

ABSTRACT

VORES IMMUNFORSVAR påvirkes af genetiske og epigenetiske faktorer, sygdomme og miljøfaktorer. Betegnelsen epigenetik refererer til ikke-arvelige kemiske forandringer af DNA. Disse forandringer fører til strukturelle ændringer af kromatinet og aktivering eller inaktivering af gener. Studier har vist, at faktorer som fx bakterier, kost, inflammation, alder og rygning kan påvirke den orale sundhed via ændringer i epigenomet. Formålet med denne artikel var at studere litteraturen om epigenetiske modifikationer med henblik på oral sundhed og inflammatoriske tilstande i mundhulen. Relevante publikationer blev fundet ved hjælp af fire elektroniske databaser, og der blev inkluderet artikler til og med juni 2019. Desuden blev der foretaget hånd søgning i de identificerede artiklers referencelister samt i fire parodontologiske tidsskrifter. Resultaterne af denne litteraturoversigt viser, at epigenetikens betydning for den orale sundhed kun er sporadisk udforsket, og at der er behov for flere undersøgelser af, hvordan miljøfaktorer via epigenetikken kan påvirke genskspresionen i mundhulens væv.

EMNEORD Epigenome | mouth diseases | diet | smoking | inflammation



Korrespondanceansvarlig sidsteforfatter:
LENA LARSSON
lena.larsson@odontologi.gu.se

Epigenetik og oral sundhed

REBECKA GREBERG, DDS student, Institute of Odontology, The Sahlgrenska Academy, University of Gothenburg, Göteborg, Sweden

FARAH ASA'AD, BDS, MSc, ph.d., research fellow, Department of Biomaterials, Institute of Clinical Sciences, The Sahlgrenska Academy, University of Gothenburg, Göteborg, Sweden

LENA LARSSON, assoc. professor, ph.d., Department of Periodontology, Institute of Odontology, The Sahlgrenska Academy, University of Gothenburg, Göteborg, Sweden

► Accepteret til publikation den 5. maj 2020

Tandlægebladet 2020;124:xxx-xxx

GENOMET ER BETEGNELSEN FOR HELE EN ORGANISMES ARVEMASSE og omfatter både gener og ikke-kodende DNA-sekvenser. Man bør erindre, at mundhulens epitel konstant udsættes for eksterne og interne påvirkninger som fx kost, rygning, bakterier, inflammation, aldring og inhalerede partikler og toksiner, og undersøgelser har vist, at sådanne faktorer kan påvirke den

orale sundhed ved at ændre genernes funktion. Det sker gennem ændringer i epigenomet, som er et netværk af kemiske stoffer og reaktioner, der kan modificere genomet uden at ændre DNA-sekvenserne. Disse epigenetiske mekanismer afgør, hvilke gener der er aktive i en given celle, idet der tændes eller slukkes for ekspresionen af forskellige gener. U hensigtsmæssige aktivering eller nedlukning af gener kan i visse tilfælde bane vejen for opståen eller progression af sygdomme (1,2) (Fig. 1). Det bør understreges, at disse epigenetiske forandringer ikke er permanente, og at de kan ændre sig flere gange i et menneskes levetid. De epigenetiske forandringer, der indtil videre er bedst beskrevet, er DNA-metylering og histonmodificering. DNA-metylering er en proces, hvorved der føjes en metylgruppe på DNA ved hjælp af DNA-metyltransferaser (DNMTs). Histoner er de hyppigst forekommende proteiner i cellekernernes kromatin, som består af mere eller mindre tæt pakke proteind-DNA-komplekser. Remodellering af kromatinstrukturen ændrer måden, DNA er pakket på, og dermed kan også genskspresionen ændres.

