

DARIUSZ CHRZEŚCZYK¹, TOMASZ KONOPKA²

Znaczenie Toll-podobnych receptorów w patogenezie zapaleń przyzębia

The Role of Toll-Like Receptors in Pathogenesis of Periodontitis

¹ Staż podyplomowy w Stomatologicznym Centrum Transferu Technologii we Wrocławiu

² Katedra i Zakład Periodontologii AM we Wrocławiu

Streszczenie

TLR jako receptory wrodzonej odporności immunologicznej mają ogromne znaczenie w zachowaniu równowagi między układem odpornościowym gospodarza a inwazją drobnoustrojów. Rozpoznając molekularne wzorce związane z patogenami (PAMP – *Pathogen Associated Molecular Patterns*), uruchamiają wiele mechanizmów wewnątrz komórki, mających na celu obronę przed atakiem bakterii, zwykle przez wydzielanie cytokin prozapalnych. Zaburzenie ich funkcji przez polimorfizmy genetyczne zmienia podatność organizmu na zakażenia. Wobec znaczącej roli tych receptorów dla interakcji mikrobiota–czynniki gospodarza wzbudzają one zainteresowanie w etiopatogenezie zapaleń przyzębia. Celem pracy jest przegląd współczesnego piśmiennictwa na temat poszczególnych receptorów Toll-podobnych oraz znaczenia ich polimorfizmów dla powstania i przebiegu zapalenia przyzębia. Mimo licznych badań, złożoność procesów zachodzących w wyniku stymulacji TLR pozostaje nie w pełni wyjaśniona, a wiele wyników dotyczących ich znaczenia w etiopatogenezie zapaleń przyzębia jest sprzecznych. Wydaje się bardzo celowe prowadzenie dalszych badań nad ekspresją i polimorfizmami receptorów Toll-podobnych (zwłaszcza TLR2 i 4) w celu określania stopnia ryzyka zapadalności na przewlekłe i agresywne zapalenia przyzębia. Być może to jest właśnie trop, umożliwiający wykrycie czynnika prognostycznego dla tych chorób (**Dent. Med. Probl. 2009, 46, 1, 94–103**).

Słowa kluczowe: receptory Toll-podobne, zapalenie, zapalenie przyzębia, patogeneza.

Abstract

Toll-like receptors (TLRs) as receptors of innate immunity play a crucial role in sustaining the balance between the immune system of the host and microorganisms. They recognize pathogen associated molecular patterns (PAMPs) and activate a range of mechanisms within a cell which aim at defending the cell against bacteria by producing pro-inflammatory cytokines. When their functioning is impaired by genetic polymorphisms the susceptibility of the organism to infections is changed. Due to the significance of TLRs for microbiota-host factors interactions, TLRs are an object of great interest in the study related to the etiopathogenesis of periodontitis. The aim of this paper is to survey the contemporary literature on various TLRs and the importance of their polymorphisms for the onset and progression of periodontitis. Despite numerous studies, the complexity of processes triggered by TLRs stimulation still has not been fully explained and the findings of many studies of their importance in the etiopathogenesis of periodontitis are contradictory. Therefore it seems worthwhile to conduct further research into the expression and polymorphisms of TLRs (in particular TLR 2 and TLR 4) in order to determine the risk of developing chronic and aggressive periodontitis. This in turn may help to discover the prognosticating factor of both types of periodontitis (**Dent. Med. Probl. 2009, 46, 1, 94–103**).

Key words: Toll-like receptors, inflammation, periodontitis, pathogenesis.

Odpowiedź układu odpornościowego ssaków można podzielić na wrodzoną i nabytą. Do niedawna sądzono, że swoistość odpowiedzi odnosi się jedynie do odporności nabytej. W chwili odkrycia u ludzi receptorów Toll-podobnych (TLR

– *Toll-like receptors*) pogląd ten zmienił się [1]. TLR są to homologii odkrytych u muszek *Drosophilla melanogaster* receptorów odpowiedzialnych za polaryzację grzbietowo-brzuszną larw w rozwoju embrionalnym [2].

Dotychczas wykryto 11 receptorów TLR i z pewnością w najbliższym czasie należy się liczyć z odkryciem kolejnych [3]. Każdy z TLR rozpoznaje tzw. wzorce molekularne związane z patogenami – PAMP (*Patogen Associated Molecular Patterns*), którymi są cząsteczki szeroko rozpowszechnione w świecie mikrobiota, np. lipopolisacharydy – LPS, peptoglikany, kwas lipoteichoowy, lipoproteiny i zysosan [4, 5]. Połączenie PAMP z odpowiednim TLR wyzwala kaskadę sygnałową wewnątrz komórki, powodującą wytwarzanie cytokin prozapalnych oraz aktywacją wczesnej odpowiedzi immunologicznej. Daje ona czas i jest bodźcem dla wykształcenia swoistej i skuteczniejszej dopowiedzi nabytej. Jednocześnie wypełnia lukę immunologiczną istniejącą do chwili jej uruchomienia [3].

TLR występujące u ssaków są zbudowane z 3 części: domeny wewnątrzkomórkowej wykazującej duże podobieństwo do receptora dla IL-1 i nazwanej Toll/IL-1 receptor (TIR), części transbłonowej oraz części zewnątrzkomórkowej mającej domenę bogatą w powtórzenia leucytowe (LRR – *Leucine Rich Repeats*) [3]. Domena zewnątrzkomórkowa jest odpowiedzialna za wiązanie oraz identyfikację ligandów, a wewnątrzkomórkowa reaguje z licznymi białkami adaptorowymi i zapoczątkowuje wiele szlaków sygnałowych.

Niemal wszystkie TLR wykorzystują białko MyD88 (*Myeloid Differentiation Factor 88*). Łączy się ono z domeną TIR tych receptorów. Dodatkowymi cząsteczkami wykorzystywanymi w MyD88 zależnej drodze sygnałowej są IRAK-1 (IL-1R-associated kinase), IRAK-4, TRAF-6 (TNFR-associated factor), kompleks TAK1/TAB oraz MAP kinazy. TLR2 i 4 używają dodatkowo strukturalnie podobnego do MyD88 białka TIRAP/Mal (TIR – *Domain-containing adaptor protein*) [6, 7]. Przez wiele wymienionych wyżej cząsteczek dochodzi do zaktywowania czynnika transkrypcyjnego NK-κB (*Nuclear Factor κB*) i następowe wydzielanie cytokin. Inaczej przekazuje sygnał TLR3. Wykorzystuje m.in. białko adaptorowe TRIF/TICAM-1 w celu aktywacji czynnika transkrypcji IRF-3 [8]. Powoduje to wydzielanie INF-β. TLR4 wykorzystuje równocześnie MyD88 zależną i niezależną kaskadę sygnałową. Dowiedziono, że w przypadku uszkodzenia jednej z nich aktywacja TLR4 nie skutkuje wydzielaniem cytokin [3].

TLR występują praktycznie we wszystkich komórkach organizmu, a ich ekspresja jest zmienna. Komórki immunokompetentne, a zwłaszcza fagocyty charakteryzują się na swojej powierzchni szczególną aktywnością tych receptorów. Monocyty/makrofagi wykazują ekspresję wszystkich TLR poza TLR3 [9]. Na komórkach dendrytycz-

nych występują różne rodzaje TLR zależnie od subpopulacji i etapu dojrzewania [10–12]. Komórki tuczne preferencyjnie wytwarzają TLR2, 4, 6 oraz 8 [13, 14]. Ekspresję TLR wykazują komórki nabłonka oddechowego [15], jelitowego [1], dróg moczowych [16], rogówki [17] oraz dziąsła [18]. Na fibroblastach [19, 20] oraz komórkach śródbłonka [21] również występują te receptory, co ma znaczenie w patogenezie wielu chorób. Receptory TLR1, 2, 4, 5 oraz 6 występują na powierzchni błony komórkowej [3]. Pozostałe natomiast znajdują się w przestrzeni wewnątrzkomórkowej (endosomy) [22, 23].

