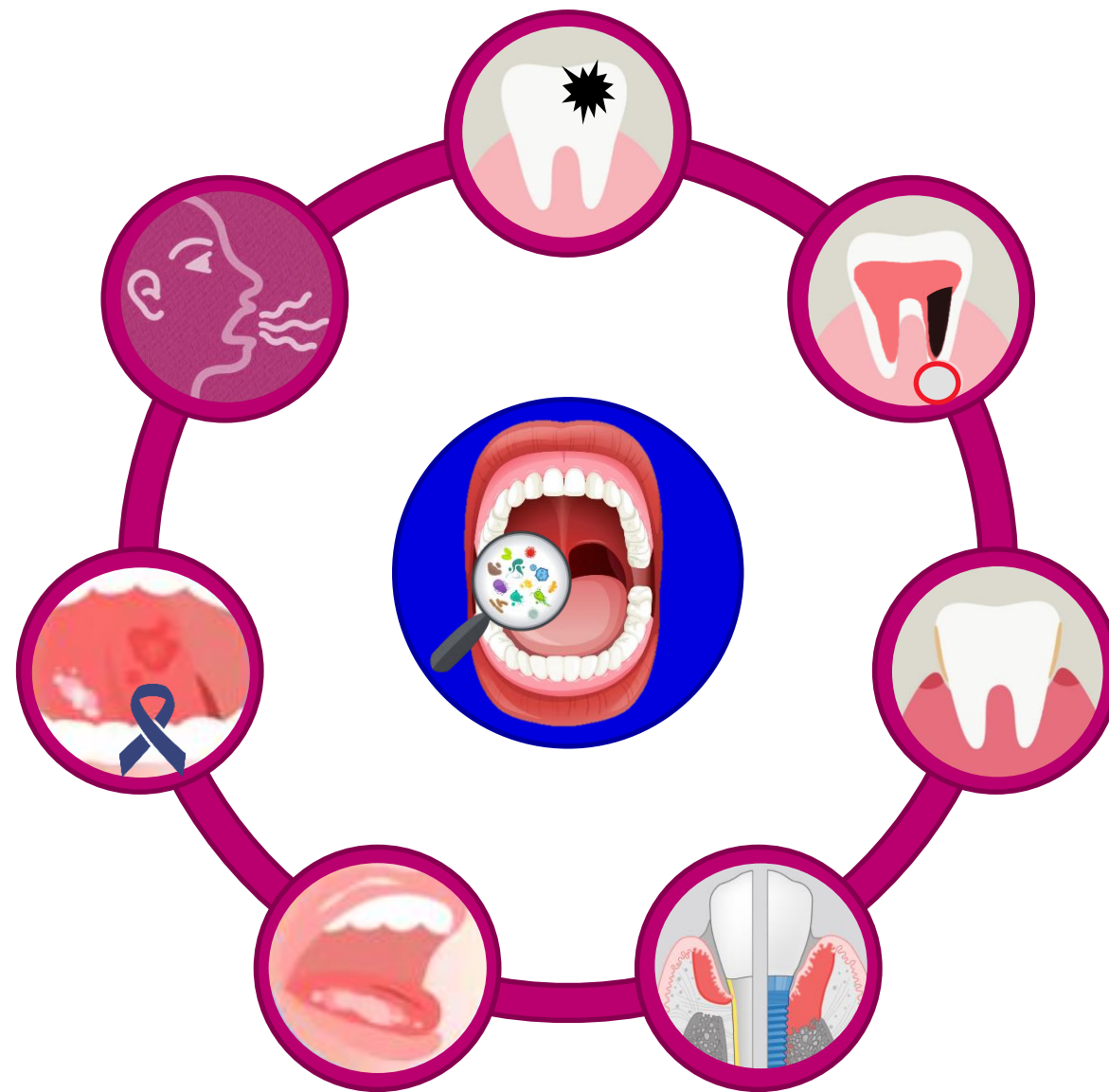
Tým



Orální dysbióza

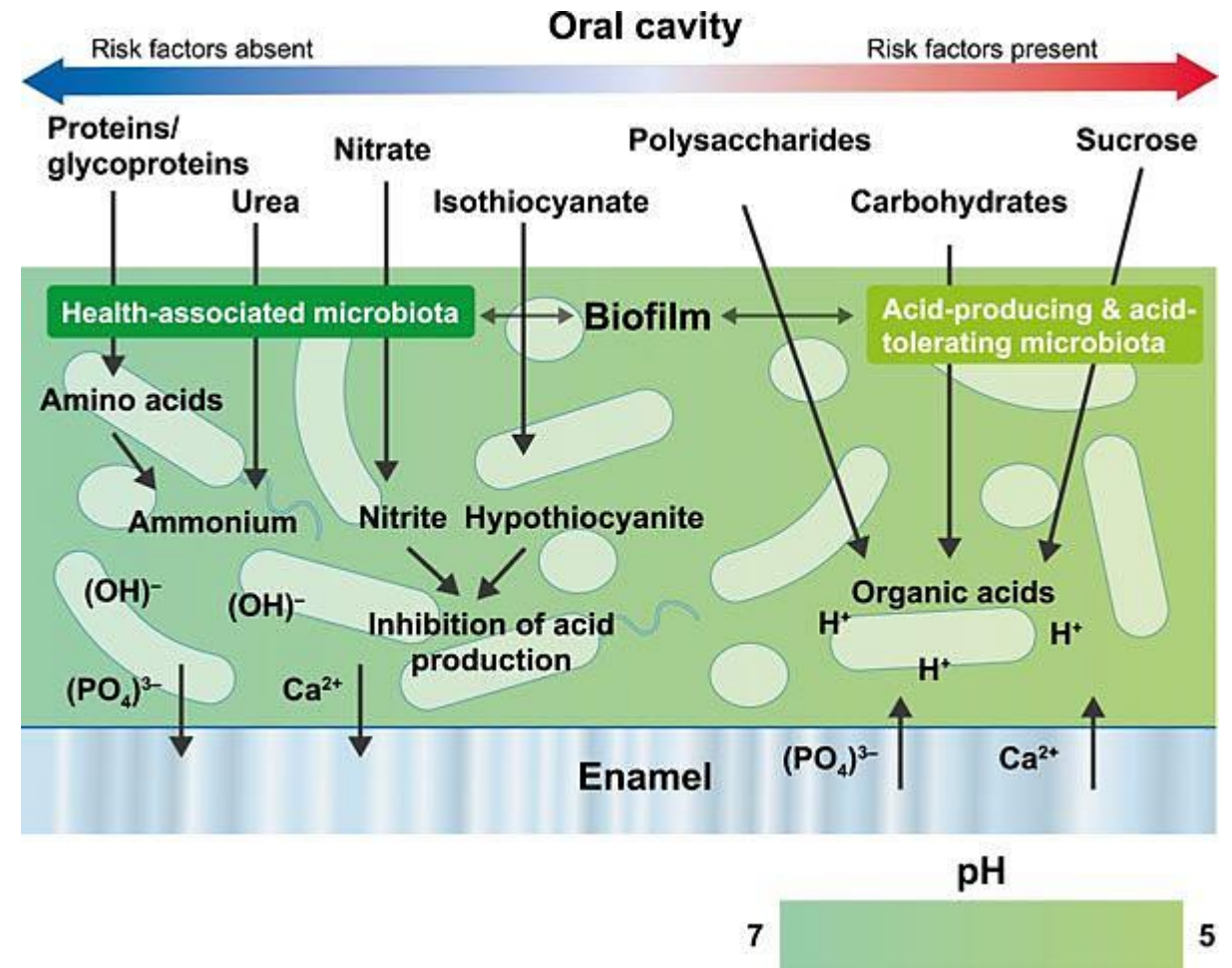
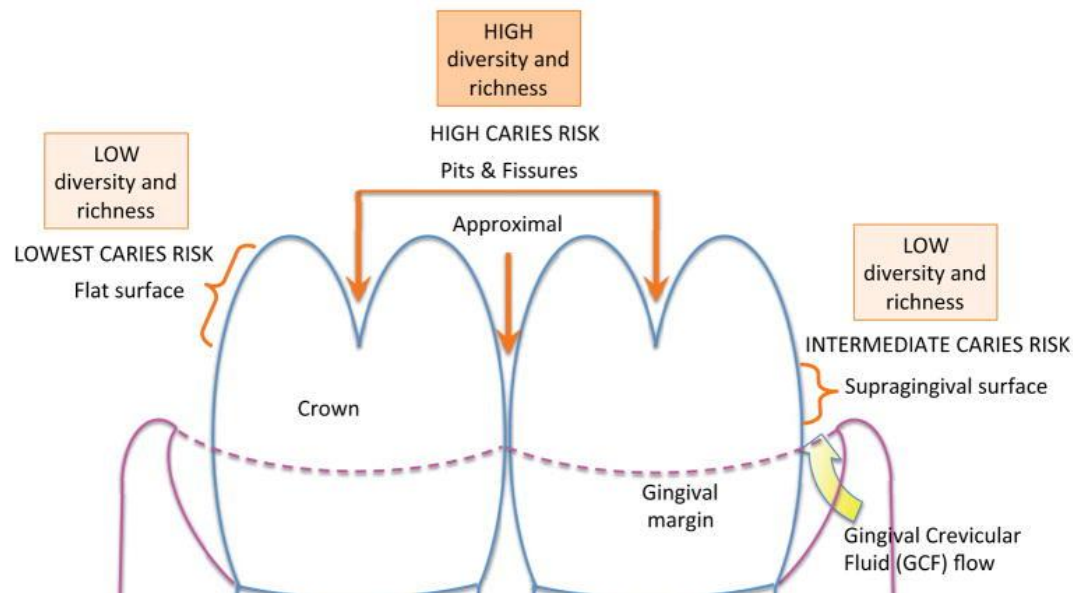
Orální choroby

- Zubní kaz
- Apikální periodontitida, radikulární cysta
- Parodontitida a Periimplantitida
- Osteonekróza čelisti
- Onemocnění sliznice dutiny ústní
 - Orální lichen planus, leukoplakie, SLE
 - Orální kandidóza
 - Léze v důsledku virových infekcí
- Nádorové onemocnění orofaciální oblasti
- Halitóza



Orální dysbióza

Orální choroby – Zubní kaz



Orální dysbióza

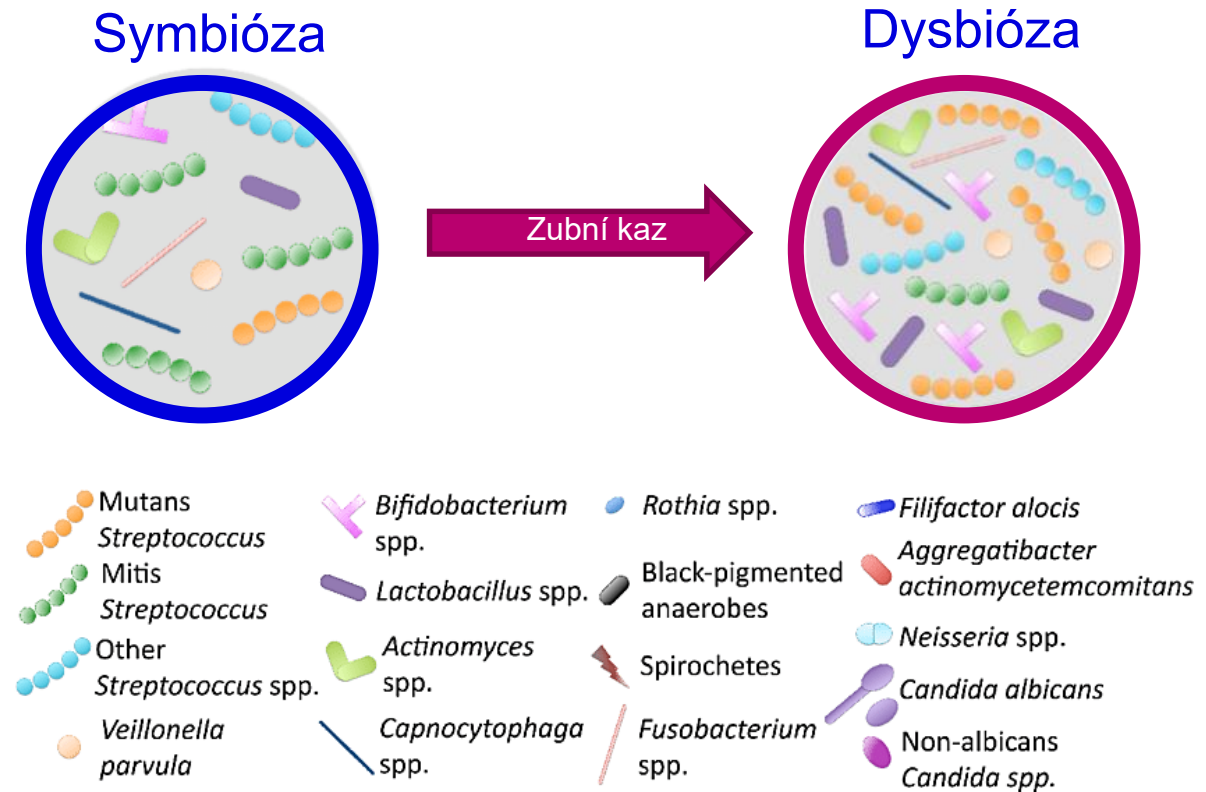
Orální choroby – Zubní kaz

– Acidogenní/acidurické bakterie

- *Streptococcus mutans*
- *Lactobacillus* sp.
- *Bifidobacterium* sp.
- Další *Streptococcus* sp.