Formålet med denne artikel er at give en litteraturoversigt over epigenetiske modifikationer i forbindelse med oral sundhed og inflammatoriske tilstande i mundhulen. Da oral sund-

FAKTABOKS 1

ANVENDTE FORKORTELSER

AHRR: Arylhydrocarbon receptor repressor

AHR: Arylhydrocarbon receptor (Ahr) pathway

AZA: 5'-azacytidin

DAC: 5-aza-2'-deoxycytidin

DBS: DNA double-strand breaks

DNMTs: DNA methyltransferaser

E-Cad: E-cadherin

ECM: Ekstracellulær matrix

GCF: gingivalvæske

HDACs: Histon deacetylaser

HDACi: Histon deacetylase inhibitor

HATs: Histon acetyltransferaser

hTERT: Human telomerase revers transkriptase

Igf2: Insulin-like growth factor II

IL: interleukin

INF: interferon

LPS: Lipopolysakkarid

miRNAs: mikroRNA'er

MLH1: Gen der koder for et DNA mismatch protein

mRNA: messenger RNA

NFκB: Nukleær faktor-κB

NOD1: Nucleotide-binding oligomerization domain-containing protein 1

OL: oral leukoplaki

OLP: oral lichen planus

OSCC: Oral planocellulært carcinom

PAMPs: Pathogen-associated molecular patterns

PRRs: pathogen recognition receptors

RA: Reumatoid arthritis

SLE: Systemisk lupus erythematosus

TGF: Transforming growth factor

TNF: Tumor necrosis factor

TLRs: Toll-like receptors

WHO: World Health Organization

5hmC: 5-hydroxymethylcytosin

5mC: 5-methylcytosin

hed er et meget omfattende emne, har vi valgt at omtale en række faktorer, der både påvirker epigenomet og hyppigt kommer i kontakt med mundhulens væv og dermed kan spille en rolle for sundhedstilstanden i mundhulen. Andre emner som dental caries, parodontitis og pulpitis vil blive behandlet i andre artikler i dette temanummer.

MATERIALE OG METODER

Denne narrative oversigt er baseret på litteratursøgning efter kliniske og prækliniske studier uden restriktioner med hensyn til sprog og publikationsår. Vi stillede følgende spørgsmål: Hvilke faktorer kan aktivere epigenetiske mekanismer med relation til oral sundhed? Elektronisk og manuel litteratursøgning blev foretaget af to uafhængige undersøgere (RG, LL) i databaserne MEDLINE, EMBASE, Cochrane Central Register of Controlled Trials og Cochrane Oral Health Group Trials Register frem til juni 2019. Tre undersøgere (RG, LL, FA) trak uafhængigt af hinanden data ud fra studierne. Kun artikler, der kunne rekvireres i fuld tekst via biblioteket på Göteborgs Universitet, blev inkluderet i materialet. Søgestrategien

var følgende: (((("oral health"[MeSH Terms]) OR "diet"[MeSH Terms]) OR "smoking"[MeSH Terms]) OR oral health[Title/Abstract]) OR diet[Title/Abstract]) OR smoking[Title/Abstract] AND (((("epigenetics"[MeSH Terms]) OR epigenetics[Title/Abstract])).

Der blev desuden foretaget håndsøgning i en række odontologiske tidsskrifter (Journal of Dental Research, Journal of Clinical Periodontology, Journal of Periodontology og The International Journal of Periodontics & Restorative Dentistry) frem til juni 2019, og endelig blev referencelisterne i de fundne artikler studeret med henblik på at finde yderligere relevant litteratur.