Wobec znaczącej roli tych receptorów dla interakcji mikrobiota–czynnik gospodarza wzbudzają one zrozumiałe zainteresowanie w kontekście etiopatogenezy zapaleń przyzębia. Celem pracy jest przegląd współczesnego piśmiennictwa na temat poszczególnych receptorów Toll-podobnych oraz znaczenia ich ekspresji oraz polimorfizmów dla powstania i przebiegu zapalenia przyzębia.

TLR 4

Receptor ten jest uważany za podstawowy w rozpoznawaniu LPS, czyli głównego czynnika wirulencji bakterii Gram-ujemnych. Odkryto go, badając dwie odmiany myszy C3H/HeJ oraz C57BL10/ScCr od dawna znane z hiporeaktywności na LPS [1]. Wnikliwe badania nad tym zjawiskiem wykazały mutacje w genie *tlr4* upośledzające funkcje tego receptora. Obserwowano także, że myszy pozbawione TLR4 również wykazywały obniżoną odpowiedź na LPS [24, 25]. Jakkolwiek TLR4 jest podstawą dla interakcji PAMP-receptor Toll-podobny, w rozpoznawaniu LPS-u są niezbędne jeszcze dodatkowe cząsteczki. LPS wiąże się do tzw. białka LBP obecnego w surowicy. Dopiero ten kompleks może być rozpoznany przez koreceptor CD14, ściśle związany z TLR4 [26]. Dowiedziono, że przy odpowiednio dużym stężeniu LPS receptor TLR4 ma zdolność jego wiązania w CD14-niezależny sposób [27]. MD-2 zostało zaś zidentyfikowane jako białko wiążące się z zewnątrzkomórkową domeną TLR4 [28]. Uważa się, że pełni podstawową rolę w transporcie TLR4 z aparatu Golgiego, gdzie jest wytwarzany, na powierzchnię komórki. Makrofagi, komórki dendrytyczne oraz limfocyty B wyizolowane od myszy pozbawionych MD-2 wykazywały upośledzoną reakcję na LPS [29]. Cząsteczka MD-2 ma w swojej budowie dwie domeny. Jedna odpowiedzialna jest za rozpoznanie LPS, a druga za przyłączenie TLR4. Mutacje w tych domenach upośledzały opisane funkcje tej cząsteczki [30]. Kolejną cząsteczką łączącą się z TLR4 w rozpoznawaniu

LPS jest RP105, zawierająca domenę LRR, podobną strukturalnie do tych z zewnątrzkomórkowej części Toll-podobnych receptorów. Preferencyjnie występuje ona na powierzchni limfocytów B, które w przypadku braku RP105 wykazują zmniejszoną reakcję na LPS [31]. Innymi ligandami dla TLR4 są Taxol oraz wirusowe białka fuzji i otoczki. Dodatkowo wydaje się prawdopodobne stymulowanie TLR4 przez cząsteczki pochodzenia endogennego [1]: białka szoku termicznego, fibronektynę, kwas hialuronowy, fibrynogen oraz siarczan heparyny.

TLR1, TLR2 i TLR6

TLR2 rozpoznaje różnorodne PAMP. Należą do nich lipoproteiny eubakterii, peptydoglikany i kwas lipoteichojowy bakterii Gram-dodatnich, lipoarabinomannan mykobakterii, glikozylofosfatydyloinozytol *Trypanosoma cruzi*, modulina *Staphylococcus epidermalis*, zymosan grzybów oraz glikolipidy *Treponema maltophilum* [1]. Dodatkowo TLR2 wiąże LPS od takich pałeczek Gram-ujemnych, jak: *Porphyromonas gingivalis*, *Helicobacter pylori* oraz *Leptospira interrogans* [32–34]. Przykładowo, LPS *Porphyromonas gingivalis* jest uważany za agonistę TLR2, ale nie TLR4. Są opisywane także przypadki jego antagonistycznego działania z TLR4 [35], co może jednak wynikać z zanieczyszczenia LPS używanego w badaniach ligandami TLR2 [36]. Dodatkowo Compton et al. [37] udowodnili, że za pośrednictwem TLR-2 jest rozpoznawany wirus cytomegalii. Odbywa się to ze współdziałaniem cząsteczki sygnałowej CD14.

Wyjaśnieniem zdolności rozpoznawania szerokiego zakresu ligandów przez TLR2 może być współdziałanie w tworzeniu dimerów z cząsteczkami podobnymi strukturalnie (TLR1 oraz TLR6) lub niepodobnymi (receptor dla β -glukanu ścian komórkowych grzybów) [38]. Udowodniono, że myszy niewytwarzające TLR6 nie są w stanie rozpoznawać diacylowanych lipopeptydów, reagują natomiast wydzielaniem cytokin prozapalnych na triacylowane lipopeptydy [39]. Przeciwnie makrofagi, niewykazujące ekspresji TLR1 nie są w stanie odpowiedzieć na stymulowanie triacylowanymi lipopeptydami, mając jednocześnie niezaburzoną zdolność reagowania na diacylowane [40]. Dowodzi to jednoznacznie, że TLR1 oraz TLR6, łącząc się z TLR2, umożliwiają różnicowanie między tri- i diacylowanymi lipopeptydami.

Hajishengallis et al. [41] wykazali fakt wykorzystywania przez *Porphyromonas gingivalis* TLR2 i receptora CD3 na makrofagach dziąsłowych. Ten klasyczny periodontopatogen aktywuje TLR2 w celu inhibicji wydzielania IL-12p70 (cy-

tokina prozapalna stymulująca limfocyty T i komórki NK), co zwiększa formowanie CR3. Powoduje to wzrost adhezji makrofagów do tej bakterii i transbłonową migrację *Porphyromonas gingivalis*. Zaktywowany TLR2 promuje również transmigracyjną aktywność makrofagów. Drobnoustrój znajdujący się w ich wnętrzu potrafi przeżyć do 72 godzin. Brak lub zablokowanie CR3/TLR2 przerywa wyżej wspomniany mechanizm omijania odpowiedzi immunologicznej. Nie wiadomo jednak, jaki byłby ogólnoustrojowy skutek całkowitego wyłączenia funkcji któregośkolwiek z tych receptorów [41, 42]. W doświadczeniach na myszach udowodniono, że w wyniku braku TLR2 występuje bardziej skuteczna i szybsza fagocytoza *Porphyromonas gingivalis*. Dodatkowo jest zmniejszone wydzielanie cytokin prozapalnych (TNF- α , IL-1- β , INF- γ oraz IL-10), co zmniejsza ubytek kości wyrostka zębodołowego z powodu zapalenia przyzębia [43].

TLR3

Dwuniciowe RNA (dsRNA) są tworzone przez wirusy podczas replikacji. Łączenie dwuniciowego RNA jako PAMP z TLR-3 stymuluje wytwarzanie INF- α i β mających aktywność przeciwwirusową oraz immunomodulacyjną [3]. Myszy z deficytem TLR3 nie wykazywały reakcji na dsRNA. Sztuczna ekspresja natomiast tego receptora w komórkach z linii znanej z hiporeaktywności na dsRNA powodowała zwiększoną odpowiedź na ten ligand [44]. Wynika z tego, że TLR3 jest związany z rozpoznawaniem wirusów.

TLR5

Flagelina jest głównym białkiem budującym wici u bakterii Gram-ujemnych. Bierze ona udział w adhezji takich bakterii do komórek strukturalnych gospodarza, przez co współdecyduje o ich wirulencji [1]. Badania na komórkach jajników chomików chińskich zidentyfikowały flagelinę jako ligand dla TLR5 [45]. Ekspresję tego receptora obserwowano zarówno w nabłonku jelitowym [46], jak i nabłonku dróg oddechowych [47], co wskazuje na ich ważną rolę w rozpoznawaniu patogenów na poziomie błon śluzowych.