– Klíčové vlastnosti

- Produkce kyselin
- Tolerance kyselého pH
- Produkce exopolymerů
- Produkce intracelulárních polysacharidů



Orální dysbióza

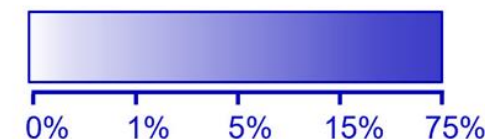
Orální choroby – Zubní kaz (sECC = závažný kaz v dočasném chrupu)



<i>Candida</i> spp.; n = 311	sECC; n = 164	controls; n = 147
<i>Candida</i> sp.	72.0%	18.4%
<i>C. albicans</i>	51.8%	13.6%
<i>C. dubliniensis</i>	22.0%	2.0%
<i>C. fabiannii</i>	0.6%	0.7%
<i>C. krusei</i>	1.2%	0
<i>C. tropicalis</i>	2.4%	0
<i>S. cerevisiae</i>	0.6%	0
<i>C. famata</i>	0	0.7%
<i>C. glabrata</i>	1.2%	0
<i>C. intermedia</i>	0.6%	0
<i>C. guilliermondii</i>	1.2%	0
<i>C. pelliculosa (utilis)</i>	1.2%	0.7%
<i>C. lusitaniae</i>	0	0.7%

Cariogenic bacteria; n = 179	sECC; n = 75	controls; n = 104
** <i>Streptococcus mutans</i>	38.7%	1.0%
** <i>Lactobacillus</i> sp.	53.3%	30.8%
** <i>Actinomyces</i> sp.	33.3%	57.7%

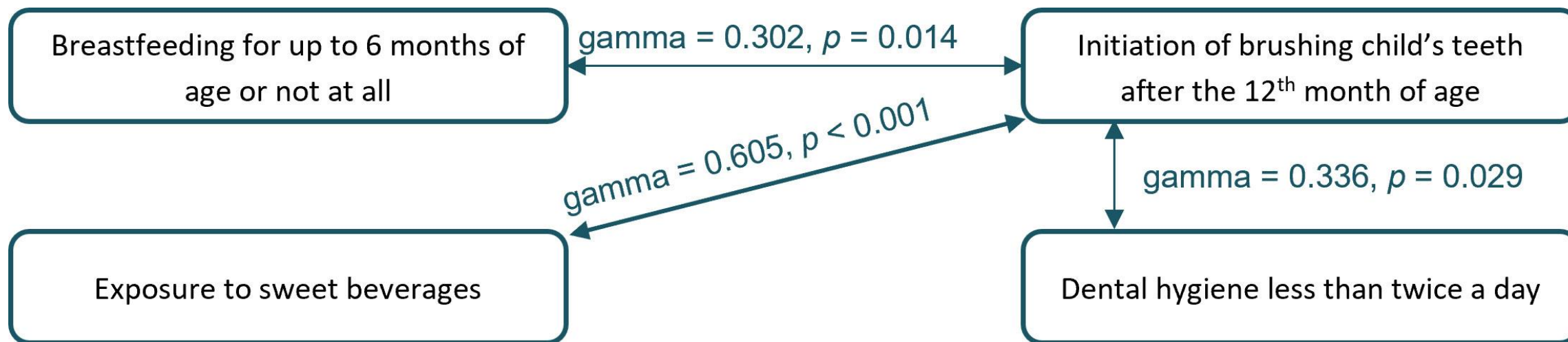
Periodontal bacteria; n = 207	sECC; n = 103	controls; n = 104
<i>A. actinomycetemcomitans</i>	44.7%	26.9%
<i>Porphyromonas gingivalis</i>	3.9%	1.0%
<i>Tannarella forsythia</i>	8.7%	0
<i>Treponema denticola</i>	7.8%	1.0%
<i>Parvimonas micra</i>	15.5%	3.8%
<i>Prevotella intermedia</i>	5.8%	1.0%
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	73.8%	62.5%



Occurrence of microorganisms (log₂ scale)

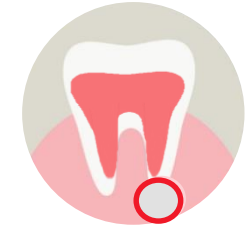
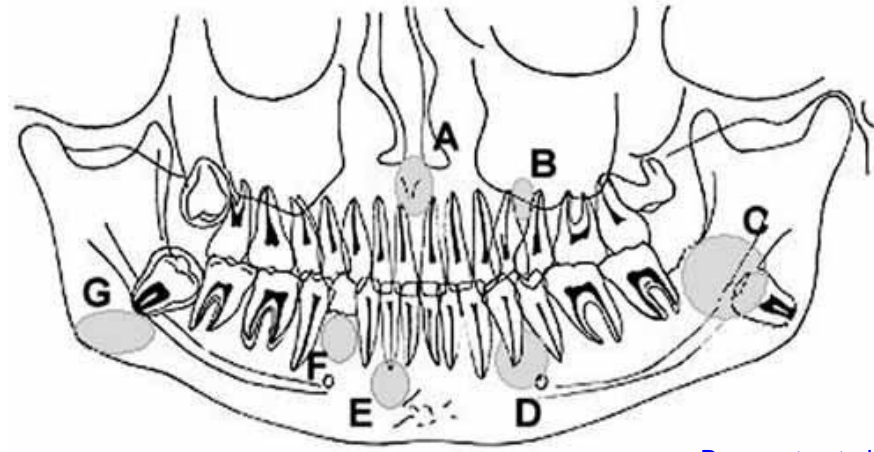
Orální dysbióza

Orální choroby – Zubní kaz (sECC = závažný kaz v dočasném chrupu)



Orální dysbióza

Orální choroby – Apikální periodontitida



[Bernaerts et al., 2006](#)

TOOTH with APICAL PERIODONTITIS



RADICULAR CYST

CRYO-MILL



DENTAL PLAQUE SWAB

POWDER from TOOTH

CYSTIC FLUID

DNA isolation
QIAamp®
DNA Mini Kit
(QIAGEN)

16S rDNA
amplification

Illumina
sequencing
NovaSeq

Data
analysis



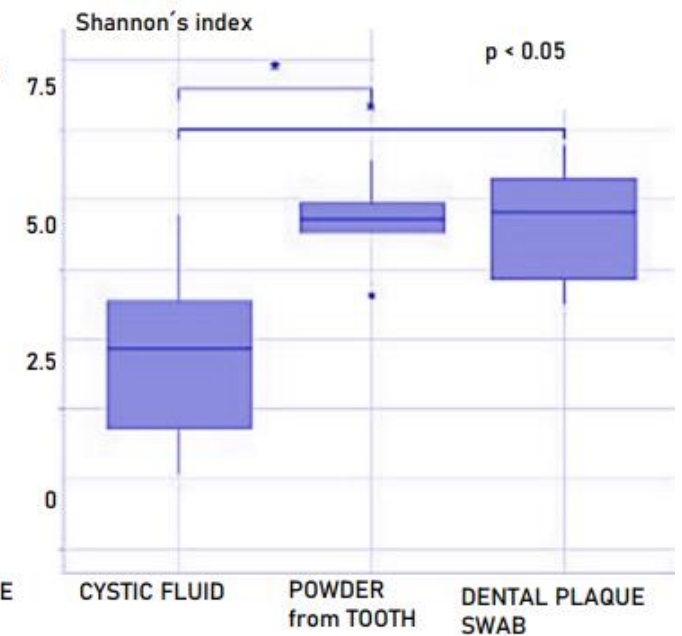
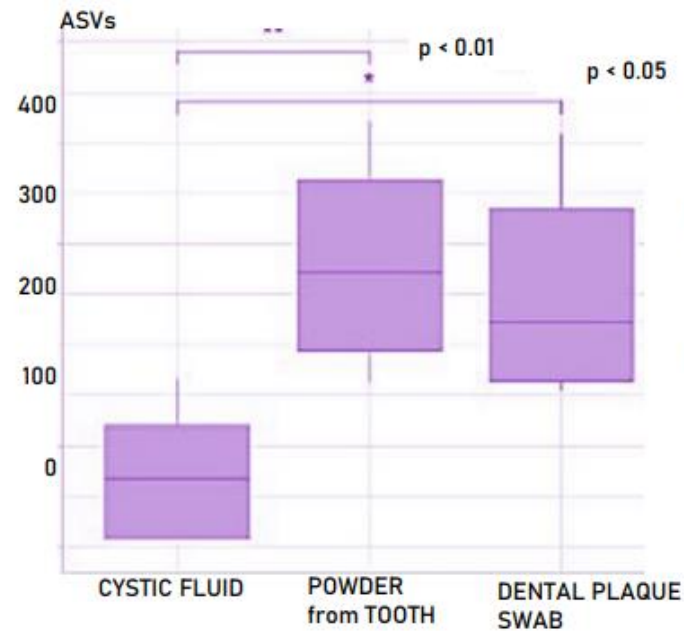
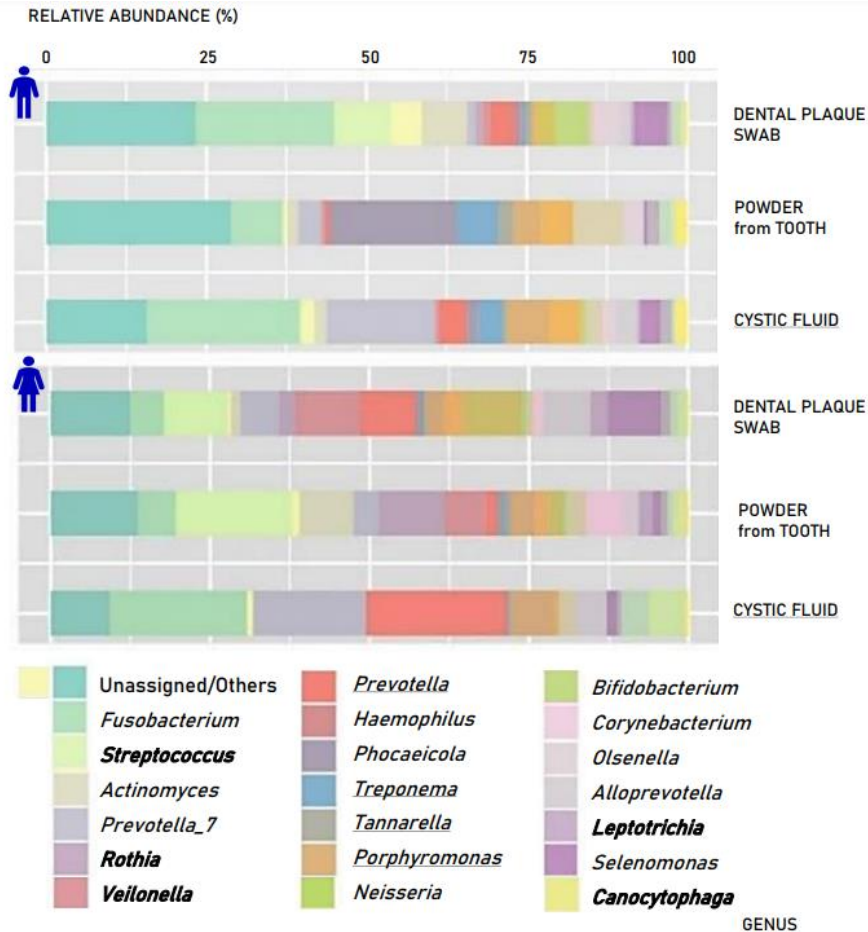
HYPERVARIABLE REGIONS
CONSERVED REGIONS

V1 V2 V3 V4 V5 V6 V7 V8 V9



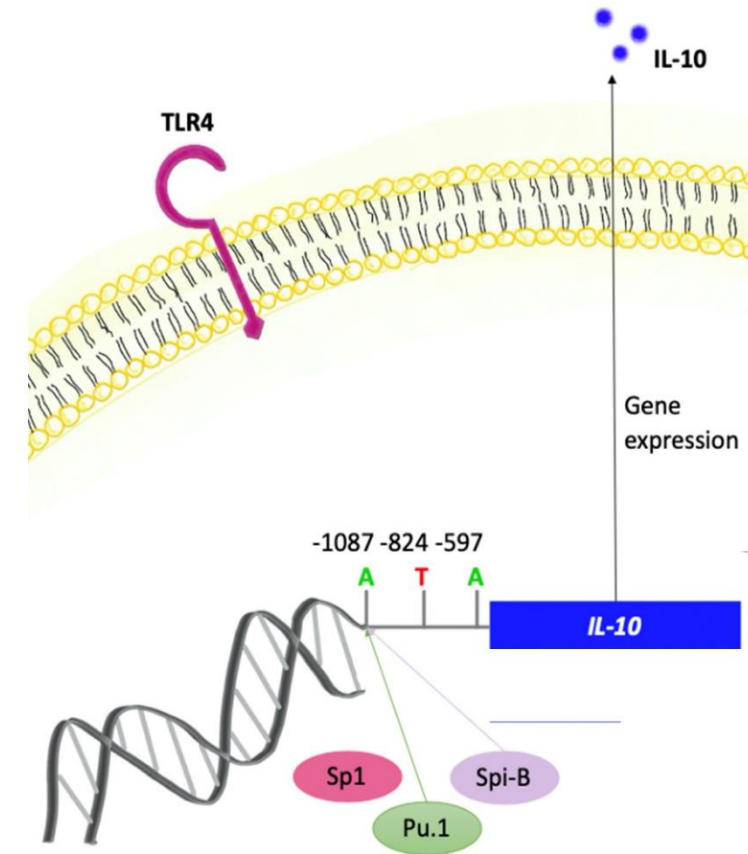
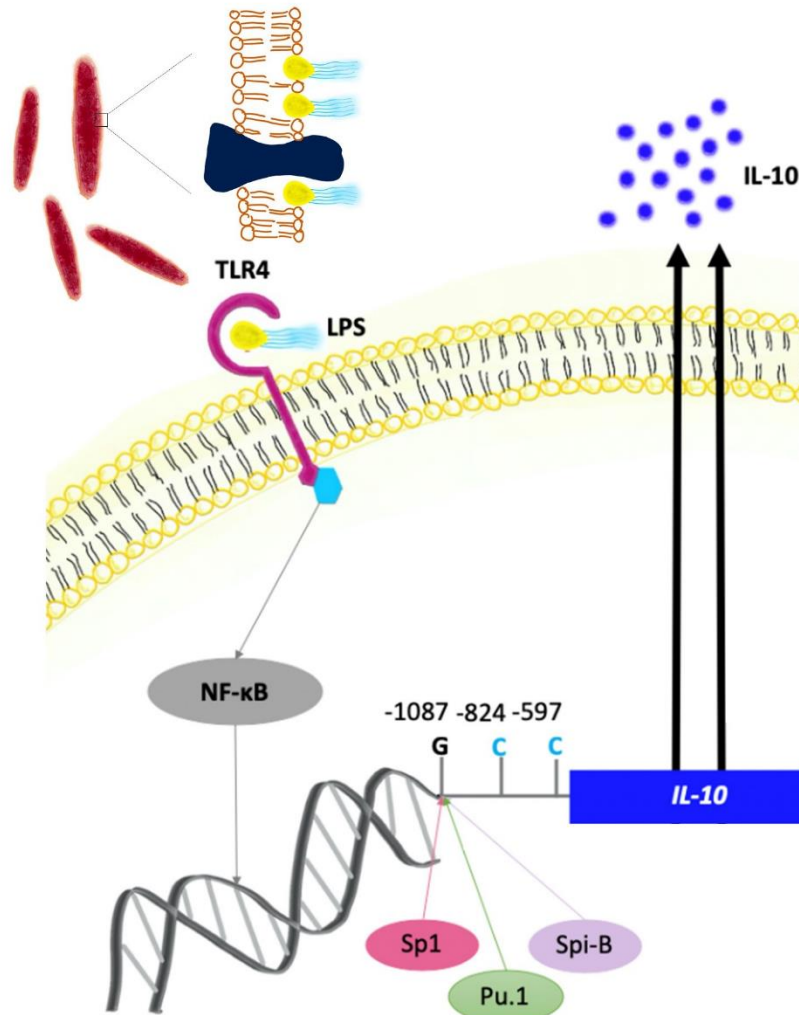
Orální dysbióza