FAKTORER SOM HAR BETYDNING FOR ORAL SUNDHED OG INDUCERER EPIGENETISKE FORANDRINGER

Kost

Der er flere næringsstoffer, som har indflydelse på forekomst af caries og medfødte kranio-faciale misdannelser (3,4); men eventuel sammenhæng med epigenetiske forandringer er indtil videre uafklaret. ▶

Epigenetiske faktorer for opståen af sygdom

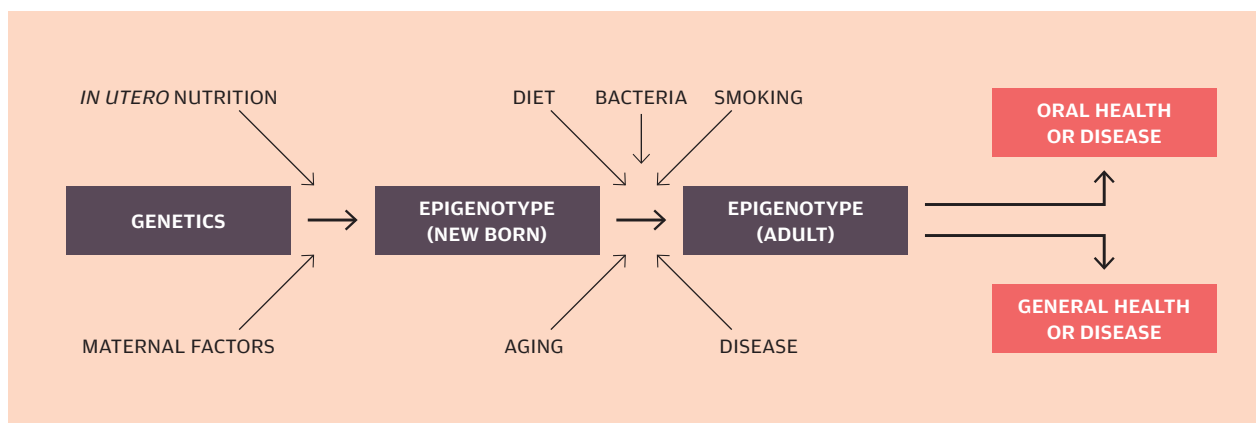


Fig. 1. Tidslinje for forskellige faktorer, der potentielt kan forårsage epigenetiske forandringer i løbet af livet. (Tillempt efter reference #1)

Fig. 1. Timeline for various factors that have the potential to cause epigenetic changes throughout the lifetime. (Adapted from reference #1)

Næringsstoffer spiller en nøglerolle for cellulære funktioner, og der er foretaget undersøgelser af deres virkning på epigenetik og genregulering inden for emner som vordende mødres kost, direkte effekt af specifikke fødeemner på epigenetik, vægttab samt kost som led i cancerbehandling. Et af de mange studier om kost og epigenetik illustrerer tydeligt, hvordan et næringsstof kan fremkalde en meget specifik fænotype: museunger får forskellig pelsfarve afhængigt af, om moderen fodres med normal kost eller kost beriget med metyl. Den metyl-berigede kost gør pelsen brunpletet, fordi der sker forøget metylering af det gen, der regulerer hårpigmentet (5).

Folinsyre (folat, et vitamin der især forekommer i mørkegrønne grøntsager, jordbær og asparges), vitamin B6, vitamin B12 og cholin er essentielle næringsstoffer i de universelt forekommende stofskiftetereaktioner, der overfører kulstofmolekyler i biosyntetiske processer og dermed er i stand til direkte at påvirke DNA-metyleringen (5,6). Folinisyrens indvirkning på DNA-metylering anses for at være afgørende for progression af en række kroniske sygdomme (7). Insufficient indtagelse af folat under graviditeten er en velkendt risikofaktor for misdannelser, og man mener, at epigenetiske modifikationer indgår i processen, om end den præcise mekanisme ikke er klarlagt (8,9). Andre næringsstoffer som polyfenoler (findes i grøn te) (10), genistein (findes i soyabønner) (11) og sulforafan (findes i broccoli, kål m.v.) (12) indvirker på histonmodificeringer.