TLR7 i 8

TLR7 i TLR8 są strukturalnie bardzo podobne i rozpoznają w większości przypadków te same ligandy [3]. W stosunku do tych receptorów aktyw-

ność PAMP wykazuje jednoniciowy RNA (ssRNA) bogaty w urydynamę lub guanozynę. Znajduje się on w wirusach nabytego zespołu braku odporności, grypy oraz VSV (*Vesicular Stomatitis Virus*) [48, 49]. Dodatkowymi ligandami dla ludzkich TLR7 i TLR8 są syntetyczne związki przeciwwirusowe [50]. Chociaż ssRNA jest szeroko rozpowszechniony w organizmie gospodarza, to nie jest aktywny w stosunku do tych receptorów. Tłumaczone jest to wewnątrzkomórkowym umiejscowieniem TLR w endosomach, gdzie endogenne ssRNA nie jest obecne [3].

TLR9

Badania nad myszami z deficytem wytwarzania TLR9 wykazały jego ogromną rolę w rozpoznawaniu bakteryjnego niemetylowanego CpG DNA [51]. W świecie kręgowców ekspresja niemetylowanego DNA zawierającego sekwencje CpG jest bardzo mała [3]. Podawanie myszom CpG DNA wykazało działanie ochronne w stosunku do infekcji patogenów wewnątrzkomórkowych, takich jak: *Leishmania major* i *Listeria monocytogenes* [52, 53]. Dodatkowo związek ten aktywuje komórki dendrytyczne do wytwarzania cytokin, profilując odpowiedź immunologiczną o typie Th1.

TLR10, TLR11

Wszystkie TLR opisane powyżej istnieją zarówno u myszy, jak i ludzi. TLR10 w przeciwieństwie do nich jest uważane za typowo ludzkie [3]. TLR11 natomiast wykazuje ekspresję jedynie w nabłonku pęcherza moczowego myszy, gdzie wydaje się, że pełni rolę w ochronie przed infekcjami bakterii uropatogennych [54]. Jak dotychczas nie są znane ligandy dla tych receptorów.

Tkankowa ekspresja receptorów Toll-podobnych w zapaleniu przyzębia

Beklen et al. [18] przeprowadzili badania immunohistochemiczne nabłonka dziąsłowego i tkanki łącznej dziąsła pacjentów z przewlekłym zapaleniem przyzębia i bez zmian klinicznych w przyzębiu w celu zlokalizowania ekspresji receptorów TLR od 1 do 10. Wszystkie rodzaje TLR, poza TLR10, były obecne niezależnie od stanu zapalnego. Zaobserwowano różną ich ekspresję w poszczególnych warstwach nabłonka dziąsłowego

ze znaczącą tendencją malejącą w kierunku warstw zewnętrznych. Komórki warstwy podstawnej pacjentów z zapaleniem przyzębia wykazywały zdecydowanie wyższą ekspresję TLR niż osoby zdrowe, u których rozmieszczenie poszczególnych TLR było bardzo zróżnicowane. Jedynie TLR1 oraz TLR8 wykazywały mniejszą ekspresję we wszystkich warstwach nabłonka w przebiegu *periodontitis* w odniesieniu do osób zdrowych. W *periodontitis* wykazano również istotnie większą ekspresję TLR w tkance łącznej i dotyczyło to wszystkich rodzajów tych receptorów [18].

Inne badania [55] dotyczące występowania TLR2 oraz TLR4 w przyzębiu wykazały większą ich ekspresję w przebiegu przewlekłego zapalenia przyzębia i zapalenia dziąsła w odniesieniu do braku uchwytnej klinicznie patologii. W *gingivitis* zaobserwowano jednocześnie przewagę ekspresji TLR2, a w *periodontitis* TLR4.

Najwcześniejsze badania występowania TLR2 i TLR4 w tkance łącznej w *periodontitis* wykazały większą ekspresję TLR2 niż TLR4 [56]. Zaobserwowano także więcej komórek TLR-pozytywnych w podnabłonkowej tkance łącznej w bezpośrednim sąsiedztwie kieszonki przyzębnej w odniesieniu do tkanki łącznej sąsiadującej z nabłonkiem jamy ustnej.

Sprzeczne wyniki badań nad ekspresją TLR w poszczególnych tkankach przyzębia w przypadku zapalenia mogą wiązać się ze zjawiskiem regulacji [57]. Jest to jedna z teorii wyjaśniających utrzymywanie homeostazy w zdrowym organizmie. Zgodnie z tym konceptem, w przypadku słabych i ciągłych stymulacji liczba receptorów TLR zmniejsza się. Ma to na celu osłabienie miejscowej odpowiedzi immunologicznej organizmu i niedoprowadzenie tym samym do zsumowania sygnałów od wielu receptorów. W następstwie tego zmniejsza się wydzielanie cytokin pozapalnych, których ilość jest współmierna do liczby patogenów. Podczas pobierania wycinków do badań komórki mogły być w fazie regulacji ujemnej, co zaburzałoby obiektywną ocenę ekspresji TLR.

Polimorfizmy receptorów Toll-podobnych i ich znaczenie dla chorób ogólnych i zapalenia przyzębia

W genie kodującym TLR4 zostały odkryte dwa polimorfizmy pojedynczych nuklotydów (SNP): Asp299Gly i Thr399Ile [58]. Występują one w domenie zewnątrzkomórkowej i nie skutkują zmianą struktury receptora. Są to tzw. polimorfizmy zmiany sensu (zmiana jednej zasady azoto-

wej w trójkowym kodonie). Wydaje się, że oba SNP występują ze sobą w ścisłej zależności, sięgającej w niektórych badaniach 100% (*co-segregation*) [59]. Wykazano związek SNP (Asp299Gly i Thr399Ile) z zakresem genu kodującego TLR4 z hiporeaktywnością na wdychany LPS [58]. Zaobserwowano jednak, że nie wszyscy pacjenci z tym genotypem byli hiporeaktywni na LPS oraz u nie wszystkich hiporeaktywnych występowały te polimorfizmy. Dlatego wydaje się prawdopodobny udział innych genów w prawidłowej odpowiedzi nabłonka dróg oddechowych na drażnienie LPS [60].

Erridge et al. [61] założyli, że osłabiona odpowiedź na LPS może być związana z stężeniem surowiczego LPB i rozpuszczonego CD14, liczbą komórek zdolnych do odpowiedzi na LPS i obecnym poziomem ekspresji TLR4, który może wahać się w zależności od różnych czynników stymulujących. Z tego powodu zdecydowali się na zbadanie heterozygotycznych z zakresu genotypu TLR4 monocytów pod względem ich odpowiedzi na LPS *Escherichia coli*, *Neisseria meningitidis*, *Bacteroides fragilis*, *Yersinia pestis*, *Chlamydia trachomatis*, *Pseudomonas aeruginosa* i kwas lipoteichojowy *Staphylococcus aureus*. Nie wykazano jednak istotnych różnic w odpowiedzi monocytów z genotypem polimorficznym. Wyniki te były również niezależne od stężenia czynników stymulujących. Zaobserwowano jedynie odmienne typy reaktywności na LPS poszczególnych bakterii i kwas lipoteichojowy *Staphylococcus aureus*. Nieścisłości między tymi badaniami zostały wyjaśnione na dwa sposoby. Po pierwsze, jest możliwe, że występuje odmienny mechanizm regulacji ekspresji TLR4 w nabłonku oddechowym i na monocytach. Po drugie, w badaniach wcześniejszych LPS był pochodzenia komercyjnego, mógł więc być zanieczyszczony [32]. Dlatego też w późniejszym badaniu Erridge'a et al. każdy LPS był oczyszczony ściśle według protokołu Hirschfelda et al. [62]. Istnieje także prawdopodobieństwo, że opisany polimorfizm zmienia odpowiedź na połączenie TLR4-ligandy inne PAMP niż LPS np. ludzkie [63] i bakteryjne [64] białka szoku termicznego.