Orální choroby – Apikální periodontitida



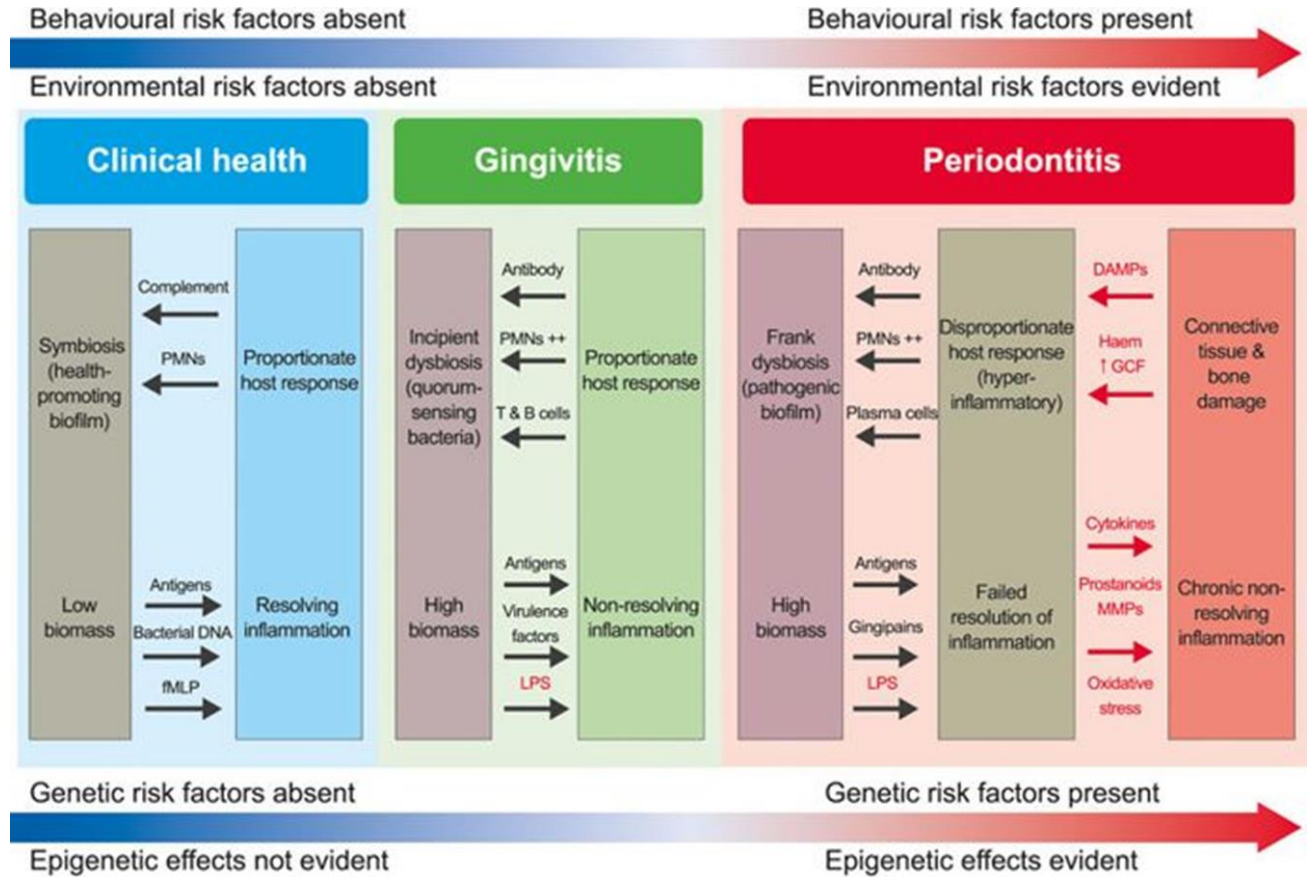
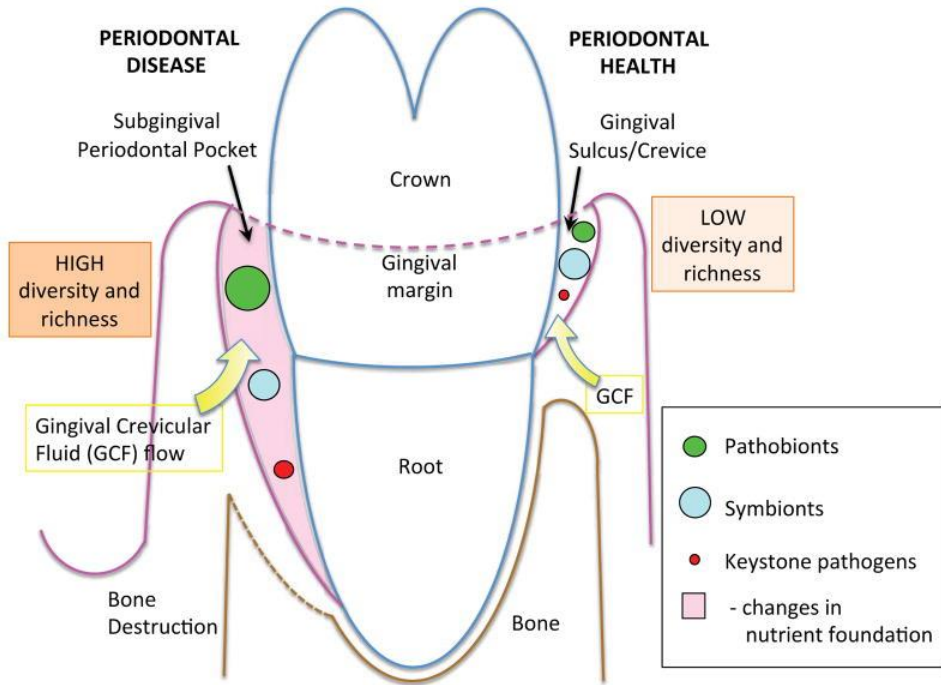
Imunogenetický profil

Orální choroby - periodontitida



Orální dysbióza

Orální choroby – Parodontitida



Orální dysbióza

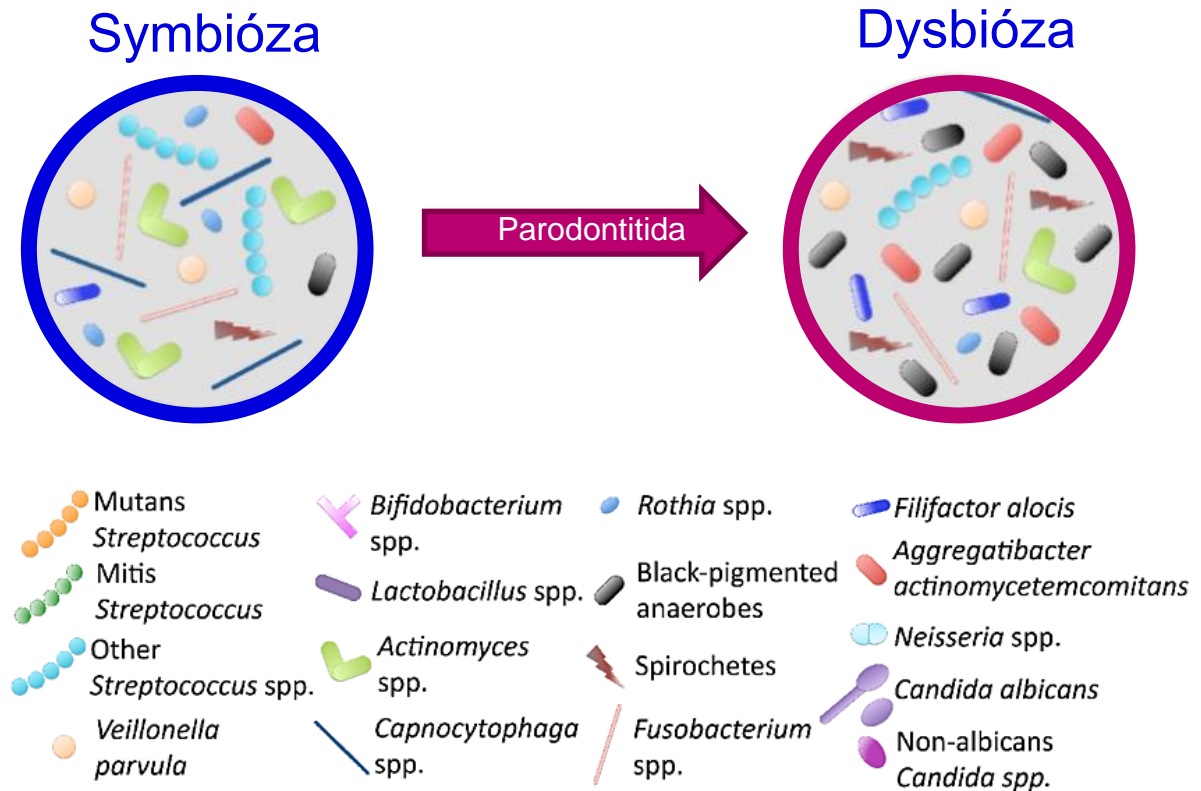
Orální choroby – Parodontitida

– Anaerobní a proteolytické bakterie

- *Porphyromonas gingivalis*
- *Tanarella forsythia*
- *Treponema denticola*
- a další

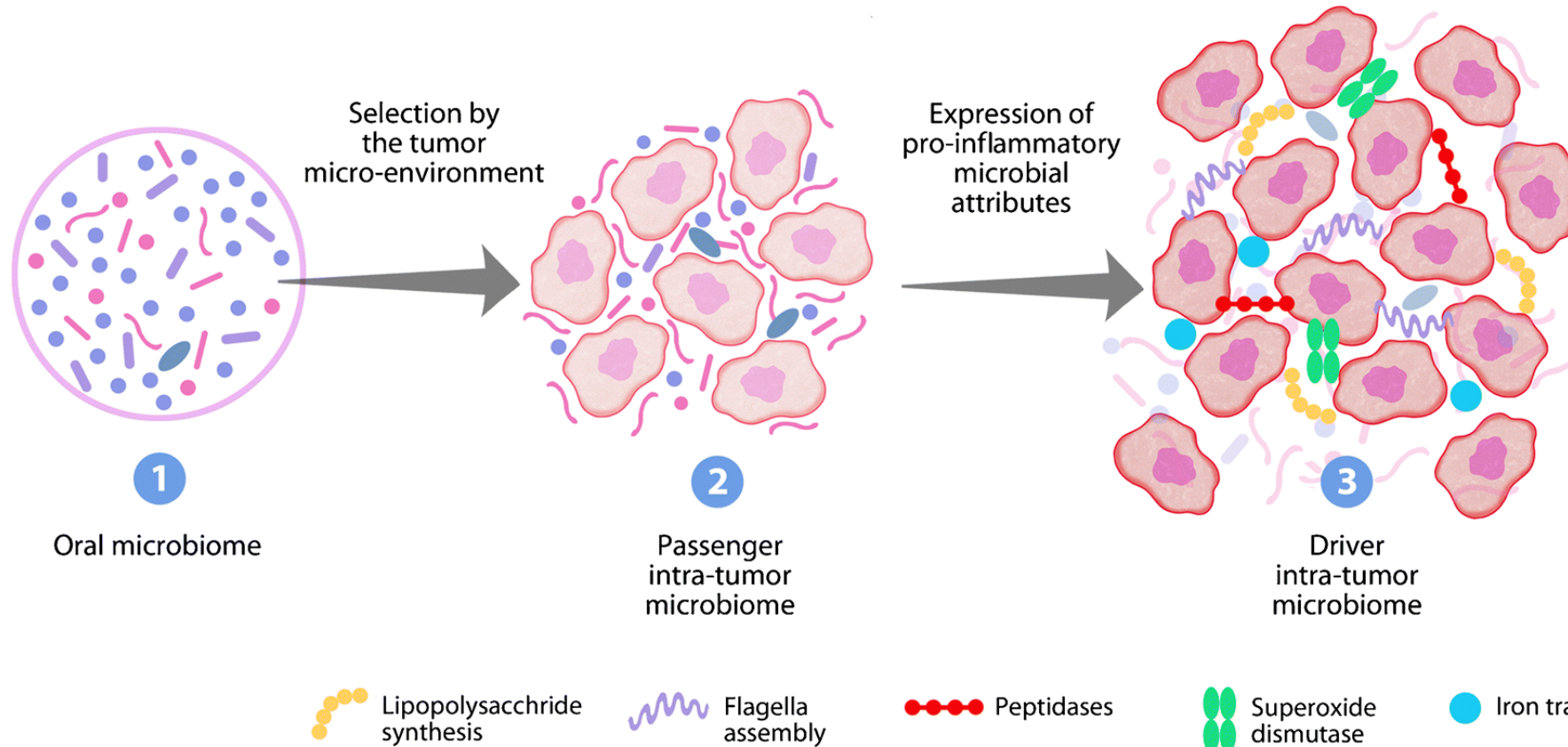
– Klíčové vlastnosti

- Produkce proteáz
- Produkce LPS
- Cytotoxiny
- Vyvolání prozánětlivé reakce (cytokiny)



OSCC

Etiopatogeneze



ABL1	CTNNB1	FGFR3	JAK3	NF2	RET
AKT1	DDR2	FLT3	KDR	NOTCH1	SMAD4
ALK	DNMT3A	FOXL2	KIT	NPM1	SMARCB1
APC	EGFR	GNA11	KRAS	NRAS	SMO
ATM	ERBB2	GNAQ	MAP2K1	PDGFRA	SRC
BRAF	ERBB3	GNAS	MET	PIK3CA	STK11
BRCA1	ERBB4	HNF1A	MLH1	PIK3R1	TERT
BRCA2	EZH2	HRAS	MPL	PTCH1	TP53
CDH1	FBXW7	IDH1	MSH6	PTEN	TSC1
CDKN2A	FGFR1	IDH2	MTOR	PTPN11	VHL
CSF1R	FGFR2	JAK2	NF1	RB1	