Kostens betydning for epigenetiske mekanismer er især blevet undersøgt i forbindelse med cancer, og mens visse fødeemner medfører risiko for udvikling af cancer (13), er det påvist, at andre virker beskyttende eller hæmmer cancerudviklingen. Colacino et al. (14) har fundet, at personer, der angiver at have et højt indtag af folat, vitamin B12 og vitamin A, har signifikant mindre metylering af tumorsuppressorgener end personer, der angiver at have et lavt indtag af disse stoffer. Det samme gælder for personer med højt indtag af korsblomstrede grøntsager

(broccoli, blomkål, rosenkål) (14). Generelt er folat, grøn te og broccoli stoffer, der er grundigt udforskede som led i behandling af cancer (15-17). DNA-hypometylering (dvs. ringe grad af metylering) forekommer ofte i forbindelse med cancer og er formentlig ensbetydende med forøget ekspresion af gener, der er involveret i tumordannelse. Dette fald i DNA-metylering kan hænge sammen med folatmangel (7,18).

Næringsmidler kan også påvirke vores sundhed gennem deres indhold af toksiske stoffer som fx arsen, cadmium, nikkel, krom og kviksølv. Cadmium og kviksølv, som findes i fisk, skaldyr, kornprodukter og grøntsager, påvirker DNA-metyleringen, mens nikkel ændrer histonacetyleringen. Det bør bemærkes, at disse virkninger formentlig er vævs- og organspecifikke (14,19).

Konceptet om at udnytte næringsmidler i behandling af caries, parodontitis og oral cancer er tiltalende, og resultaterne fra studier om kostens virkning på sygdomme er afgjort lovende. Det er dog vigtigt at huske, at vores viden om kost og epigenetik stammer fra dyreforsøg og undersøgelser *in vitro*, så det er for nærværende problematisk at drage konklusioner om forhold hos mennesker *in vivo*. Desuden er der så mange interaktioner imellem forskellige fødeemner og næringsstoffer, at det er yderst vanskeligt at studere specifikke virkninger af enkelte næringsstoffer hos mennesker (20). Det bør også bemærkes, at de doser, der opereres med i undersøgelserne, ofte overstiger, hvad en normal person ville indtage gennem kosten. Aktuelt ved vi meget lidt om, hvilke doser der er nødvendige, og hvor længe de epigenetiske ændringer varer (5). Det komplicerede samspil mellem forskellige næringsstoffer i relation til udvikling eller forebyggelse af cancer er fremragende beskrevet af Ferguson et al. (20).

Ryging

Cigaretrykning er en risikofaktor for en række sygdomme, fx cancer, kardio-vaskulære sygdomme (21) og inflammatoriske

sygdomme (22), herunder parodontitis. Patienter, der ryger, har værre parodontal status og mangler flere tænder end ikke-rygere (23). Nye undersøgelser tyder på, at DNA-metyleringsgraden for flere gener er anderledes hos parodontitispatienter, der ryger, end hos parodontitispatienter, der ikke ryger (23-25).

Tobaksrygning er kraftigt associeret til en række cancerformer, herunder oral cancer (26). Ved inhalering og metabolisk aktivering af carcinogene stoffer fra cigaretrøgen kan selve DNA-sekvensen forandres, og dette kan give anledning til tumordannelse. De carcinogene stoffer kan desuden fremkalde epigenetiske ændringer ved at ændre aktiviteten af enzymer, der indgår i epigenetiske reaktioner, fx histonacetyltransferaser (HATs) og DNMTs (27), hvilket medfører ændret genekspression af tumorsuppressorgener (28). Der er også påvist ændret metylering af gener, der styrer reparation af beskadiget DNA og vedligeholdelse af genomets stabilitet, i orale epitelceller fra rygere sammenlignet med ikke-rygere (29).