Podobne badania o odniesieniu periodontologicznym przeprowadzili Kinane et al. [65]. Wykonano je na komórkach nabłonka dziąsłowego, które poddano stymulacji LPS *Porphyromonas gingivalis* oraz w ramach kontroli TNF- α . Heterozygoty pod względem Asp299Gly wykazały znacznie słabszą odpowiedź na LPS w porównaniu z grupą kontrolną. Odpowiedź na TNF- α nie różnicowała fenotypów TLR-4. Sugerowało to związek polimorfizmu pojedynczych nuklotydów TLR-4 z hiporeaktywnością na LPS klasycznych periodontopatogenów.

Przeprowadzono wiele badań nad związkiem polimorfizmów TLR z występowaniem chorób ogólnych. Polimorfizm TLR4 (Asp299Gly) występuje w zależności od rasy z częstotliwością 6–12% [cyt. wg 66]. Znalezione istotną współzależność tego SNP z infekcją RSV (*Respiratory Syncytial Virus*) u niemowląt [67], wstrząsem septycznym [68], wcześniactwem [69], chorobą Crohna [70], ciężkością, ale nie zapadalnością na astmę oskrzelową [71] oraz zmniejszoną tendencją do odrzucania przeszczepów [72]. Istnieją także doniesienia o ochronnej roli tego polimorfizmu w odniesieniu do ryzyka rozwoju reumatoidalnego zapalenia stawów [73] oraz neuropatii cukrzycowej w cukrzycy typu 2 [74]. Co do związku tego polimorfizmu TLR-4 z miażdżycą i występowaniem naczyniowych incydentów sercowo-mózgowych wyniki dotychczasowych badań są sprzeczne. Jedni autorzy wskazują na rolę ochronną [75–77], inni natomiast na zwiększone ryzyko zapadalności na ww. choroby w przypadku występowania tego SNP [78–80].

W genie kodującym TLR2 wykazano dwa SNP: Arg753Gln i Arg677Trp [81, 82]. Polimorfizm Arg753Gln występujący w rasie kaukaskiej u około 9% populacji korelował z małą ekspresją i reaktywnością tych receptorów na wielu komórkach [66]. Istotnie częstsze występowanie tego SNP obserwowano u pacjentów chorych na gruźlicę [83]. Badania obejmujące 305 przedwcześnie urodzonych niemowląt wykazały u nich znacząco częstsze występowanie polimorfizmów Arg753Gln i Arg667Trp (T-16934A) [84]. Pojedyncze allele obu SNP nie wpływały na termin porodu. Koreańscy chorzy na trąd wykazywali większą częstotliwość występowania SNP Arg677Trp [82]. W rasie kaukaskiej ten SNP występuje bardzo rzadko [66].

Powszechnie występujący polimorfizm w domenie wiążącej ligand TLR5 został powiązany ze zwiększoną podatnością na zapalenie płuc wywołane przez *Legionella pneumoniae* [47].

Różnice w ciężkości przebiegu zapalenia przyzębia u poszczególnych osób tłumaczy się m.in. podatnością genetyczną. Jednymi z głównych receptorów odpowiedzialnych za rozpoznawanie bakterii patogennych dla przyzębia są TLR2 oraz TLR4. Powszechnie występujące polimorfizmy Asp229Gly, Thr399Ile dla TLR4 oraz Arg753Gln dla TLR2 stały się przedmiotem szczególnego zainteresowania w kontekście ich powiązania z występowaniem i przebiegiem zapaleń przyzębia.

Większość dotychczasowych badań przeprowadzanych na różnych populacjach nie wykazała istotnych współzależności między SNP dla TLR-4 a przewlekłym zapaleniem przyzębia. Wyniki takie uzyskano w Holandii [85], Wielkiej Brytanii [86], Finlandii [87], Turcji [88] oraz Czechach

[89]. W badaniach tych były podobne kryteria doboru pacjentów oraz metody wykrywania SNP. Różnice polegały na liczebności prób, które wynosiły od 51 do 171. Zgodne wyniki tych badań dotyczyły także częstości występowania polimorfizmów TLR4. Jedynym badaniem potwierdzającym związek Asp299Gly i Arg399Trp z przewlekłym zapaleniem przyzębia była obserwacja przeprowadzona w populacji niemieckiej w 2005 r. przez Schrödera et al. [90]. Wykazali oni znacząco częstsze ($p = 0,007$) występowanie tych SNP u osób z patologią przyzębia. Wyniki te są jednak sprzeczne z uzyskanymi przez Folwarcznego et al. także w populacji niemieckiej rok wcześniej [91]. Rozbieżności mogą wynikać z kilku przyczyn. Folwarczny et al. [91] zastosowali mniej restrykcyjne kryteria doboru pacjentów. Dodatkowo nie uwzględniono homogenności badanych grup pod względem wieku, płci i nikotynizmu. Zróżnicowany między tymi badaniami był również status periodontologiczny dotyczący rodzaju występujących klinicznie zapaleń przyzębia.

Wszystkie dotychczasowe badania [88, 90, 91] były zgodne co do braku powiązania polimorfizmu dla TLR2 ze zwiększonym ryzykiem wystąpienia przewlekłego zapalenia przyzębia.

W etiologii agresywnych zapaleń przyzębia rola podatności genetycznej ma jeszcze większe znaczenie dla powstania i przebiegu tych patologii. Badania Jamesa et al. [92] przeprowadzone w Wielkiej Brytanii, dowodzą, że SNP dla TLR4 mogą pełnić rolę ochronną w stosunku do rozwoju tych najcięższych periodontopatii. Sami autorzy odnoszą się jednak krytycznie do wyników tych obserwacji. Wskazują na niezny status periodontologiczny grupy kontrolnej (krew pochodziła z banku krwi) oraz na relatywnie małą liczebność grupy badanej. Wyjaśnieniem działania ochronnego może być osłabiona odpowiedź w następstwie połączenia zmienionych receptorów TLR4 z odpowiednimi PAMP na bakteriach. W wyniku tego jest wydzielanych mniej cytokin prozapalnych, które odrywają dobrze znaną rolę destrukcji aparatu zawieszeniowego zębów. Inne badania [87, 90] nie potwierdziły istotnej zależności polimorfizmu Asp299Gly z występowaniem agresywnego zapalenia przyzębia.

Rozbieżności wyników badań nad polimorfizmami genowymi mogą mieć kilka przyczyn. Zmienność populacyjna genotypów nie pozwala na ekstrapolowanie wyników badań między populacjami. W rozważaniach tych zakłada się różnicę w reakcji ligand-receptor między hetero- i homozygotami z zakresu odmian polimorficznych receptorów. Jedynie więc homozygoty miałyby mieć defekt rozpoznawania PAMP i w wyniku tego wydzielanie cytokin prozapalnych miałyby być u nich znacząco mniejsze. Są to jednak tylko spekulacje, które nie muszą mieć pokrycia *in vivo*. Trudności te są dobrze znane z wielu badań nad wpływem polimorfizmu genotypu dla IL-1 β na występowanie i przebieg zapaleń przyzębia [93].

Podsumowanie

Wydaje się bardzo celowe prowadzenie dalszych badań nad ekspresją i polimorfizmami receptorów Toll-podobnych (zwłaszcza TLR2 i 4), aby określić stopień ryzyka zapadalności na przewlekłe i agresywne zapalenia przyzębia. Być może to jest właśnie trop do wykrycia czynnika prognostycznego tych chorób. Pozwoliłoby to wreszcie wdrożyć profilaktykę pierwotną i stosowne leczenie w bardzo wczesnej fazie choroby. Dokładne prześledzenie dróg sygnałowych i funkcji poszczególnych TLR powinno dać możliwość wprowadzenia do terapii, być może także periodontopatii, selektywnych inhibitorów lub agonistów. Działałyby one na różnych szczeblach kaskady przekazującej informację z tych receptorów. Pozwoliłoby to na kontrolę odpowiedzi immunologicznej i blokowania procesów negatywnych dla gospodarza.