<https://www.paragonomics.com/product/cleanplex-oncozoom-cancer-hotspot-panel/>

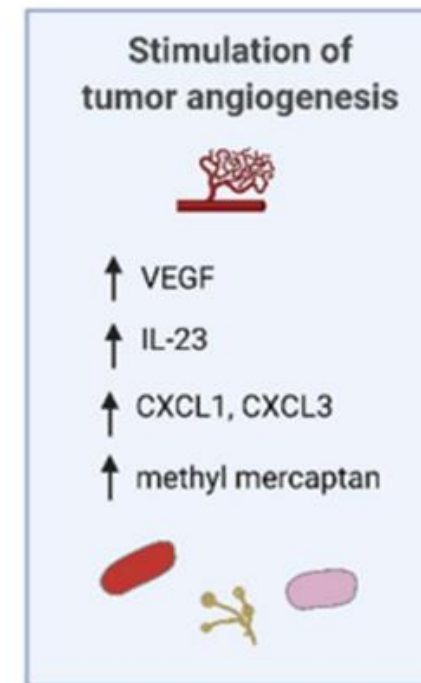
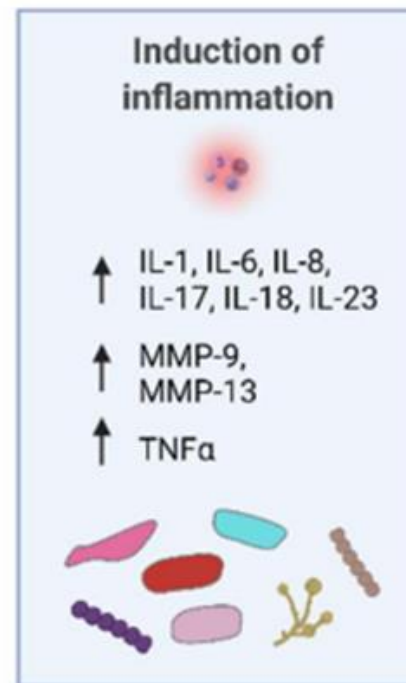
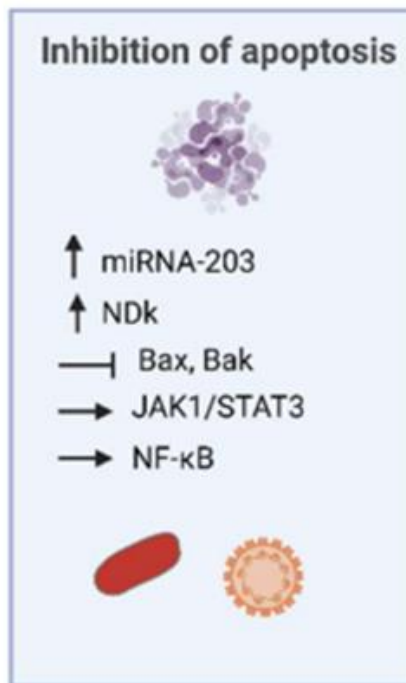
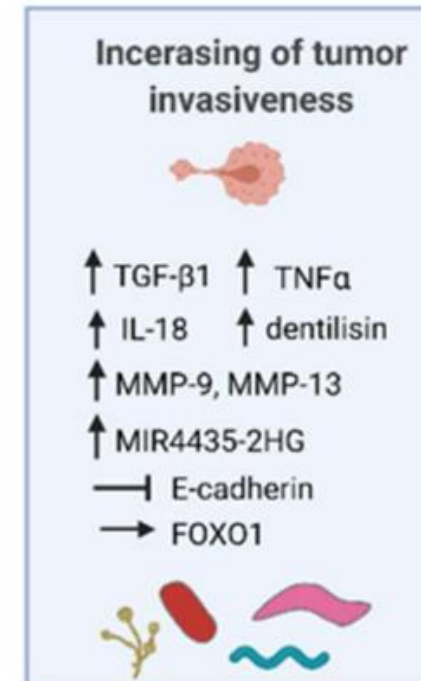
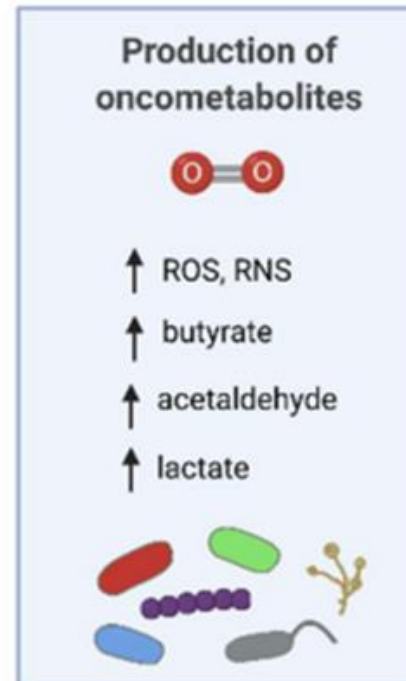
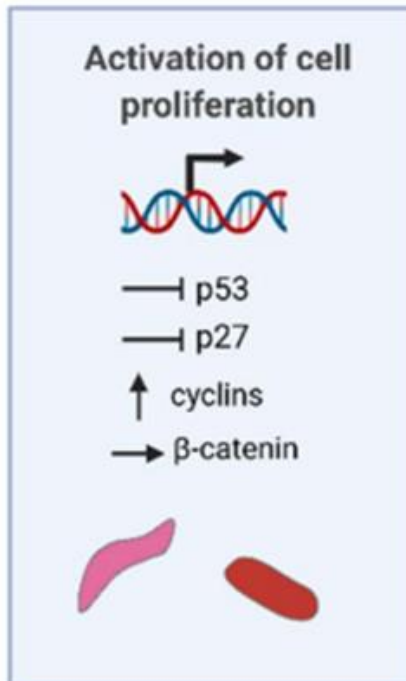
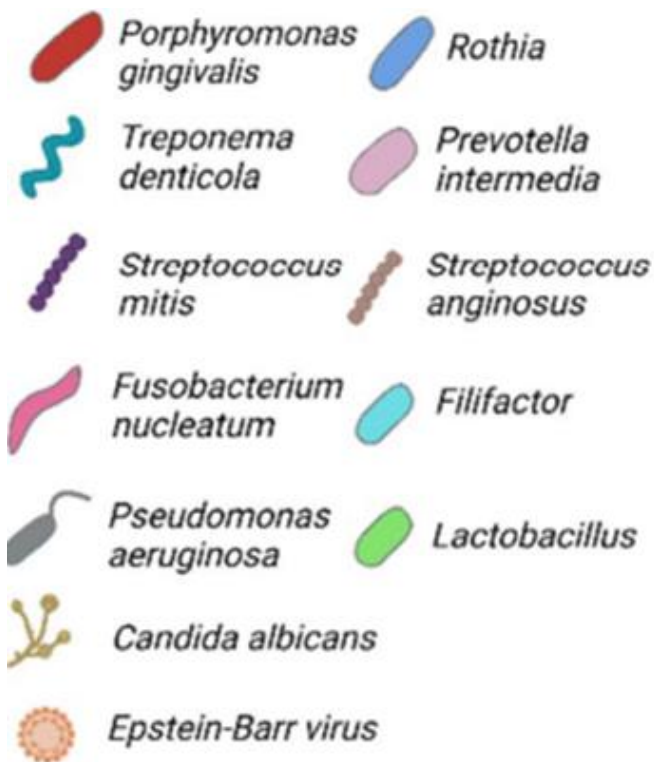
Sustained inflammation:
 Tumor proliferation
 Tumor invasion
 Tumor metastasis

T. Hebshi
 © 2019 JHU/AAM

Orální dysbióza

Orální choroby – Orální dlaždicobuněčný karcinom

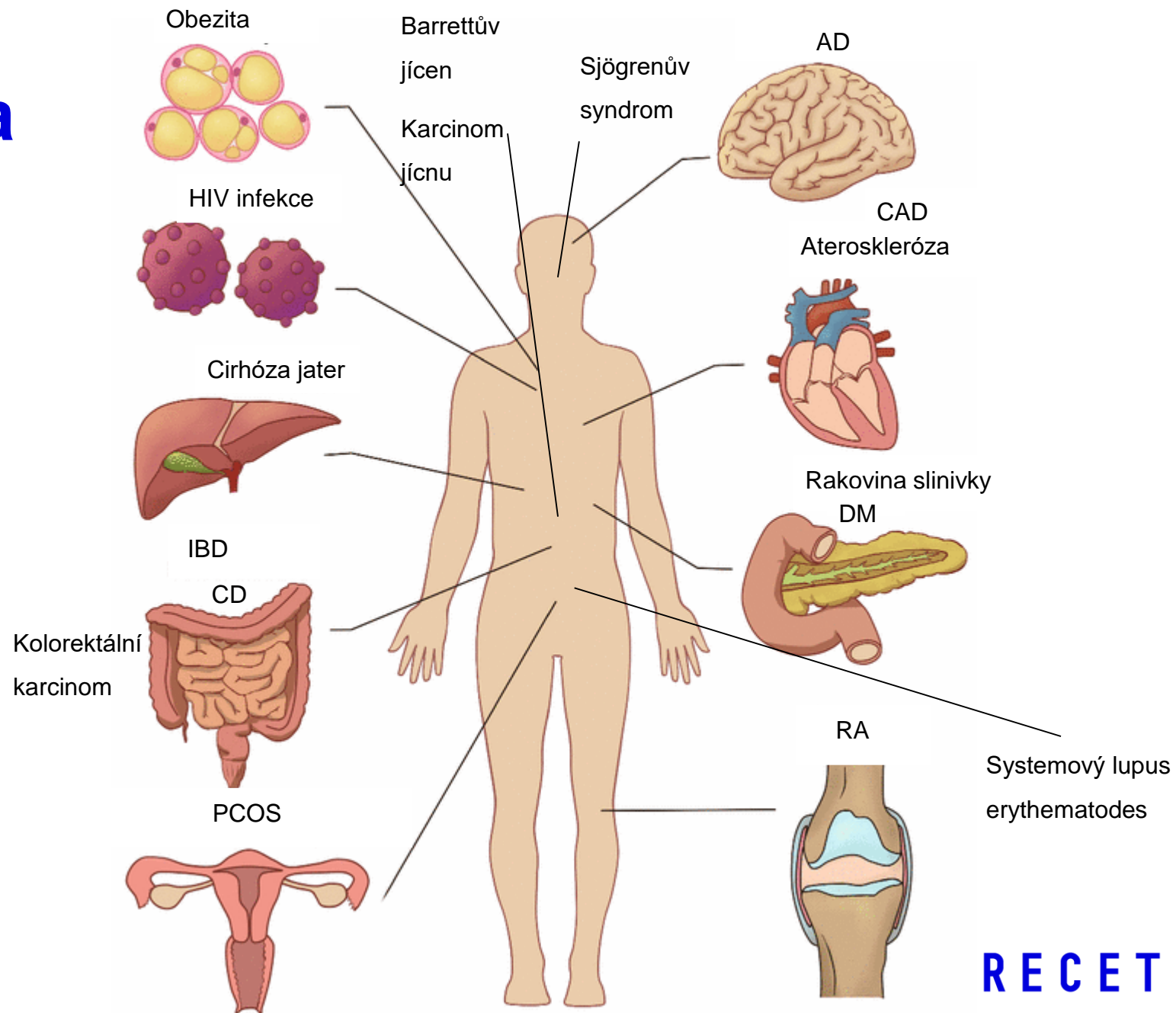
– Anaerobní a proteolytické bakterie



Orální dysbióza

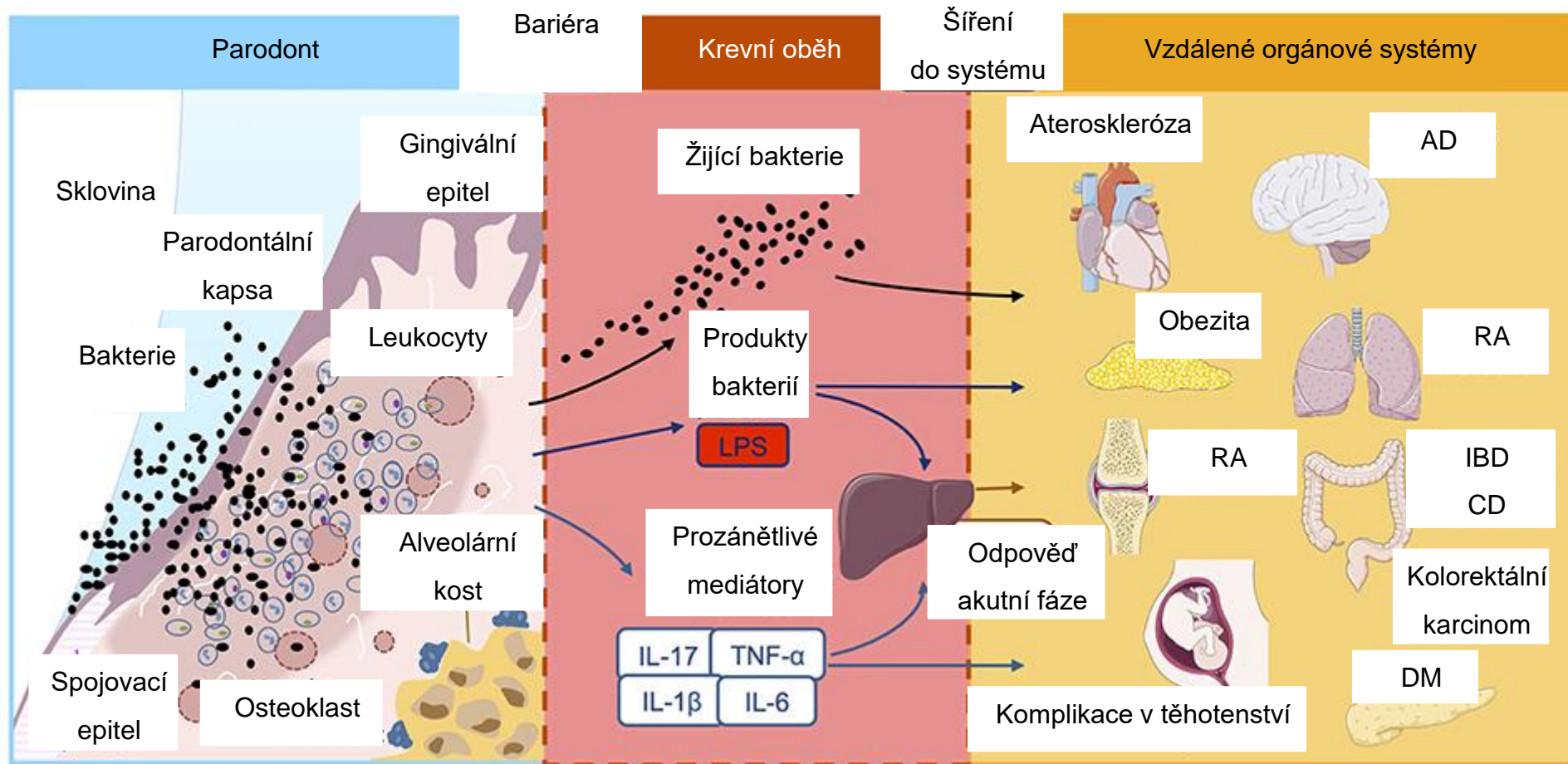
Systémová onemocnění

- *Streptococcus mutans*
- *Porphyromonas gingivalis*
- *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*
- *Fusobacterium nucleatum*



Orální dysbióza

Systémová onemocnění



Probiotika v nanoniti

TAČR 2020-2023 Use of nanofibres for application of bioactive substances using dental floss

 Wikinomist



doc. Ing. Eva Kuželová Košťáková, Ph.D.



Univerzita obrany
v Brně



mjr. prof. Ing. Zdeněk Pokorný, Ph.D.

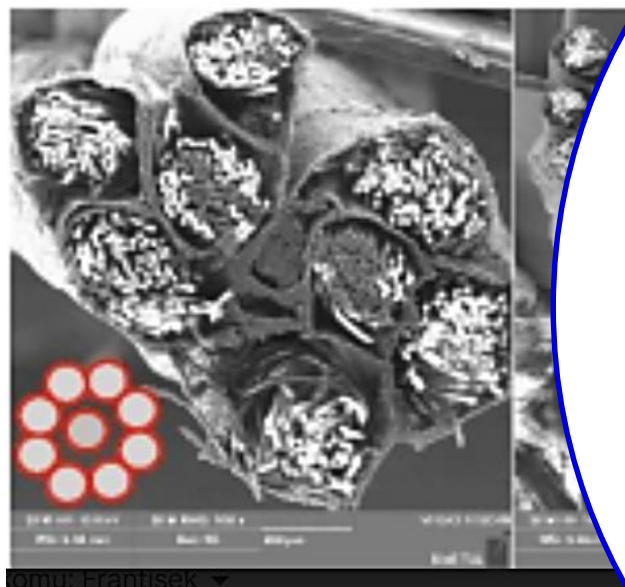
MUNI



doc. RNDr. Petra Bořilová Linhartová, Ph.D., MBA

Probiotika v nanoniti

TAČR 2020-2023 Use of nanofibres for applications using dental floss



Aplikace
Prevence



Refluxní choroba jícnu

AZV 2020-2023 Host microbiome in relation to Barrett's esophagus and esophageal adenocarcinoma development



prof. MUDr. Zdeněk Kala, CSc.



MUDr. Tomáš Haruštiak, Ph.D.



doc. MUDr. Ondřej Urban, Ph.D.