En meta-analyse af sammenhængen mellem DNA-metylering og cigaretrygning viste, at der var afvigende metyleringsgrad for omkring 7.000 gener i blodprøver fra aktive rygere sammenlignet med ikke-rygere. Et af de mest signifikante gener i den sammenhæng var aryl hydrocarbon receptor (AHR) repressor, som styrer kroppens normale respons over for de polyaromatiske hydrocarboner, der dannes ved cigaretrygning (21). Dette fund er bekræftet i en undersøgelse af mundslimhinden hos rygere og ikke-rygere (30). Det var dog bemærkelsesværdigt, at de fleste fik genetableret et metyleringsmønster, som stort set svarede til ikke-rygernes blot fem år efter et rygestop. Der var dog enkelte DNA-områder, hvor forandringerne i metyleringen persisterede, hvilket tyder på, at tilbagevenden til normal DNA-metylering er locus/gen-specifikt og sker med forskellig hastighed afhængigt af gen og væv (21).

Forskningsaktiviteten omkring rygning, cancer og epigenetik er meget omfattende, og ovenstående giver kun en lille indblik i området. For særligt interesserede læsere kan en ny oversigtsartikel af Kaur et al. (31) anbefales.

Aldring

Menneskets aldring er en kompleks proces, som vi endnu ikke kender i detaljer. Den er afhængig af mange faktorer, bl.a. epigenetiske forandringer (32). Undersøgelser af enæggede tvillinger har vist, at tvillinger epigenetisk set er meget ens i de første leveår; men med tiden ændrer deres epigenom sig, og blandt ældre tvillinger er der store forskelle i både DNA-metylering og histonacetylering (33). En sammenligning af det totale DNA-metyleringsmønster i inflammatoriske T-celler hos en nyfødt og en 103-årig viste, at den 103-åriges celler i langt højere grad var umetylerede end den nyfødtes celler (34). Tilsvarende har man ved analyse af hudbiopsier fundet, at der er stor forskel i metyleringsmønsteret hos unge og ældre (35). Da umetyleret DNA er ensbetydende med aktivt kromatin og aktiv genekspression, tyder den øgede demetylering på øget proteindannelse.

Pal & Tyler (36) har for nylig sammenfattet de aktuelle teorier om aldring og epigenetik og konkluderer, at vores levealder i væsentligt omfang er epigenetisk bestemt og påvirkes af

Klinisk relevans

Epigenetiske forandringer skyldes interne eller eksterne påvirkninger, som ændrer reguleringen af genekspressionen uden at medføre permanente ændringer i arvemassen, dvs. DNA. Epigenetiske forandringer nedarves derfor ikke, de er reversible og kan forebygges.

Udforskning af de epigenetiske mekanismer ved sygdomme giver os en bedre indsigt i sygdommens patogenese og kan føre til nye behandlingsmåder. Undersøgelser af epigenetiske forhold ved orale sygdomme kan også føre til nye diagnostiske metoder, som måske inden for den nærmeste fremtid kan give mulighed for at opdage maligne tilstande på et tidligt tidspunkt.

kost og miljøfaktorer (36). Ændringer i kromatinet påvirker aldringsprocessen ved at eksponere gener, der har med aldring at gøre (36,37).

Aldring på cellulært niveau, dvs. en permanent hæmning af cellens normale cyklus som følge af cellstress, anses for at være en væsentlig faktor ved udvikling af sygdomme som cancer, aterosklerose og osteoarthritis (38). Aldrende celler udviser generel hypometylering; men der er dog enkelte gener, der er mere metylerede end hos ikke-aldrende celler (39).

Heling af beskadiget DNA er et andet aldringsrelateret område, der er epigenetisk betinget. Ændringer i DNA-helings-systemet kan føre til flere DNA-skader, hvorved risikoen for tumordannelse stiger. Ligeledes påvirkes genet for human telomerase revers transcriptase (hTERT), som er vigtigt for opretholdelse af genomets stabilitet (40). Hvis cellen skal reparere skader på den dobbelte helix (double stranded breaks, DSBs), er det nødvendigt, at kromatinet er i en tilgængelig tilstand, så histonmodifikationer spiller formentlig en rolle i processen.