Mimo licznych badań, złożoność procesów zachodzących w wyniku stymulacji TLR pozostaje nie w pełni wyjaśniona. Niewątpliwie, są potrzebne następne obserwacje homogenne w dziedzinie metodologii. Tylko wtedy będzie możliwa porównawcza analiza poszczególnych wyników, konieczna do uzyskania jednoznacznego wyjaśnienia wszelkich nieścisłości.

Piśmiennictwo

- [1] TAKEDA K., KAISHO T., AKIRA S.: Toll-like receptors. *Ann. Rev. Immunol.* 2003, 21, 335–376.
- [2] HASHIMOTO C., HUDSON K. L., ANDERSON K. V.: The Toll gene of *Drosophila*, required for dorsal-ventral embryonic polarity, appears to encode a transmembrane protein. *Cell* 1988, 52, 269–279.
- [3] TAKEDA K., AKIRA S.: Toll-like receptors in innate immunity. *Int. Immunol.* 2005, 17, 1–14.
- [4] TAKEUCHI O., SATO S., HORIUCHI T., HOSHINO K., TAKEDA K., DONG Z., MODLIN R. L., AKIRA S.: Cutting edge: role of Toll-like receptor 1 in mediating immune response to microbial lipoproteins. *J. Immunol.* 2002, 169, 10–14.

- [5] MAHANONDA R., PICHYANGKUL S.: Toll-like receptors and their role in periodontal health and disease. *Periodontol.* 2000, 2007, 43, 41–55.
- [6] HORNG T., BARTON G. M., MEDZHITOV R.: TIRAP: an adapter molecule in the Toll signaling pathway. *Nat. Immunol.* 2001, 2, 835–841.
- [7] FITZGERALD K. A., PALSSON-MCDERMOTT E. M., BOWIE A. G., JEFFERIES C. A., MANSELL A. S., BRADY G., BRINT E., DUNNE A., GRAY P., HARTE M. T., McMURRAY D., SMITH D. E., SIMS J. E., BIRD T. A., O'NEILL L. A.: Mal (MyD88-adaptor-like) is required for Toll-like receptor-4 signal transduction. *Nature* 2001, 413, 78–83.
- [8] YAMAMOTO M., SATO S., MORI K., TAKEUCHI O., HOSHINO K., TAKEDA K., AKIRA S.: A novel Toll/IL-1 receptor domain-containing adapter that preferentially activates the IFN-beta promoter in the Toll-Like receptor signaling. *J. Immunol.* 2002, 169, 6668–6672.
- [9] MUZIO M., BOSISIO D., POLENTARUTTI N., D'AMICO G., STOPPACCIARO A., MANCINELLI R., VAN'T VEER C., PENTON-ROL G., RUCO LP., ALLAVENA P., MANTOVANI A.: Differential expression and regulation of toll-like receptors (TLR) in human leukocytes: selective expression of TLR3 in dendritic cells. *J. Immunol.* 2000, 164, 5998–6004.
- [10] KADOWAKI N., HO S., ANTONENKO S., MALEFYT R. W., KASTELEIN R. A., BAZAN F., LIU Y. J.: Subsets of human dendritic cell precursors express different toll-like receptors and respond to different microbial antigens. *J. Exp. Med.* 2001, 194, 863–869.
- [11] KRUG A., TOWAROWSKI A., BRITSCHE S., ROTHENFUSSER S., HORNUNG V., BALS R., GIESE T., ENGELMANN H., ENDRES S., KRIEG A. M., HARTMANN G.: Toll-like receptor expression reveals CpG DNA as a unique microbial stimulus for plasmacytoid dendritic cells which synergizes with CD40 ligand to induce high amounts of IL-12. *Eur. J. Immunol.* 2001, 31, 3026–3037.
- [12] VISINTIN A., MAZZONI A., SPITZER J. H., WYLLIE D. H., DOWER S. K., SEGAL D. M.: Regulation of Toll-like receptors in human monocytes and dendritic cells. *J. Immunol.* 2001, 166, 249–255.
- [13] MALAVIYA R., ABRAHAM S. N.: Mast cell modulation of immune responses to bacteria. *Immunol. Rev.* 2001, 179, 16–24.
- [14] MCCURDY J. D., LIN T. J., MARSHALL J. S.: Toll-like receptor 4-mediated activation of murine mast cells. *J. Leukoc. Biol.* 2001, 70, 977–984.
- [15] WANG X., MOSER C., LOUBOUTIN J. P., LYSENKO E. S., WEINER D. J., WEISER J. N., WILSON J. M.: Toll-like receptor 4 mediates innate immune responses to *Haemophilus influenzae* infection in mouse lung. *J. Immunol.* 2002, 168, 810–815.
- [16] WOLFS T. G., BUURMAN W. A., VAN SCHADEWIJK A., DE VRIES B., DAEMEN M. A., HIEMSTRA P. S., VAN 'T VEER C.: *In vivo* expression of Toll-like receptor 2 and 4 by renal epithelial cells: IFN-gamma and TNF-alpha mediated up-regulation during inflammation. *J. Immunol.* 2002, 168, 1286–1293.
- [17] SAINT ANDRÉ A., BLACKWELL N. M., HALL L. R., HOERAUF A., BRATTIG N. W., VOLKMANN L., TAYLOR M. J., FORD L., HISE A. G., LASS J. H., DIACONU E., PEARLMAN E.: The role of endosymbiotic *Wolbachia* bacteria in the pathogenesis of river blindness. *Science* 2002, 295, 1892–1895.
- [18] BEKLEN A., HUKKANEN M., RICHARDSON R., KONTTINEN Y. T.: Immunohistochemical localization of Toll-like receptors 1–10 in *periodontitis*. *Oral. Microbiol. Immunol.* 2008, 23, 425–431.
- [19] QUINCHIA-RIOS B. H., GUERRERO M., ABOZEID S., BAINBRIDGE B., DARVEAU R., COMPTON T., BERTICS P. J.: Down-regulation of epidermal growth factor receptor-dependent signaling by *Porphyromonas gingivalis* lipopolysaccharide in life-expanded human gingival fibroblasts. *J. Periodont. Res.* 2008, 43, 290–304.
- [20] MAHANONDA R., SA-ARD-IAM N., MONTREEKACHON P., PIMKHAOKHAM A., YONGVANICHIT K., FUKUDA M. M., PICHYANGKUL S.: IL-8 and IDO expression by human gingival fibroblasts via TLRs. *J. Immunol.* 2007, 178, 1151–1157.
- [21] FAURE E., EQUILS O., SIELING P. A., THOMAS L., ZHANG F. X., KIRSCHNING C. J., POLENTARUTTI N., MUZIO M., ARDITI M.: Bacterial lipopolysaccharide activates NF-kappaB through toll-like receptor 4 (TLR-4) in cultured human dermal endothelial cells. Differential expression of TLR-4 and TLR-2 in endothelial cells. *J. Biol. Chem.* 2000, 275, 11058–11063.
- [22] HEIL F., AHMAD-NEJAD P., HEMMI H., HOCHREIN H., AMPENBERGER F., GELLERT T., DIETRICH H., LIPFORD G., TAKEDA K., AKIRA S., WAGNER H., BAUER S.: The Toll-like receptor 7 (TLR7)-specific stimulus loxoribine uncovers a strong relationship within the TLR7, 8 and 9 subfamily. *Eur. J. Immunol.* 2003, 33, 2987–2997.
- [23] LATZ E., SCHOENEMEYER A., VISINTIN A., FITZGERALD K. A., MONKS B. G., KNETTER C. F., LIEN E., NILSEN N. J., ESPEVIK T., GOLENBOCK D. T.: TLR9 signals after translocating from the ER to CpG DNA in the lysosome. *Nat. Immunol.* 2004, 5, 190–198.
- [24] POLTORAK A., HE X., SMIRNOVA I., LIU M. Y., VAN HUFFEL C., DU X., BIRDWELL D., ALEJOS E., SILVA M., GALANOS C., FREUDENBERG M., RICCIARDI-CASTAGNOLI P., LAYTON B., BEUTLER B.: Defective LPS signaling in C3H/HeJ and C57BL/10ScCr mice: mutation in *Tlr4* gene. *Science* 1998, 282, 2085–2088.
- [25] HOSHINO K., TAKEUCHI O., KAWAI T., SANJO H., OGAWA T., TAKEDA Y., TAKEDA K., AKIRA S.: Cutting Edge: Toll-like receptor 4 (TLR4)-deficient mice are hyporesponsive to lipopolysaccharide: evidence for TLR4 as the *Lps* gene product. *J. Immunol.* 1999, 162, 3749–3752.
- [26] JIANG Q., AKASHI S., MIYAKE K., PETTY HR.: Lipopolysaccharide induces physical proximity between CD14 and toll-like receptor 4 (TLR4) prior to nuclear translocation of NF-kappa B. *J. Immunol.* 2000, 165, 3541–3544.
- [27] SUGAWARA S., NEMOTO E., TADA H., MIYAKE K., IMAMURA T., TAKADA H.: Proteolysis of human monocyte CD14 by cysteine proteinases (gingipains) from *Porphyromonas gingivalis* leading to lipopolysaccharide hyporesponsiveness. *J. Immunol.* 2000, 165, 411–418.