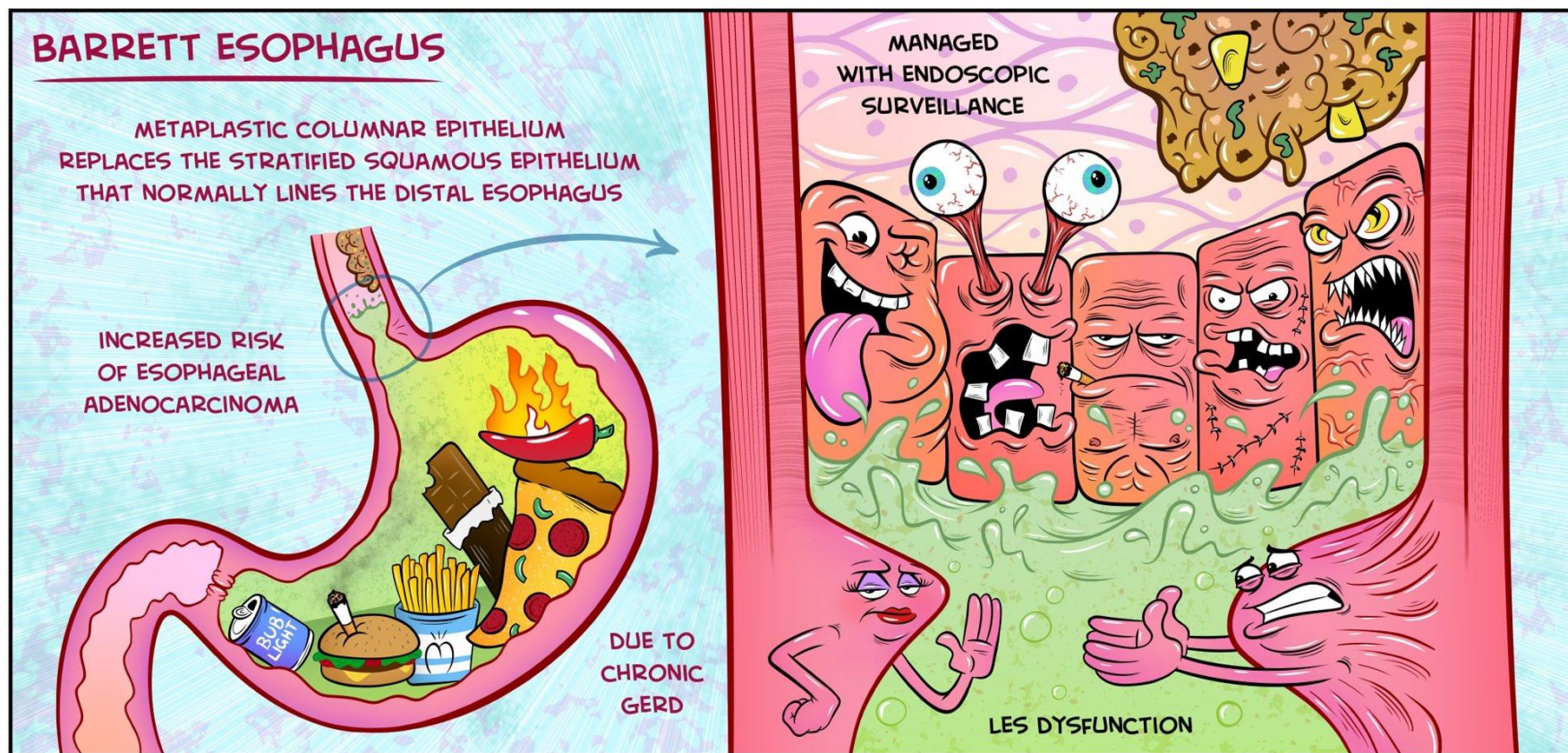
MUNI | RECETOX
doc. RNDr. Petra Bořilová Linhartová, Ph.D., MBA

Refluxní choroba jícnu

esophageal squamous cell carcinoma (ESCC)

AZV 2020-2023

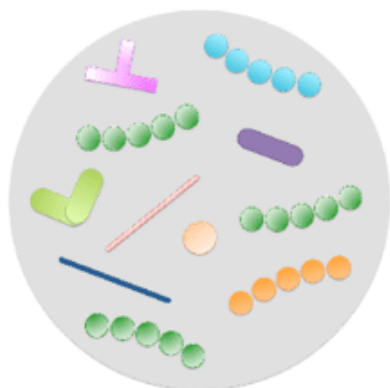
Host microbiome in relation to Barrett's esophagus (BE) and esophageal adenocarcinoma (EAC) development



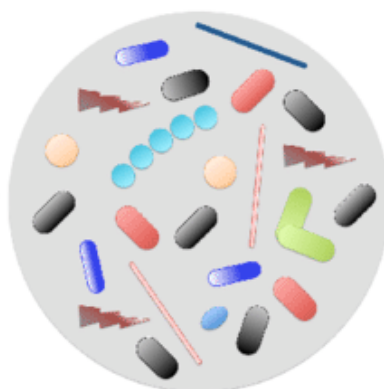
Refluxní choroba jícnu

Etiopatogeneze

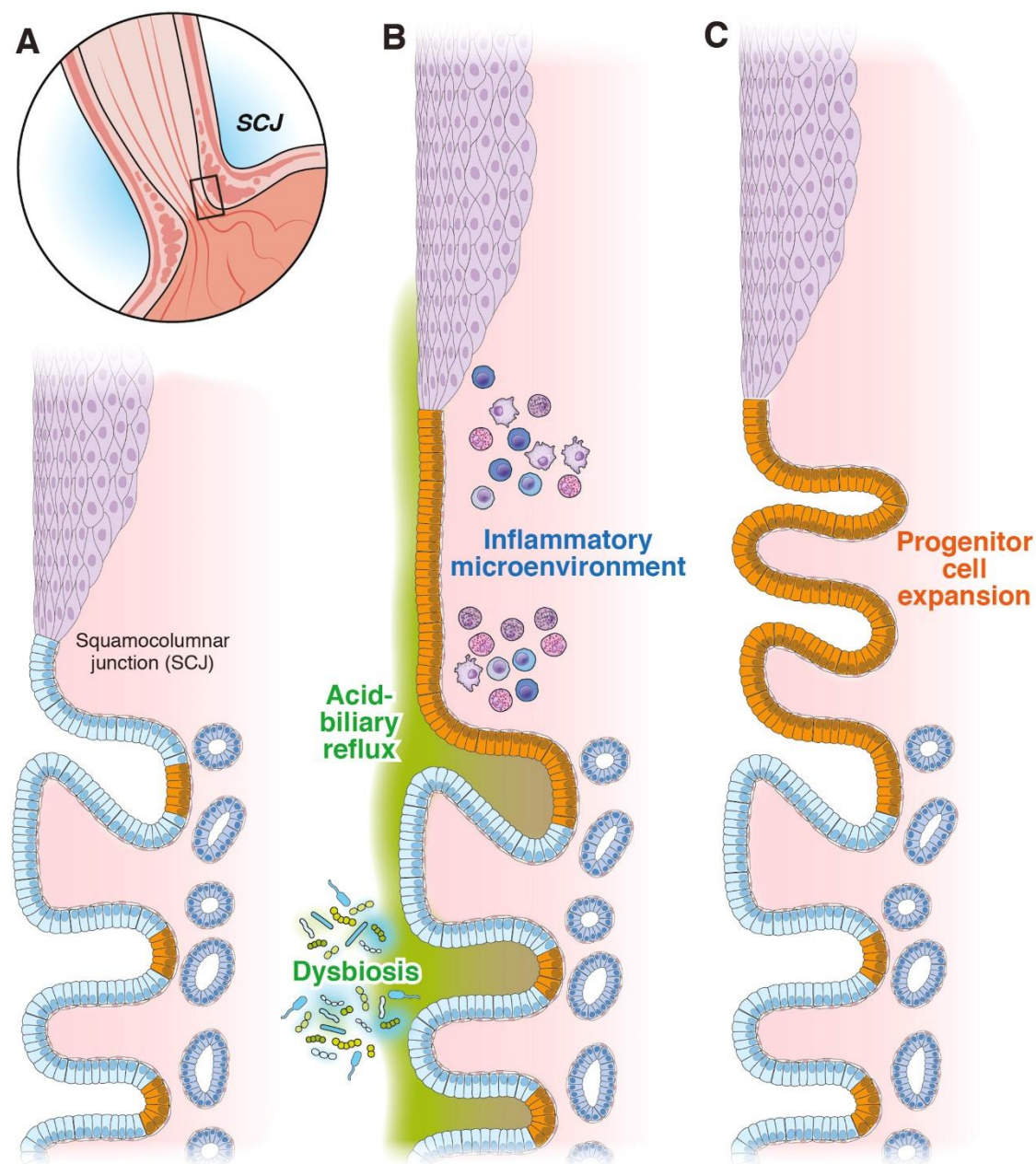
Symbióza



Dysbióza



- | | | | |
|---------------------------------|-----------------------------|---------------------------|----------------------------------------------|
| Mutans <i>Streptococcus</i> | <i>Bifidobacterium</i> spp. | <i>Rothia</i> spp. | <i>Filifactor alocis</i> |
| Mitis <i>Streptococcus</i> | <i>Lactobacillus</i> spp. | Black-pigmented anaerobes | <i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i> |
| Other <i>Streptococcus</i> spp. | <i>Actinomyces</i> spp. | Spirochetes | <i>Neisseria</i> spp. |
| <i>Veillonella parvula</i> | <i>Capnocytophaga</i> spp. | <i>Fusobacterium</i> spp. | <i>Candida albicans</i> |
| | | | Non-albicans <i>Candida</i> spp. |



Refluxní choroba jícnu a orální mikrobiom

– Orální mikrobiom u pacientů s Barrettovým jícnem

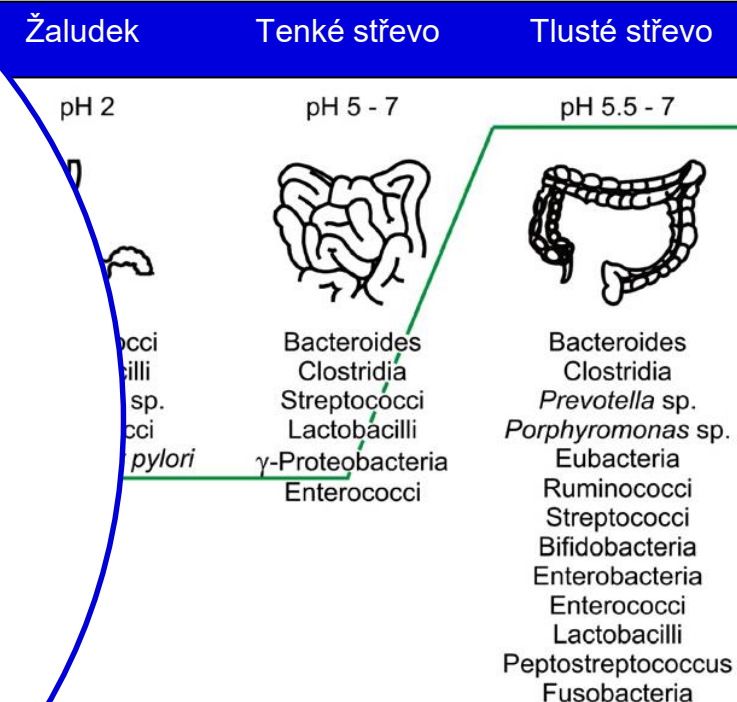
- Zvýšený relativní výskyt *Firmicutes* a snížený *Proteobacteria*

– Možnost identifikovat refluxní esofagitidu s BE s 96,9% senzitivitou a 88,2% specificitou dle orálního mikrobiomu

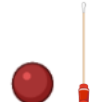
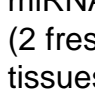
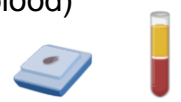