Bakterier

Indtil videre er bakteriers evne til at inducere epigenetiske forandringer hos værtsorganismen bedst belyst i dyremodeler og *in vitro*-undersøgelser, hvor der fremkaldes inflammation ved hjælp af bakterier eller bakterietoksiner som fx lipopolysakkarid (LPS). I et af de første studier, der påviste en epigenetisk forbindelse mellem bakterier og fosterudvikling, fandt man DNA-hypermetylering af Igf2-genet efter infektion af mus med *Campylobacter rectus*. Dette ændrede det epigenetiske mønster og dermed ekspressionen af gener, der styrede fosterudviklingen (41).

Fra *in vitro*-undersøgelser af forskellige celletyper ved man, at toksiner fra *Porphyromonas gingivalis* påvirker både histonmodificering og DNA-metylering af inflammationsgener (42-44).

Der er ligeledes påvist epigenetiske forandringer som respons på bakterier (*Helicobacter pylori*) i forbindelse med mavecancer (45). Det er interessant, at behandling af gingivale epitelceller med to forskellige DNMT-1 inhibitorer (5'-aza- ▶

cytidin, (AZA) og 5-aza-2'-deoxycytidin (DAC)) før eksponering for *P. gingivalis* medførte signifikant forøget produktion af det pro-inflammatoriske cytokin IL-1 α og nedsat produktion af IL-6 og CXCL1. Desuden førte forbehandling med DAC også til forøget produktion af TNF- α (46). Da et tilsvarende eksperiment blev foretaget med *Fusobacterium nucleatum*, førte forbehandling med AZA til nedsat forekomst af IL-6 og CXL-1, mens forbehandling med DAC ikke førte til ændringer i cytokinproduktionen (46). Martins et al. (47) har også undersøgt effekten af *P. gingivalis* og *F. nucleatum* på epigenetiske modifikationer i orale epitelceller, og de fandt nedregulering af DNMT1 og acetylering af histon H3 (47). Disse undersøgelser har også vist et muligt forløb for bakteriers ændring af immunforsvaret via epigenetikken. Kort sagt viser undersøgelserne, at bakterier kan påvirke de epigenetiske mekanismer og derigennem bidrage til inflammation. Det bør dog understreges, at virkningerne er forskellige fra bakterie til bakterie og fra celletype til celletype.

EPIGENETISK REGULERING AF IMMUNERESPONSET

Kroniske inflammatoriske sygdomme

Epigenetikken er stadig dårligt belyst inden for odontologisk forskning, og de fleste rapporter om inflammation, inflammatoriske markører og epigenetisk regulering af immunrespons stammer fra det medicinske område. Inden for odontologien har udforskning af epigenetik og inflammation især været relateret til parodontitis. Parodontitis har flere fællestræk med autoimmune sygdomme som reumatoid arthritis (RA), Sjögrens syndrom og systemisk lupus erythematosus (SLE) (48), fx tilstedeværelsen af et stort antal B-celler. Man kan derfor forestille sig, at viden om epigenetiske modifikationer ved disse sygdomme også kan overføres til parodontitis. Undersøgelser af enæggede tvillinger understøtter opfattelsen af, at disse sygdomme har genetiske, epigenetiske og miljømæssige årsager (49).

SLE er en autoimmun sygdom, der rammer flere væv og organer som fx hjerte, led, lunger og det hæmatopoietiske system (50). Patienter med SLE har immunceller med dysreguleret genekspression og et andet DNA-metyleringsmønster end raske personer (51). Dertil kommer stærkt nedsat acetylering af histonerne H3 og H4 i T-celler (52). RA er en autoimmun sygdom, hvor immunceller angriber synoviale fibroblaster, hvilket fører til leddestruktion og systemisk inflammation i flere organer (53). Ligesom ved SLE har patienter med RA et andet DNA-metyleringsmønster end raske personer (54). Der er også påvist ændringer i DNA-metylering i immunceller ved to andre autoimmune sygdomme, psoriasis og Sjögrens syndrom (55-57). Det synes således veldokumenteret, at der forekommer ændringer i metyleringsmønsteret ved kroniske inflammatoriske sygdomme. Fremtidige studier må afklare, hvilke gener der ændres og dermed kan være mål for epigenetisk behandling.