- [28] SHIMAZU R., AKASHI S., OGATA H., NAGAI Y., FUKUDOME K., MIYAKE K., KIMOTO M.: MD-2, a molecule that confers lipopolysaccharide responsiveness on Toll-like receptor 4. *J. Exp. Med.* 1999, 189, 1777–1782.
- [29] NAGAI Y., AKASHI S., NAGAFUKU M., OGATA M., IWAKURA Y., AKIRA S., KITAMURA T., KOSUGI A., KIMOTO M., MIYAKE K.: Essential role of MD-2 in LPS responsiveness and TLR4 distribution. *Nat. Immunol.* 2002, 3, 667–672.
- [30] RE F., STROMINGER J.L.: Separate functional domains of human MD-2 mediate Toll-like receptor 4-binding and lipopolysaccharide responsiveness. *J. Immunol.* 2003, 171, 5272–5276.
- [31] OGATA H., SU I., MIYAKE K., NAGAI Y., AKASHI S., MECKLENBRÄUKER I., RAJEWSKY K., KIMOTO M., TARAKHOVSKY A.: The toll-like receptor protein RP105 regulates lipopolysaccharide signaling in B cells. *J. Exp. Med.* 2000, 192, 23–29.
- [32] HIRSCHFELD M., WEIS J.J., TOSHCHAKOV V., SALKOWSKI C.A., CODY M.J., WARD D.C., QURESHI N., MICHALEK S.M., VOGEL S.N.: Signaling by Toll-like receptor 2 and 4 agonists results in differential gene expression in murine macrophages. *Infect. Immun.* 2001, 69, 1477–1482.
- [33] WERTS C., TAPPING R.I., MATHISON J.C., CHUANG T.H., KRAVCHENKO V., SAINT GIRONS I., HAAKE D.A., GODOWSKI P.J., HAYASHI F., OZINSKY A., UNDERHILL D.M., KIRSCHNING C.J., WAGNER H., ADEREM A., TOBIAS P.S., ULEVITCH R.J.: Leptospiral lipopolysaccharide activates cells through a TLR2-dependent mechanism. *Nat. Immunol.* 2001, 2, 346–352.
- [34] SMITH M. F. JR., MITCHELL A., LI G., DING S., FITZMAURICE A.M., RYAN K., CROWE S., GOLDBERG J.B.: Toll-like receptor (TLR) 2 and TLR5, but not TLR4, are required for *Helicobacter pylori*-induced NF-kappaB activation and chemokine expression by epithelial cells. *J. Biol. Chem.* 2003, 278, 32552–32560.
- [35] KIKKERT R., LAINE M.L., AARDEN L.A., VAN WINKELHOFF A.J.: Activation of toll-like receptors 2 and 4 by gram-negative periodontal bacteria. *Oral. Microbiol. Immunol.* 2007, 22, 145–151.
- [36] HASHIMOTO M., ASAI Y., OGAWA T.: Separation and structural analysis of lipoprotein in a lipopolysaccharide preparation from *Porphyromonas gingivalis*. *Int. Immunol.* 2004, 16, 1431–1437.
- [37] COMPTON T., KURT-JONES E.A., BOEHME K.W., BELKO J., LATZ E., GOLENBOCK D.T., FINBERG R.W.: Human cytomegalovirus activates inflammatory cytokine responses via CD14 and Toll-like receptor 2. *J. Virol.* 2003, 77, 4588–4596.
- [38] GANTNER B.N., SIMMONS R.M., CANAVERA S.J., AKIRA S., UNDERHILL D.M.: Collaborative induction of inflammatory responses by dectin-1 and Toll-like receptor 2. *J. Exp. Med.* 2003, 197, 1107–1117.
- [39] TAKEUCHI O., KAWAI T., MUHLRADT P.F., RADOLF J.D., ZYCHLINSKY A., TAKEDA K., AKIRA S.: Discrimination of bacterial lipoproteins by Toll-like receptor 6. *Int. Immunol.* 2001, 13, 933–940.
- [40] TAKEUCHI O., HORIUCHI T., HOSHINO K., TAKEDA K., DONG Z., MODLIN R.L., AKIRA S.: Role of TLR1 in mediating immune response to microbial lipoproteins. *J. Immunol.* 2002, 169, 10–14.
- [41] HAJISHENGALLIS G., SHAKHATREH M.A., WANG M., LIANG S.: Complement receptor 3 blockade promotes IL-12-mediated clearance of *Porphyromonas gingivalis* and negates its virulence *in vivo*. *J. Immunol.* 2007, 179, 2359–2367.
- [42] WANG M., SHAKHATREH M.A., JAMES D., LIANG S., NISHIYAMA S., YOSHIMURA F., DEMUTH D.R., HAJISHENGALLIS G.: Fimbrial proteins of *Porphyromonas gingivalis* mediate *in vivo* virulence and exploit TLR2 and complement receptor 3 to persist in macrophages. *J. Immunol.* 2007, 179, 2349–2358.
- [43] BURNS E., BACHRACH G., SHAPIRA L., NUSSBAUM G.: Cutting Edge: TLR2 is required for the innate response to *Porphyromonas gingivalis*: activation leads to bacterial persistence and TLR2 deficiency attenuates induced alveolar bone resorption. *J. Immunol.* 2006, 177, 8296–8300.
- [44] ALEXOPOULOU L., HOLT A.C., MEDZHITOV R., FLAVELL, R.A.: Recognition of double-stranded RNA and activation of NF-kappaB by Toll-like receptor 3. *Nature* 2001, 413, 732–738.
- [45] HAYASHI F., SMITH K.D., OZINSKY A., HAWN T.R., YI E.C., GOODLETT D.R., ENG J.K., AKIRA S., UNDERHILL D.M., ADEREM A.: The innate immune response to bacterial flagellin is mediated by Toll-like receptor 5. *Nature* 2001, 410, 1099–1103.
- [46] GEWIRTZ A.T., NAVAS T.A., LYONS S., GODOWSKI P.J., MADARA J.L.: Cutting edge: Bacterial flagellin activates basolaterally expressed TLR5 to induce epithelial proinflammatory gene expression. *J. Immunol.* 2001, 167, 1882–1885.
- [47] HAWN T.R., VERBON A., LETTINGA K.D., ZHAO L.P., LI S. S., LAWS R.J., SKERRETT S.J., BEUTLER B., SCHROEDER L., NACHMAN A., OZINSKY A., SMITH K.D., ADEREM A.: A common dominant TLR5 stop codon polymorphism abolishes flagellin signaling and is associated with susceptibility to legionnaires' disease. *J. Exp. Med.* 2003, 198, 1563–1572.
- [48] HEIL F., HEMMI H., HOCHREIN H., AMPENBERGER F., KIRSCHNING C., AKIRA S., LIPFORD G., WAGNER H., BAUER S.: Species-specific recognition of singlestranded RNA via Toll-like receptor 7 and 8. *Science* 2004, 303, 1526–1529.
- [49] LUND J.M., ALEXOPOULOU L., SATO A., KAROW M., ADAMS N.C., GALE N.W., IWASAKI A., FLAVELL R.A.: Recognition of single-stranded RNA viruses by Toll-like receptor 7. *Proc. Natl Acad. Sci.* 2004, 101, 5598–5603.
- [50] JURK M., HEIL F., VOLLMER J., SCHEPETER C., KRIEG A.M., WAGNER H., LIPFORD G., BAUER S.: Human TLR7 or TLR8 independently confer responsiveness to the antiviral compound R-848. *Nat. Immunol.* 2002, 3, 499.
- [51] HEMMI H., TAKEUCHI O., KAWAI T., KAISHO T., SATO S., SANJO H., MATSUMOTO M., HOSHINO K., WAGNER H., TAKEDA K., AKIRA S.: A Toll-like receptor recognizes bacterial DNA. *Nature* 2000, 408, 740–745.
- [52] KRIEG A.M., LOVE-HOMAN L., YI A.K., HARTY J.T.: CpG DNA induces sustained IL-12 expression *in vivo* and resistance to *Listeria monocytogenes* challenge. *J. Immunol.* 1998, 161, 2428–2434.