- *Lautropia*, *Streptococcus*, *Enterobacteriaceae*

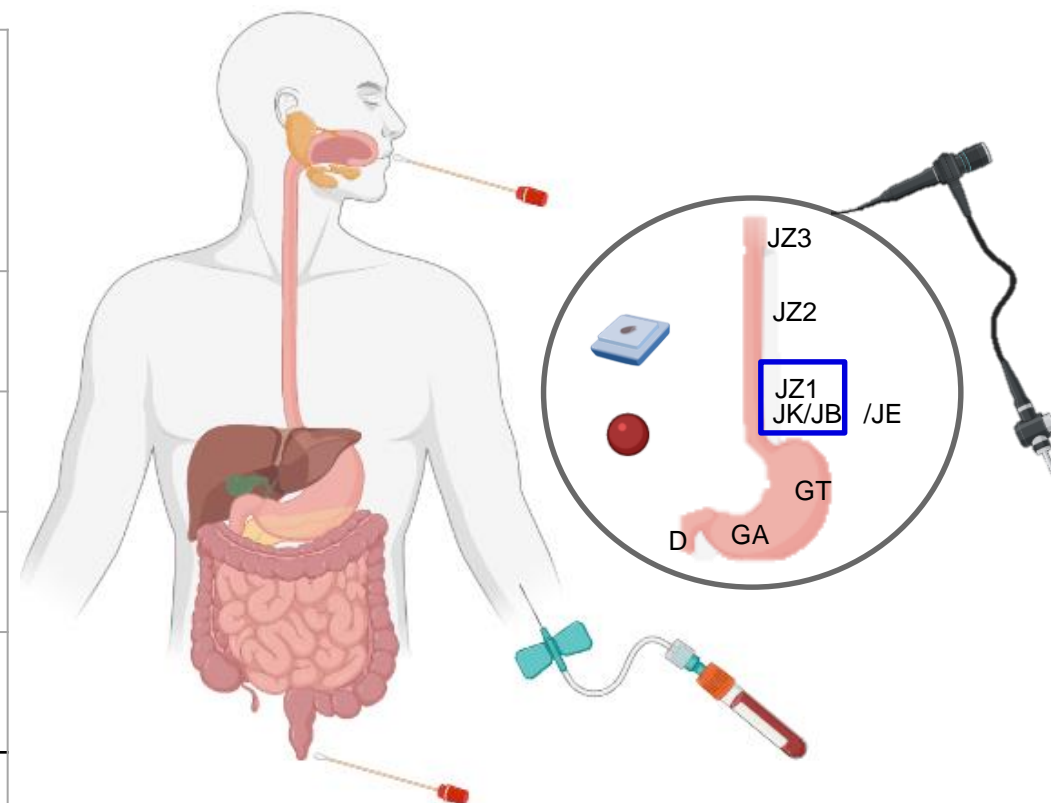


Screening a predikce

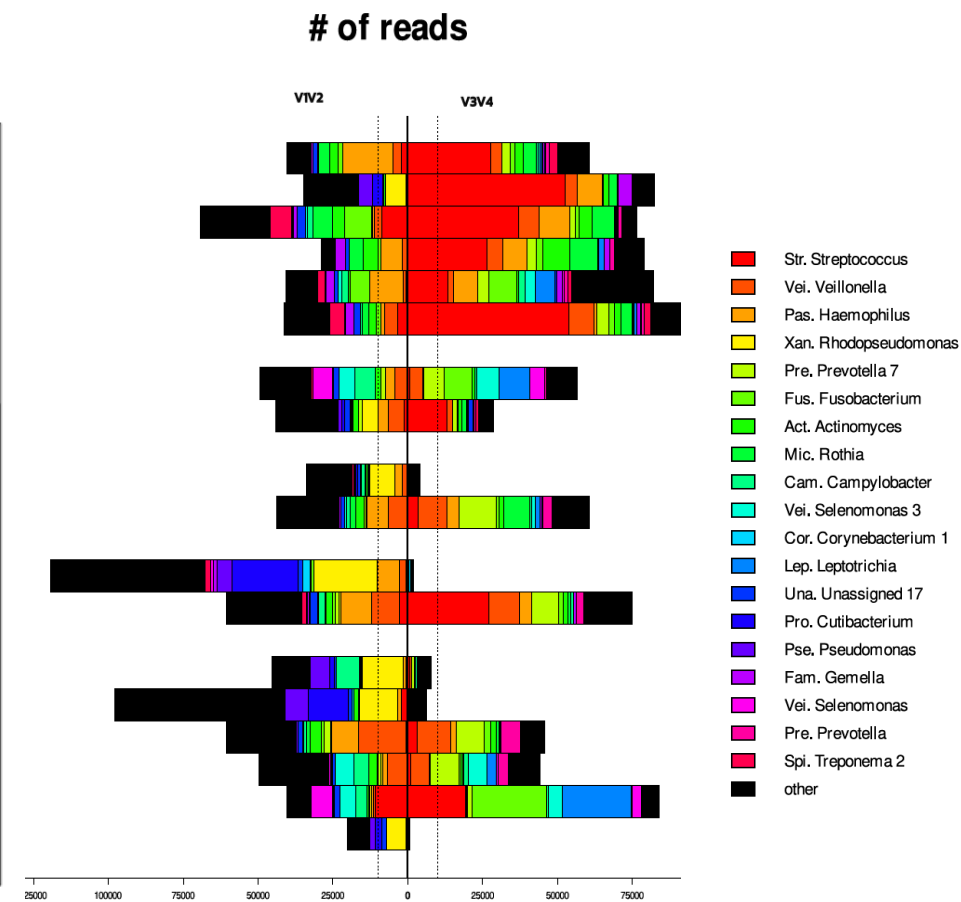
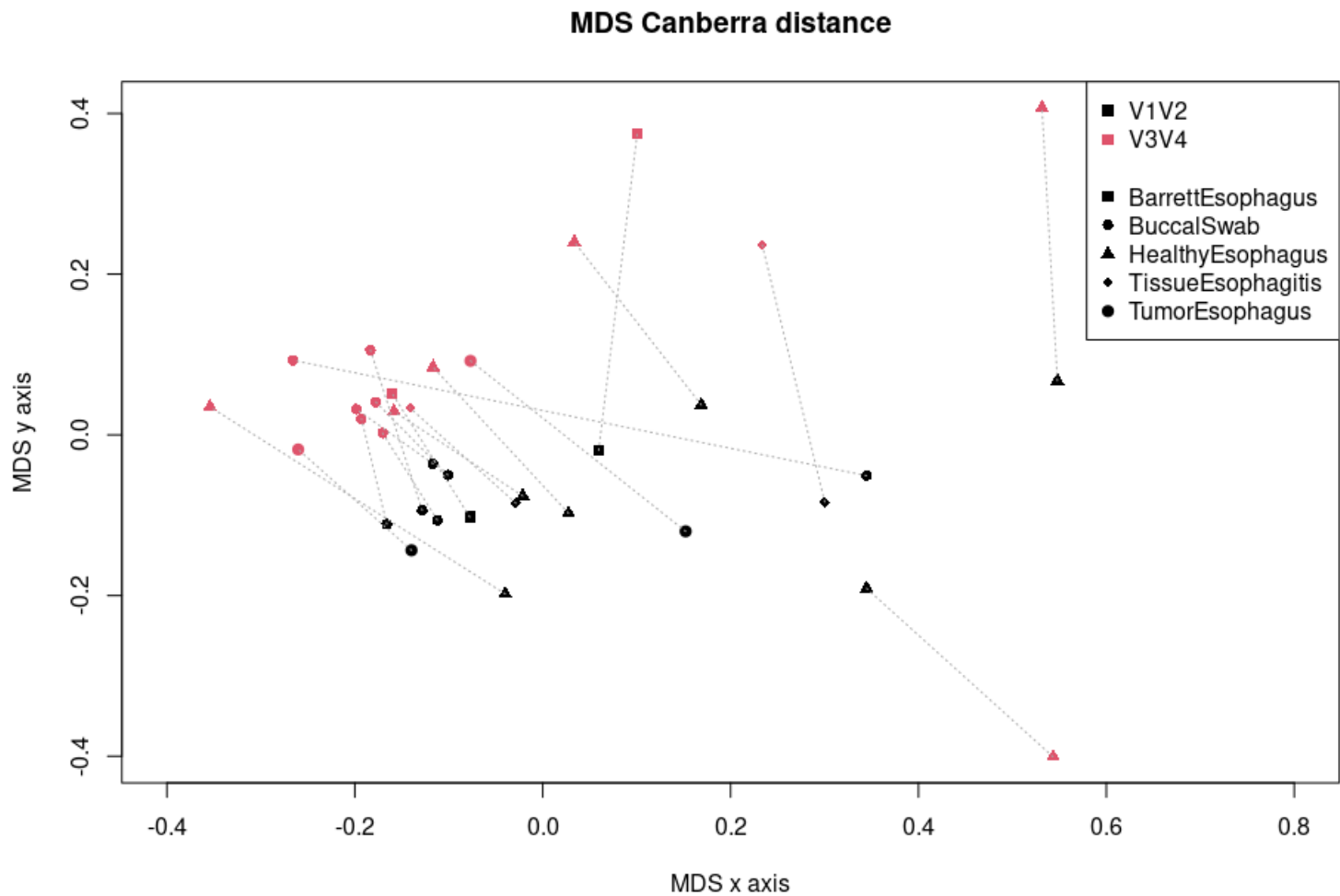


Refluxní choroba jícnu

	Bacteriome (oral and rectal swabs, 5-7 fresh tissues)	Meta/ transcriptome miRNA (2 fresh tissues)	Exome (FFPE and blood)	Genetic study and PGx (blood, plasma)
Patients				
NERD controls	X	X	X	~110
RE	50 (300 samples)	X	X	180
BE	50 (300 samples)	12 (24 samples)	12 (24 samples)	130
EAC	50 (300 samples)	12 (24 samples)	12 (24 samples)	80
Total number of patients	126 + 24	24	24	~500

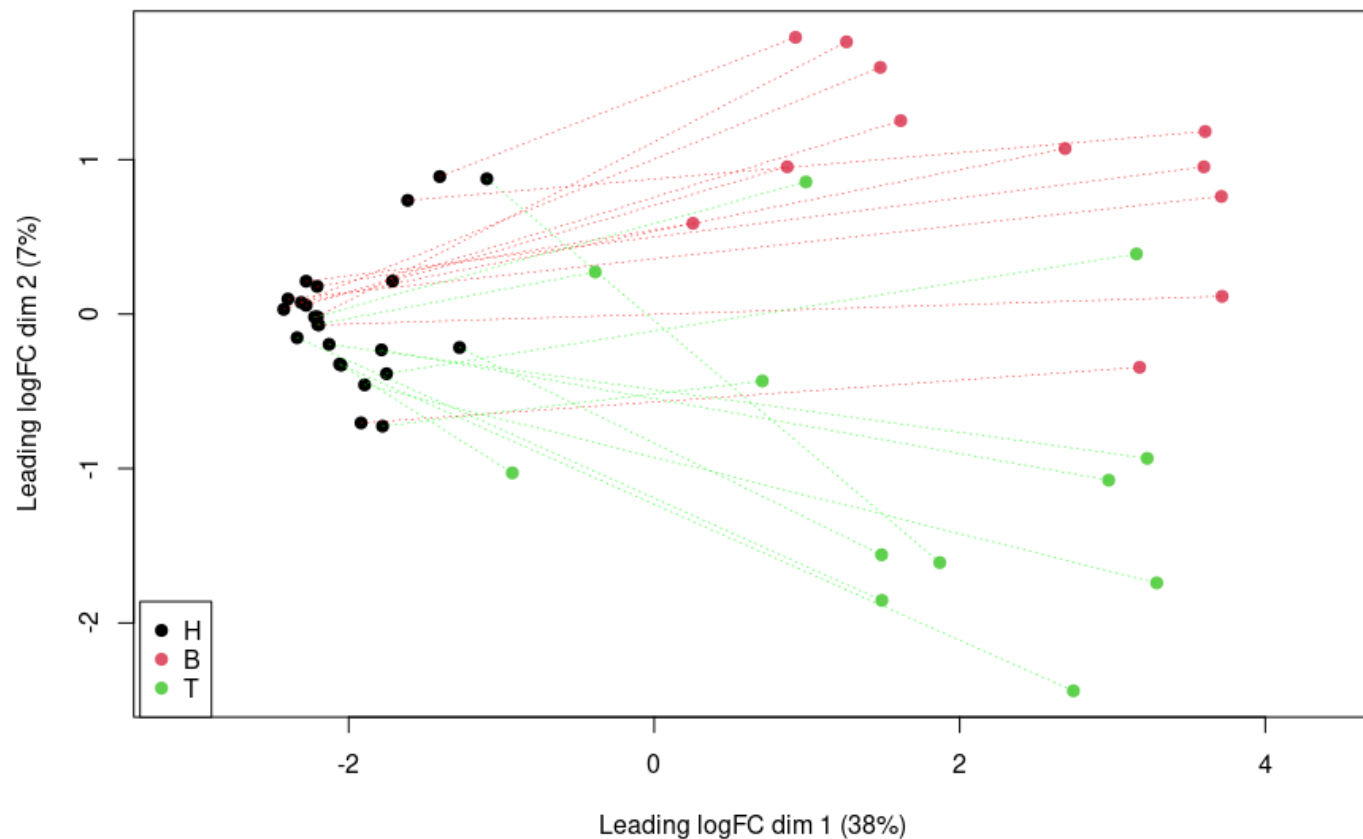


Refluxní choroba jícnu



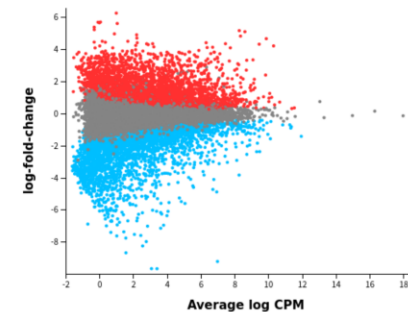
Refluxní choroba jícnu

MDS, transcriptomics

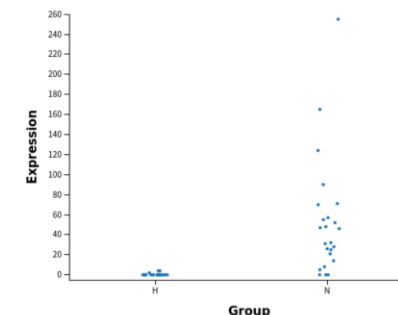


Transkriptom	Healthy vs Pathology	BE vs EAC
Down	4560	11
NotSignificant	7503	16668
Up	4701	85

HvsN, transcriptomics



CDX2



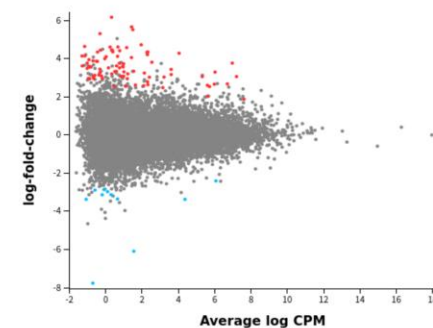
Search:

GeneID	genes	logCPM	logFC	Adj.PValue
CDX2	CDX2	-0.5171	-4.976	9.286e-12

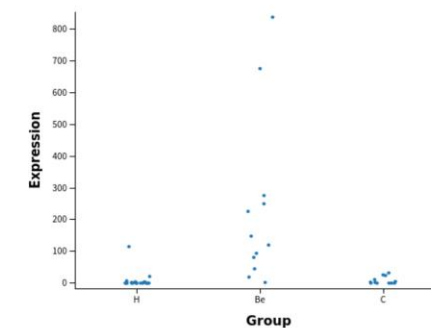
Showing 1 to 1 of 1 entries (filtered from 16,764 total entries)

Generated by Glimma

BvsC



MUC2



Search:

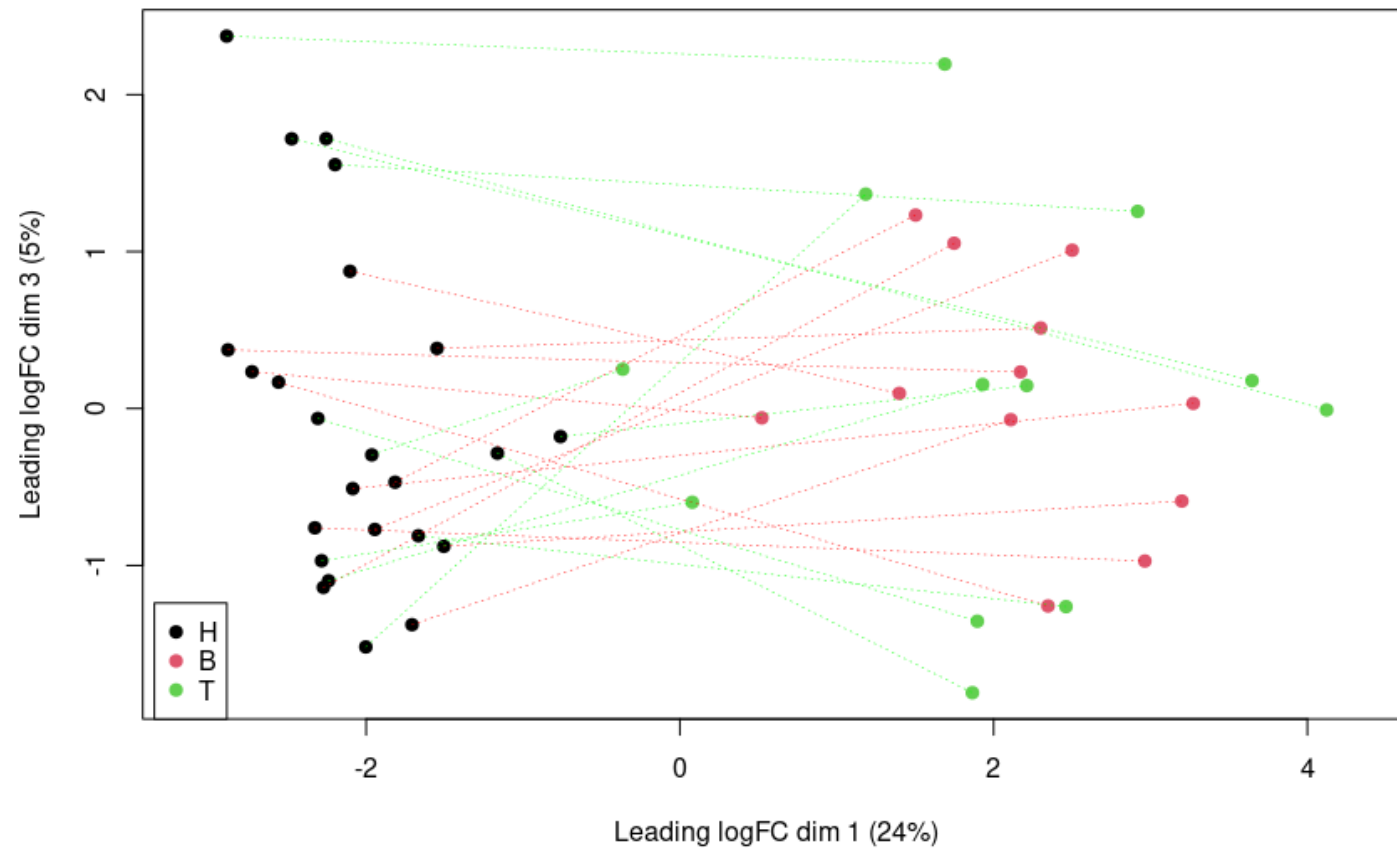
GeneID	genes	logCPM	logFC	Adj.PValue
MUC2	MUC2	-0.8122	5.307	0.007443
MUC2_1	MUC2_1	0.6304	5.048	0.05125
MUC21_5	MUC21_5	-1.22	0.3817	1
MUC21_6	MUC21_6	-0.5464	-0.07047	1

Showing 1 to 4 of 4 entries (filtered from 16,764 total entries)