Bakterier, der koloniserer tandoverflader, aktiverer en lang række inflammatoriske reaktioner i de gingivale væv, og disse reaktioner påvirkes igen af genetiske og miljømæssige faktorer (58). Et vigtigt led i det initiale forsvar mod bakterier er genkendelse af patogener ved hjælp af *Toll like receptors* (TLRs). Der er ved parodontitis påvist nedreguleret ekspression af TLR

og ændringer i DNA-metylering, hvilket kan lede til øget inflammation og dermed øget modtagelighed for parodontitis (59,60). Aktivering af TLRs starter en kaskade af reaktioner, som fører til aktivering af NF κ B, som regulerer udskillelsen af inflammatoriske cytokiner og ekspressionen af TLRs (47,61). Der er påvist dysregulering af NF κ B ved kroniske inflammatoriske sygdomme som parodontitis og RA, og dette fører til vævsdestruktion (62,63).

Metyleringsmønsteret for TLRs er også undersøgt i forbindelse med pulpitis, og der blev fundet højere forekomst af TLR2 og TLR5 i inflammatorisk pulpavæv end i normalt pulpavæv (64). Desuden var graden af histonmetylering nedsat i inflammatoriske pulpaceller og -væv (65,66).

Det inflammatoriske respons omfatter mange celler og cytokiner, og IL-1, IL-6, TNF- α og INF- γ anses for pro-inflammatoriske cytokiner, mens IL-10, IL-4 og TGF- β anses for anti-inflammatoriske; men IL-10 har dog også en fremmede funktion i immunrespons ved at stimulere produktion af autoreaktive B-celler (B1a celler) (67). Hypometylering og dermed opregulering af genekspressionen i immunceller er påvist for gener, der koder for IL-10 (68), IL-13 (68), IL-4 og IL-6 (69), samt for IFN-regulerede gener (70). Ved parodontitis er der flere cytokiner, fx INF- γ , IL-10 og TNF- α , som har et anderledes metyleringsmønster end hos raske kontrolpersoner (60). INF- γ udviser også afvigende metylering ved pulpitis (65).

miRNA'er og inflammation i mundhulen

MikroRNA'er (miRNAs) er en gruppe af små, ikke-kodende RNA'er på ca. 22 basepars længde. De regulerer genekspressionen ved at binde sig til den 3'-utranslaterede region på et givet messenger RNA (mRNA). Derved undertrykker de genekspressionen enten ved at nedbryde det pågældende mRNA eller ved at forhindre dets translation (71). I inflammatorisk pulpavæv har man fundet nedregulering af 34 miRNA'er og opregulering af tre miRNA'er (65). Der er også påvist afvigende regulering af miRNA'er ved Sjögrens syndrom (72). Forskellige miRNA'ers rolle i forbindelse med resorption og regeneration af alveolkogle er beskrevet i en nyere oversigtsartikel (73).

Inflammation i mundhulen i relation til tumorudvikling

Ifølge WHO omfatter orale prækankrøse lidelser leukoplaki, erytroplaki, lichen planus og submukøs fibrose (74). Oral lichen planus (OLP) er en inflammatorisk sygdom, hvor de basale epitelceller udsættes for en T-celle-medieret inflammatorisk reaktion. Dette medfører karakteristiske læsioner med forskellige kliniske fænotyper i kindslimhinde, tunge og gingiva (75,76). Oral leukoplaki (OL) defineres som "en hvid forandring, der ikke klinisk eller histopatologisk kan karakteriseres som nogen anden sygdom og ikke er relateret til noget fysisk eller kemisk agens bortset fra tobak" (74).