- [53] ZIMMERMANN S., EGETER O., HAUSMANN S., LIPFORD G.B., RÖCKEN M., WAGNER H., HEEG K.: CpG oligodeoxynucleotides trigger protective and curative Th1 responses in lethal murine leishmaniasis. *J. Immunol.* 1998, 160, 3627–3630.
- [54] ZHANG D., ZHANG G., HAYDEN M.S., GREENBLATT M.B., BUSSEY C., FLAVELL R.A., GHOSH S.: A toll-like receptor that prevents infection by uropathogenic bacteria. *Science* 2004, 303, 1522–1526.
- [55] SARAH S.M., TAMILSELVAN S., KAMATCHIAMMAL S., SURESH R.: Expression of Toll-like receptors 2 and 4 in gingivitis and chronic periodontitis. *Indian J. Dent. Res.* 2006, 17, 114–116.
- [56] MORI Y., YOSHIMURA A., UKAI T., LIEN E., ESPEVIK T., HARA Y.: Immunohistochemical localization of Toll-like receptors 2 and 4 in gingival tissue from patients with periodontitis. *Oral Microbiol. Immunol.* 2003, 18, 54–58.
- [57] MEDVEDEV A.E., LENTSCHAT A., WAHL L.M., GOLENBOCK D.T., VOGEL S.N.: Dysregulation of LPS-induced Toll-like receptor 4-MyD88 complex formation and IL-1 receptor-associated kinase 1 activation in endotoxin-tolerant cells. *J. Immunol.* 2002, 169, 5209–5216.
- [58] ARBOUR N.C., LORENZ E., SCHUTTE B.C., ZABNER J., KLINE J.N., JONES M., FREES K., WATT J.L., SCHWARTZ D.A.: TLR4 mutations are associated with endotoxin hyporesponsiveness in humans. *Nat. Genet.* 2000, 25, 187–191.
- [59] LORENZ E., FREES K.L., SCHWARTZ D.A.: Determination of the TLR4 genotype using allele-specific PCR. *Biotechniq.* 2001, 31, 22–24.
- [60] LORENZ E., JONES M., WOHLFORD-LENANE C., MEYER N., FREES K.L., ARBOUR N.C., SCHWARTZ D.A.: Genes other than TLR4 are involved in the response to inhaled LPS. *Am. J. Physiol. Lung. Cell. Mol. Physiol.* 2001, 281, L1106–L1114.
- [61] ERRIDGE C., STEWART J., POXTON I.R.: Monocytes heterozygous for the Asp299Gly and Thr399Ile mutations in the Toll-like receptor 4 gene show no deficit in lipopolysaccharide signalling. *J. Exp. Med.* 2003, 197, 1787–1791.
- [62] HIRSCHFELD M., MA Y., WEIS J.H., VOGEL S.N., WEIS J.J.: Cutting edge: repurification of lipopolysaccharide eliminates signalling through both human and murine toll-like receptor 2. *J. Immunol.* 2000, 165, 618–622.
- [63] OHASHI K., BURKART V., FLOHE S., KOLB H.: Cutting edge: heat shock protein 60 is a putative endogenous ligand of the Toll-like receptor 4 complex. *J. Immunol.* 2000, 164, 558–561.
- [64] SASU S., LA VERDA D., QURESHI N., GOLENBOCK D.T., BEASLY D.: Chlamydia pneumoniae and chlamydial heat shock protein 60 stimulate proliferation of human vascular smooth muscle cells via Toll-like receptor 4 and p44/p42 mitogen-activated protein kinase activation. *Circ. Res.* 2001, 89, 244–250.
- [65] KINANE D.F., SHIBA H., STATHOPOULOU P.G., ZHAO H., LAPPIN D.F., SINGH A., ESKAN M.A., BECKERS S., WAIGEL S., ALPERT B., KNUDSEN T.B.: Gingival epithelial cells heterozygous for Toll-like receptor 4 polymorphisms Asp299Gly and Thr399Ile are hypo-responsive to Porphyromonas gingivalis. *Gen. Immun.* 2006, 7, 190–200.
- [66] SCHRÖDER N.W., HERMANN C., HAMANN L., GÖBEL U.B., HARTUNG T., SCHUMANN R.R.: High frequency of polymorphism Arg753Gln of the Toll-like receptor-2 gene detected by a novel allele-specific PCR. *J. Mol. Med.* 2003, 81, 368–372.
- [67] TAL G., MANDELBERG A., DALAL I., CESAR K., SOMEKH E., TAL A., ORON A., ITSKOVICH S., BALLIN A., HOURI S., BEIGELMAN A., LIDER O., RECHAVI G., AMARIGLIO N.: Association between common Toll-like receptor 4 mutations and severe respiratory syncytial virus disease. *J. Infect. Dis.* 2004, 189, 2057–2063.
- [68] LORENZ E., MIRA J.P., FREES K.L., SCHWARTZ D.A.: Relevance of mutations in the TLR4 receptor in patients with gram-negative septic shock. *Arch. Intern Med.* 2002, 162, 1028–1032.
- [69] LORENZ E., HALLMAN M., MARTTILA R., HAATAJA R., SCHWARTZ D.A.: Association between the Asp299Gly polymorphisms in the Toll-like receptor 4 and premature births in the Finnish population. *Pediatr. Res.* 2002, 52, 373–376.
- [70] TOROK H.P., GLAS J., TONENCHI L., MUSSACK T., FOLWACZNY C.: Polymorphisms of the lipopolysaccharide-signaling complex in inflammatory bowel disease: association of a mutation in the Toll-like receptor 4 gene with ulcerative colitis. *Clin. Immunol.* 2004, 112, 85–91.
- [71] YANG I.A., BARTON S.J., RORKE S., CAKEBREAD J.A., KEITH T.P., CLOUGH J.B., HOLGATE S.T., HOLLOWAY J.W.: Toll-like receptor 4 polymorphism and severity of atopy in asthmatics. *Gen. Immun.* 2004, 5, 41–45.
- [72] PALMER S.M., BURCH L.H., DAVIS R.D., HERCZYK W.F., HOWELL D.N., REINSMOEN N.L., SCHWARTZ D.A.: The role of innate immunity in acute allograft rejection after lung transplantation. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2003, 168, 628–632.
- [73] RADSTAKE T.R., FRANKE B., HANSEN S., NETEA M.G., WELSING P., BARRERA P., JOOSTEN L.A., VAN RIEL P.L., VAN DEN BERG W.B.: The Toll-like receptor 4 Asp299Gly functional variant is associated with decreased rheumatoid arthritis disease susceptibility but does not influence disease severity and/or outcome. *Arthrit. Rheum.* 2004, 50, 999–1001.
- [74] RUDOFISKY G. JR, REISMANN P., WITTE S., HUMPERT P.M., ISERMANN B., CHAVAKIS T., TAFEL J., NOSIKOV V.V., HAMANN A., NAWROTH P., BIERHAUS A.: Asp299Gly and Thr399Ile genotypes of the TLR4 gene are associated with a reduced prevalence of diabetic neuropathy in patients with type 2 diabetes. *Diabet.* 2004, 27, 179–183.
- [75] KIECHL S., LORENZ E., REINDL M., WIEDERMANN C.J., OBERHOLLENZER F., BONORA E., WILLEIT J., SCHWARTZ D.A.: Toll-like receptor 4 polymorphisms and atherogenesis. *N. Engl. J. Med.* 2002, 347, 185–192.
- [76] AMEZIANE N., BEILLAT T., VERPILLAT P., CHOLLET-MARTIN S., AUMONT M.C., SEKNADJI P., LAMOTTE M., LEBRET D., OLLIVIER V., DE PROST D.: Association of the Toll-like receptor 4 gene Asp299Gly polymorphism with acute coronary events. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2003, 23, e61–e64.
- [77] BALISTRERI C.R., CANDORE G., COLONNA-ROMANO G., LIO D., CARUSO M., HOFFMANN E., FRANCESCHI C., CARUSO C.: Role of Toll-like receptor 4 in acute myocardial infarction and longevity. *JAMA* 2004, 292, 2339–2340.