Generated by Glimma

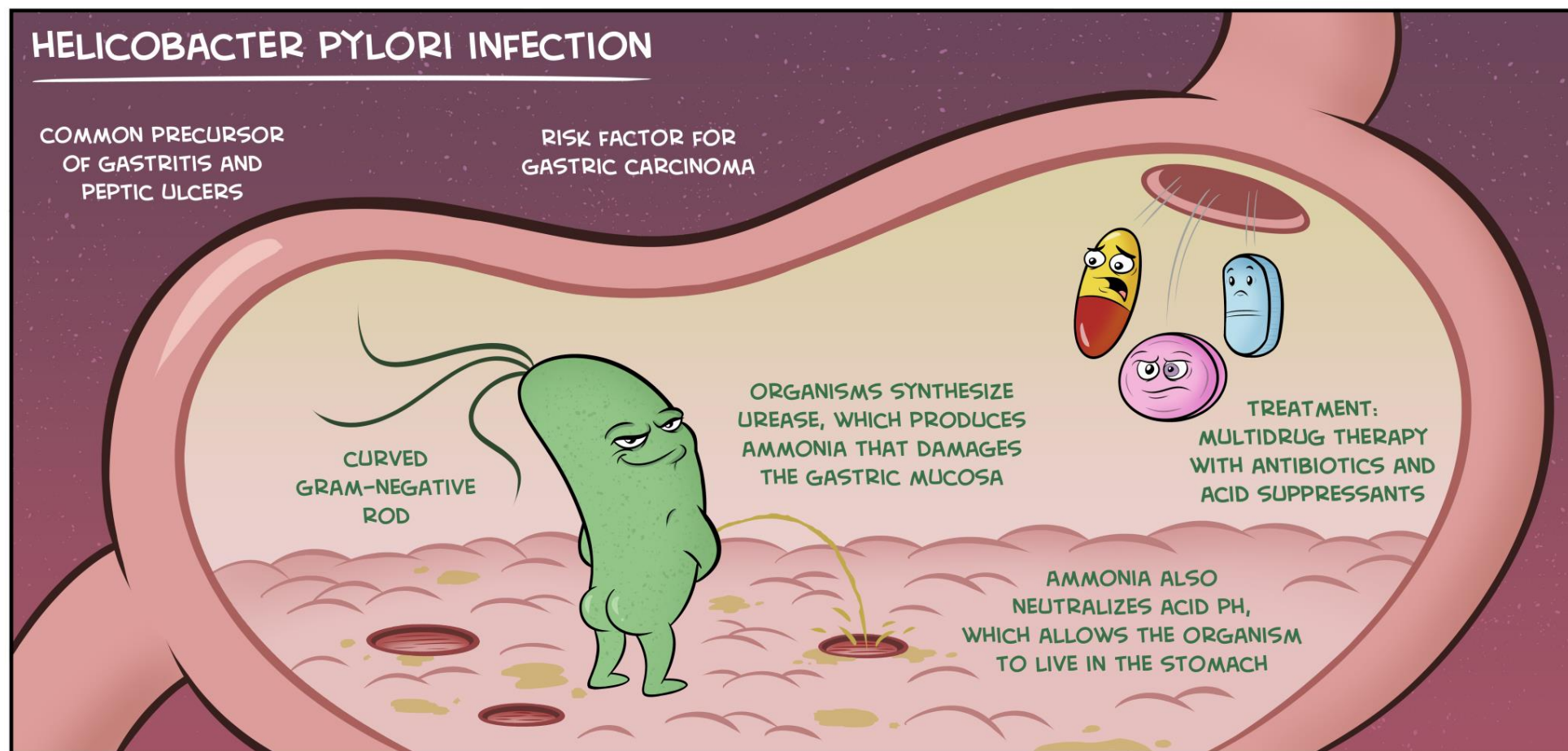
Refluxní choroba jícnu

MDS, metatranscriptomics



Metatranskriptom	Healthy vs Pathology	BE vs EAC
Down	1624	2
NotSignificant	7344	11194
Up	2247	19

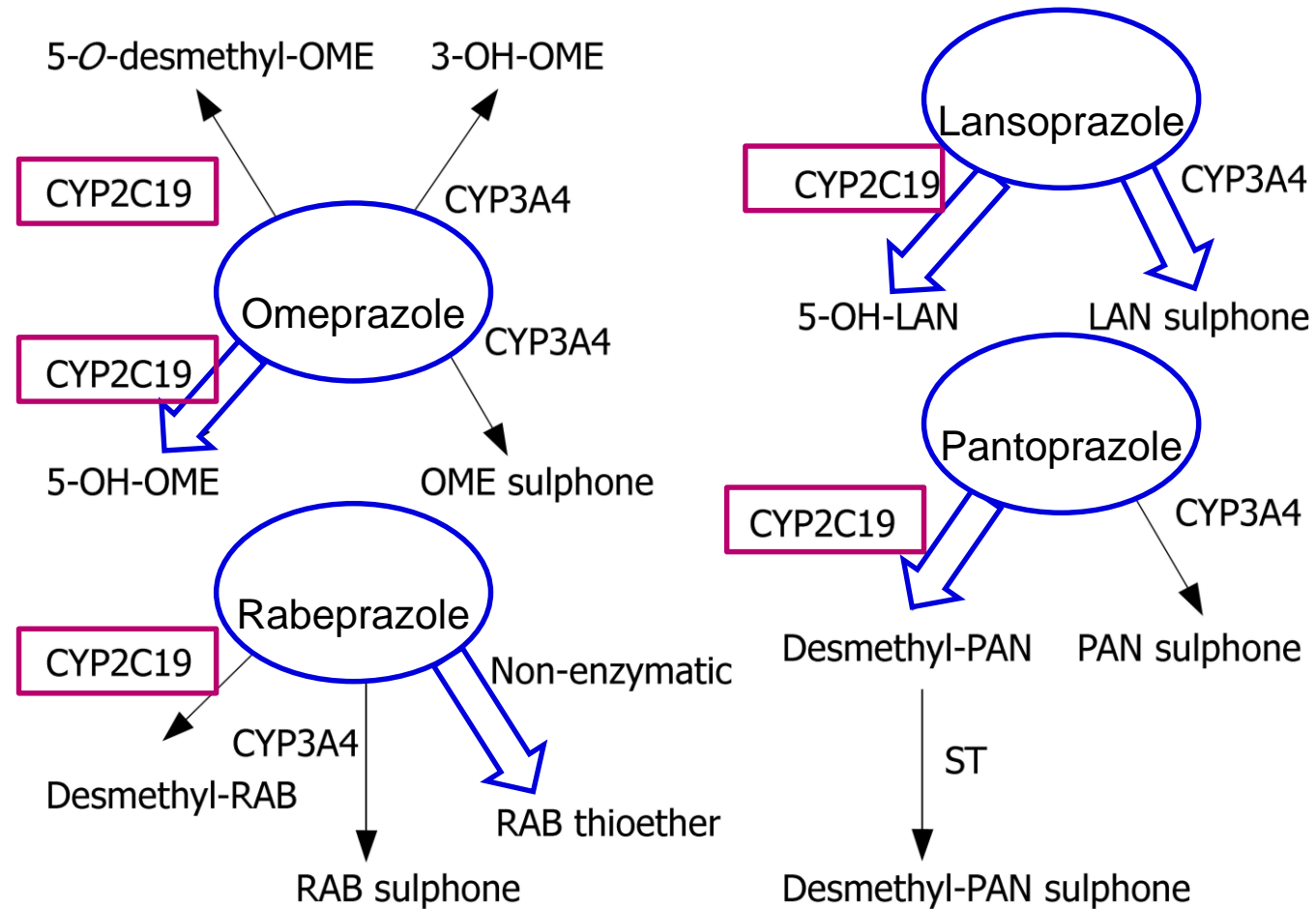
Refluxní choroba jícnu a žaludeční vředy



WWW.MEDCOMIC.COM

© 2014 JORGE MUNIZ

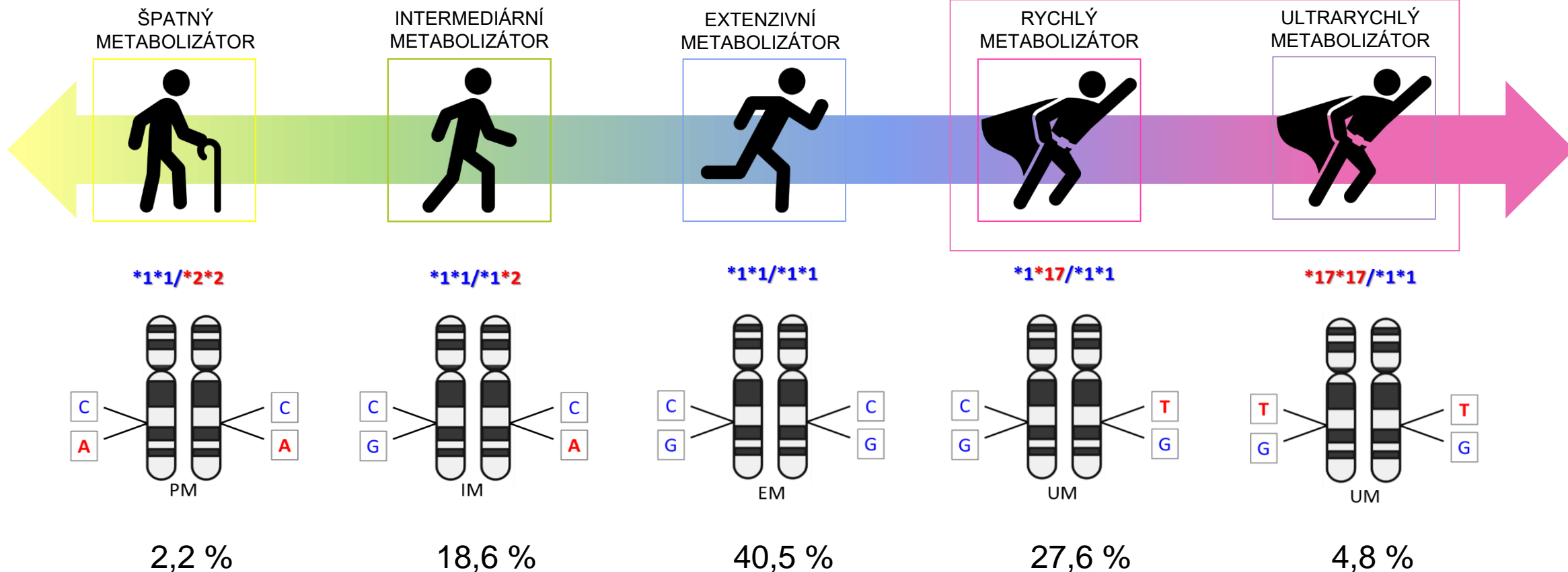
PPI



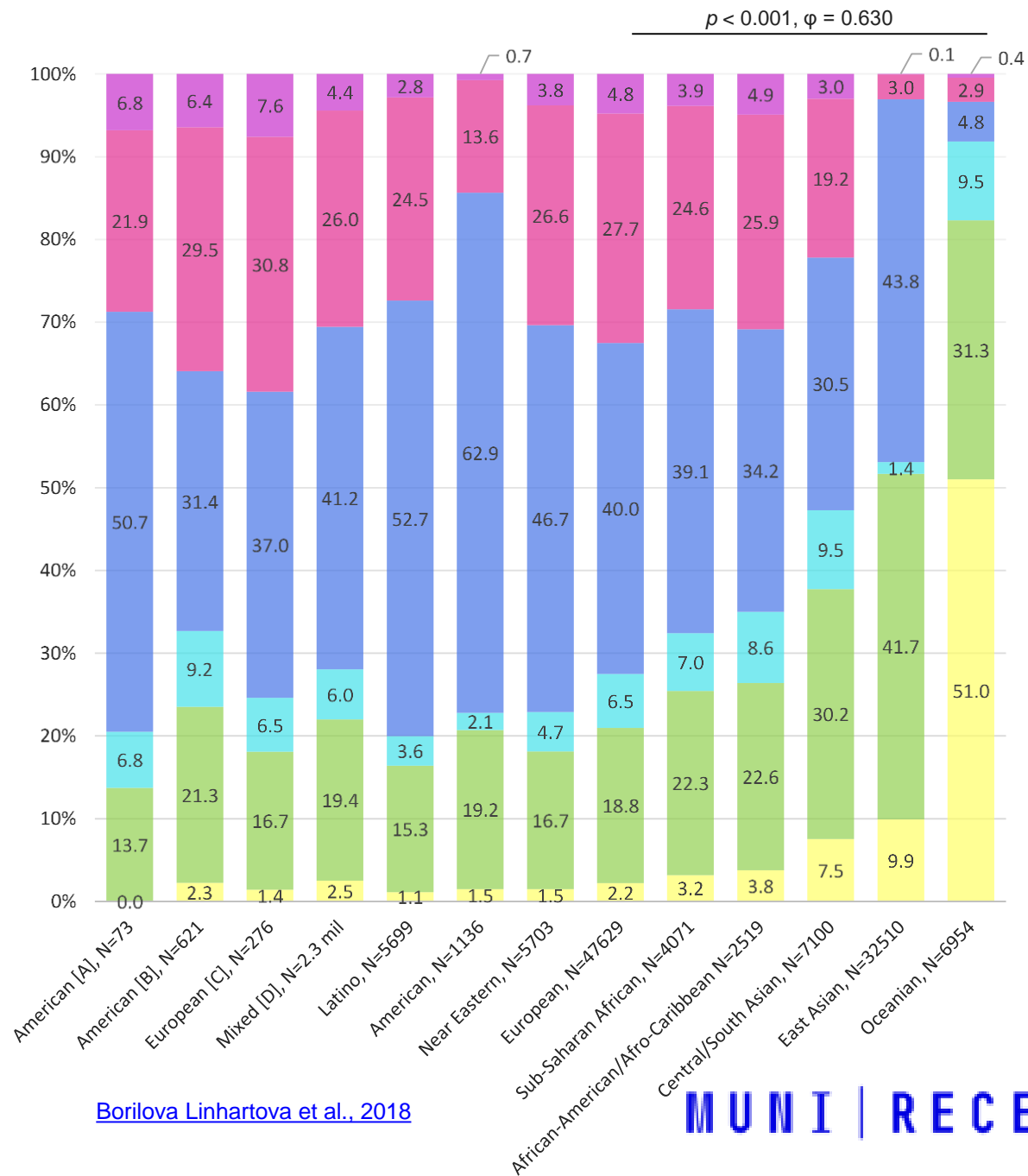
[Litalien et al., 2005](#)

PPI - prediktivní fenotyp

*1	wild type alela
*2	↓ aktivity CYP2C19 (aberrantní sestřih v exonu 5)
*17	↑ aktivity CYP2C19 (promotor)



CYP2C19



Borilova Linhartova et al., 2018

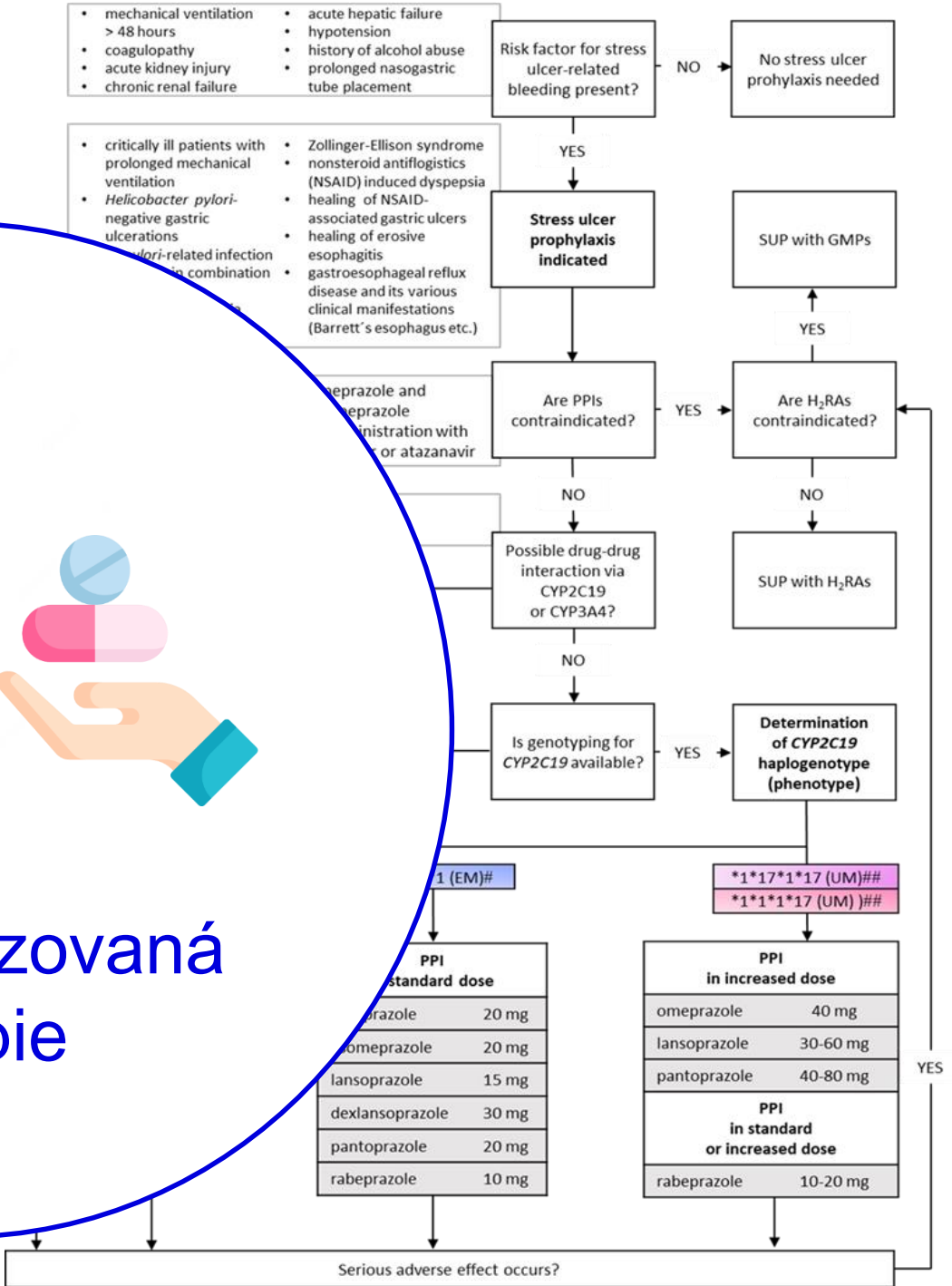
Refluxní choroba jícnu a žaludeční vředy

CYP2C19 Gene Profiling and Personalized Stress Ulcer Prophylaxis With Proton Inhibitors in Critically Ill: Recommendations Proposed

Petra Bořilová Linhartová^{1,2}, Ondřej Zendulka³, Jaroslav J. Michaela Cvanová⁵, Zdeněk Daněk^{1,2}, Radek Kroupa⁶, Ladislav Břetislav Lipový^{7*}



Personalizovaná terapie



Inhalační trauma u popálených pacientů

- AZV 2024? Dynamics of microbiome changes and molecular markers for stratification of the risk of developing infectious complications in patients with inhalation injury



MUNI



doc. MUDr. Břetislav Lipový, Ph.D, MBA, LL.M.



doc. MUDr. Robert Zajíček, Ph.D



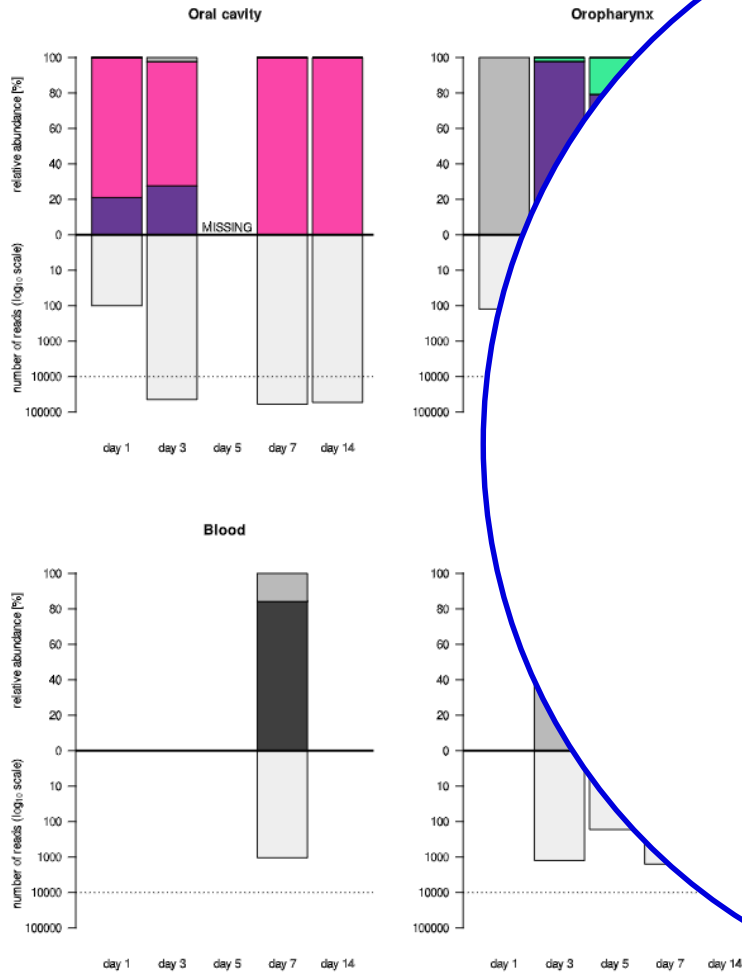
Prof. RNDr. Ladislav Dušek, Ph.D



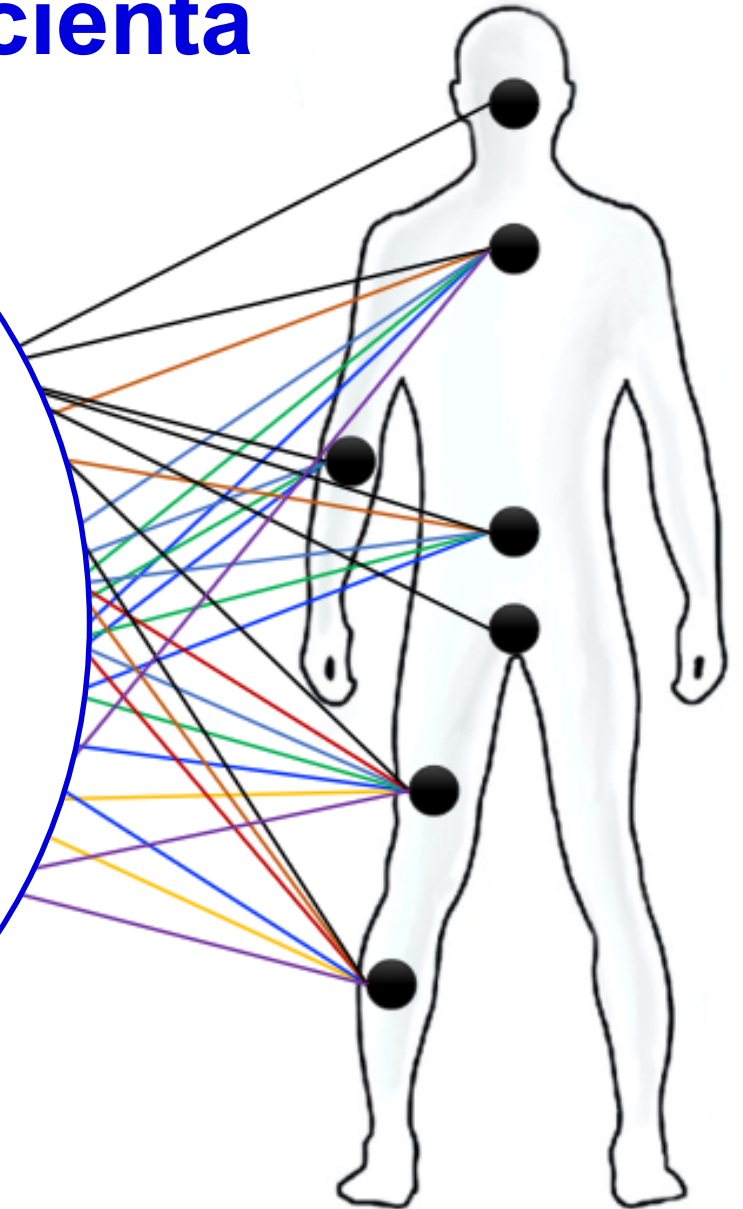
doc. RNDr. Petra Bořilová Linhartová, Ph.D., MBA

Inhalační trauma u popáleného pacienta

Vzácná infekce environmentálními houbami u imunitně oslabeného pacienta

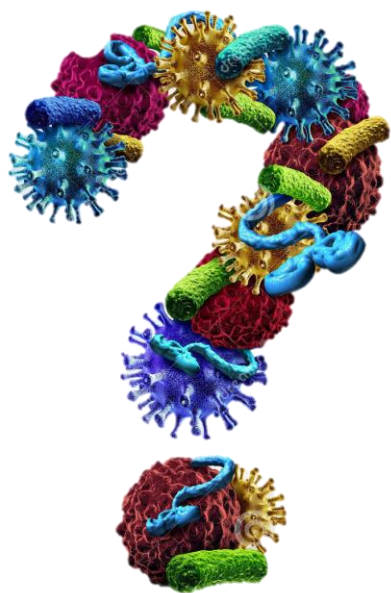


Diagnostika
a prevence



Analýza mikrobiomu a jeho metabolitů

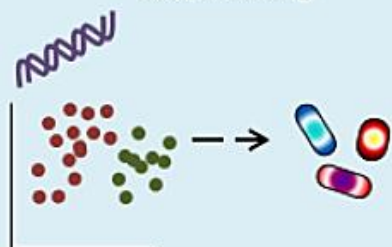
Perspektiva



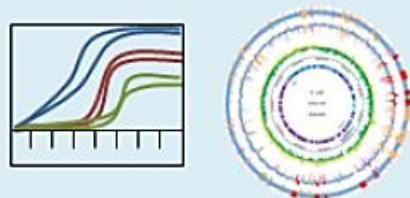
DNA-Based Approaches

Who is there?
What can they do?

16S rRNA, 18S, ITS gene sequencing



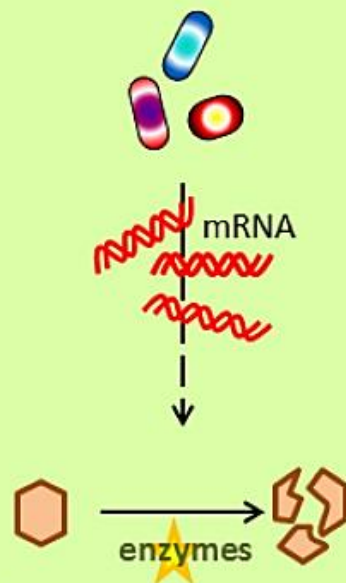
metagenomics



RNA-Based Approaches

How do they respond?
What pathways are activated?

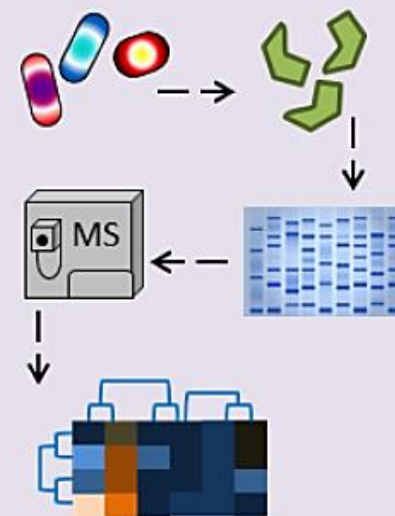
metatranscriptomics



Protein-Based Approaches

How are they interacting with the host?
What proteins are being produced?

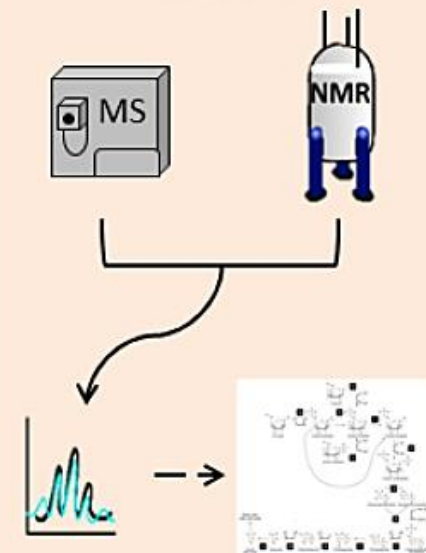
metaproteomics



Metabolite-Based Approaches

What are the chemical outcomes of their activity?

metabolomics





ENVIRONMENTAL GENOMICS

M U N I

Informace o duševním vlastnictví

- Tato prezentace je autorským dílem vytvořeným zaměstnancem Masarykovy univerzity.
- Absolventi kurzu/předmětu mají právo pořídit si kopii prezentace pro potřeby vlastního studia.
- Jakékoliv další šíření prezentace nebo její části bez svolení Masarykovy univerzity je v rozporu se zákonem.

Molekulární podstata patofyziologických procesů

Jaro 2023

Obsah – prof. Masařík

- 1. Úvod do fyziologie člověka. Buňka, tkáň, orgán. Regulační procesy podstatné pro proliferaci, diferenciaci a zánik buněk.
- 2. Kontrola buněčného cyklu. Nádorová transformace buňky. Interakce nádoru a organismu. Metastazování.
- 4. Homeostáza – principy regulace a poruchy fyziologických regulací. Neuroendokrinní regulace, patofyziologie vnitřní sekrece – obecné poznámky. Poruchy transport kyslíku, kyslíkové radikály, oxidativní stres, mechanismy antioxidační obrany.
- 7. Patofyziologie trávicího systému – dutina ústní, jícen, žaludek, játra, žlučové cesty, slinivka, tenké a tlusté střevo.
- 10. Patofyziologie vylučovacího systému. Poruchy acidobazické rovnováhy.
- 11. Patofyziologie dýchacího a nervového systému. Obstrukční a restriční plicní nemoci.
- Motorický systém a nejdůležitější neurodegenerativní onemocnění.

Obsah – doc. Bořilová Linhartová

- 3. Zánět. Regenerace vs. reparace. Obecné projevy nemocí (horečka, bolest). Nespecifická a specifická imunitní odpověď. Poruchy funkce imunitního systému (imunodeficience, hypersenzitivita, autoimunita). Šok a stres.
- 5. Patofyziologie endokrinního systému.
- 6. Poruchy metabolismu a výživy – sacharidy, lipidy, bílkoviny. Poruchy metabolismu mikronutrientů a stopových prvků. Mentální anorexie a bulimie. Obezita.
- 8. Patofyziologie krve, krevtovorné tkáně a krevního srážení.
- 9. Patofyziologie srdce a cévního systému. Ateroskleróza. Ischemická choroba srdeční. Poruchy srdečního rytmu. Hypertenze. Nemoci periferních cév.
- 12. Genetické choroby. Monogenní vs. komplexní nemoci.
- Personalizovaná medicína a farmakomikrobiomika.
- Lidský mikrobiom ve zdraví a v nemoci.