- [78] EDFELDT K., BENNET A.M., ERIKSSON P., FROSTEGÅRD J., WIMAN B., HAMSTEN A., HANSSON G.K., DE FAIRE U., YAN Z.Q.: Association of hypo-responsive toll-like receptor 4 variants with risk of myocardial infarction. *Eur. Heart J.* 2004, 25, 1447–1453.
- [79] BJÖRKBÄCKA H., KUNJATHOOR V.V., MOORE K.J., KOEHN S., ORDİJA C.M., LEE M.A., MEANS T., HALMEN K., LUSTER A.D., GOLENBOCK D.T., FREEMAN M.W.: Reduced atherosclerosis in MyD88-null mice links elevated serum cholesterol levels to activation of innate immunity signaling pathways. *Nat. Med.* 2004, 10, 416–421.
- [80] MICHELSEN K.S., WONG M.H., SHAH P.K., ZHANG W., YANO J., DOHERTY T.M., AKIRA S., RAJAVASHISTH T.B., ARDITI M.: Lack of Toll-like receptor 4 or myeloid differentiation factor 88 reduces atherosclerosis and alters plaque phenotype in mice deficient in apolipoprotein E. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2004, 101, 10679–10684.
- [81] LORENZ E., MIRA J.P., CORNISH K.L., ARBOUR N.C., SCHWARTZ D.A.: A novel polymorphism in the Toll-Like Receptor 2 gene and its potential association with staphylococcal infection. *Infect. Immun.* 2000, 6398–6401.
- [82] KANG T.J., CHAE G.T.: Detection of Toll-like receptor 2 (TLR2) mutation in the lepromatous leprosy patients. *FEMS Immunol. Med. Microbiol.* 2001, 31, 53–58.
- [83] OĞUS A.C., YOLDAS B., ÖZDEMİR T., UĞUZ A., ÖLCEN S., KESER I., COSKUN M., CILLI A., YEGIN O.: The Arg753Gln polymorphism of the human toll-like receptor 2 gene in tuberculosis disease. *Eur. Respir. J.* 2004, 23, 219–223.
- [84] KREDİET T.G., WIERTSEMA S.P., VOSSERS M.J., HOEKS S.B., FLEER A., RUVEN H.J., RIJKERS G.T.: Toll-like receptor 2 polymorphism is associated with preterm birth. *Pediatr. Res.* 2007, 62, 474–476.
- [85] LAINE M.L., MORRÉ S.A., MURILLO L.S., VAN WINKELHOFF A.J., PEÑA A.S.: CD14 and TLR4 gene polymorphisms in adult periodontitis. *J. Dent. Res.* 2005, 84, 1042–1046.
- [86] BRETT P.M., ZYGOGIANNI P., GRIFFITHS G.S., TOMAZ M., PARKAR M., D'AIUTO F., TONETTI M.: Functional gene polymorphisms in aggressive and chronic periodontitis. *J. Dent. Res.* 2005, 84, 1149–1153.
- [87] TERVONEN T., RAUNIO T., KNUUTTILA M., KARTTUNEN R.: Polymorphisms in the CD14 and IL-6 genes associated with periodontal disease. *J. Clin. Periodontol.* 2007, 34, 377–383.
- [88] BERDELI A., EMİNGİL G., SAYGAN B.H., GÜRKAN A., ATILLA G., KÖSE T., BAYLAS H.: TLR2 Arg753Gly, TLR4 Asp299Gly and Thr399Ile gene polymorphisms are not associated with chronic periodontitis in a Turkish population. *J. Clin. Periodontol.* 2007, 34, 551–557.
- [89] HOLLA I., BUCKOVA D., FASSMANN A., ROUBALIKOVA L., VANEK J.: Lack of association between chronic periodontitis and the Toll-like receptor 4 gene polymorphisms in a Czech population. *J. Periodont. Res.* 2007, 42, 340–344.
- [90] SCHRÖDER N.W., MEISTER D., WOLFF V., CHRISTAN C., KANER D., HABAN V., PURUCKER P., HERMANN C., MOTER A., GÖBEL U.B., SCHUMANN R.R.: Chronic periodontal disease is associated with single-nucleotide polymorphisms of the human *TLR-4* gene. *Gen. Immun.* 2005, 6, 448–451.
- [91] FOLWACZNY M., GLAS J., TÖRÖK H.P., LIMBERSKY O., FOLWACZNY C.: Toll-like receptor (TLR) 2 and 4 mutations in periodontal disease. *Clin. Exp. Immunol.* 2004, 135, 330–335.
- [92] JAMES J.A., POULTON K.V., HAWORTH S.E., PAYNE D., MCKAY I.J., CLARKE F.M., HUGHES F.J., LINDEN G.J.: Polymorphisms of TLR4 but not CD14 are associated with a decreased risk of aggressive periodontitis. *J. Clin. Periodontol.* 2007, 34, 111–117.
- [93] GREENSTEIN G., HART T.C.: A critical assessment of interleukin-1 genotyping when used in a genetic susceptibility test for severe chronic periodontitis. *J. Periodontol.* 2002, 73, 231–247.

Adres do korespondencji:

Dariusz Chrzęszczyk
Stomatologiczne Centrum Transferu Technologii
ul. Krakowska 26
50-425 Wrocław
e-mail: Darek.chrzeszczyk@interia.eu

Praca wpłynęła do Redakcji: 9.03.2009 r.
Po recenzji: 20.04.2009 r.
Zaakceptowano do druku: 24.04.2009 r.

Received: 9.03.2009
Revised: 20.04.2009
Accepted: 24.04.2009