Der er generelt forskel på DNA-metyleringsmønsteret i sundt og malignt mundhulevæv. Det er påvist i flere studier (77-79). De epigenetiske mekanismer ved udvikling af oral cancer er yderst komplekse, idet der er påvist både hypo- og hypermetylering af DNA i tumorvæv. DNA-metylering af tumorsuppressorgener slukker for disse gener, mens hypome-

tylering af onkogener (gener der fremmer tumorudvikling) skruer op for disses genekspression. Samlet set fører disse reaktioner til tumordannelse. DNA-metylering er en reversibel proces, og en celles overgang fra umetyleret til metyleret og vice versa er en yderst velreguleret reaktion. Et af trinene i processen er konversion af 5mC (dvs. hvad vi normalt kalder DNA-metylering) til 5-hydroxymethylcytosine (5hmC). Ved orale planocellulære carcinomer er forekomsten af 5hmC nedsat, mens der er forøget forekomst af 5mC (80). Tab af 5hmC mistænkes for at være en markør for malign transformation af præmaligne læsioner.

Der findes kun få studier af DNA-metylering ved OLP, og resultaterne er modstridende. En undersøgelse finder ingen eller meget små forskelle i DNA-metyleringsmønstret hos OLP-patienter og raske kontrolpersoner (81), hvorimod Németh et al. (82) beskriver afvigende metyleringsmønstre ved OLP og endnu mere signifikante afvigelser ved OSCC. Endvidere ses, at DNA-metyleringen ved visse loci er ens hos patienter med OLP og OSCC (82). Ved sammenligning af DNA-metyleringsprofilerne ved OSCC og OL fandt man, at disse to sygdomme ved nogle gener har samme DNA-metylering. Desuden fandt man, at tilfælde af OL med risiko for malign transformation havde afvigende promotormetylering ved mange gener (83).

Forekomsten af histonacetylering ved præmaligne tilstande er også undersøgt. Dillenburg et al. (84) undersøgte kromatinacetylering og DBS-niveau hos patienter med OLP i relation til resultaterne af behandling. Det viste sig, at dårligt respons på behandling var relateret til høje niveauer af acetylering og DBS. Disse fund åbner mulighed for at identificere patienter, hvor den traditionelle behandling ikke vil give de ønskede resultater, og identificere OLP-patienter med ustabile genomer og dermed forøget risiko for tumorudvikling (84). Hos OLP-patienter har CD4+ T-celler i perifert blod mindre H3-acetylering end hos kontrolpersoner. Denne reducerede acetylering er positivt korreleret til forhøjet HDAC-aktivitet og negativt korreleret til produktion af IL-4 (85). I en undersøgelse af acetylering af histon H3 lysin 9 ved forskellige tilstande fandt man hypoacetylering ved OSCC sammenlignet med oral leukoplaki og normal mundslimhinde. Der var derimod ingen forskel mellem leukoplaki og normal mundslimhinde (86).

Flere miRNA'er udtrykkes anderledes hos OLP-patienter end hos raske kontrolpersoner, fx miRNA-27b (87), miRNA-21, miRNA-203 (88) miRNA-146a og miRNA-155 (89). Forekomsten af miRNA varierer ikke blot mellem sunde og syge, men også imellem de enkelte sygdomme, idet der ses forskelle i metylering af miRNA-137 mellem OLP og OSCC og mellem OLP og raske personer (90,91). Disse forskelle i miRNA-metylering ser i øvrigt ud til at være relateret til vævet og alderen (91).

FREMTIDSPERSPEKTIVER

Resultaterne af denne litteratursøgning viser, at kost, rygning, aldring, bakterier og inflammation påvirker vores sundhedstilstand via epigenetiske mekanismer. Som flere artikler har antydnet, åbner dette mulighed for nye behandlingsformer, der kan modvirke disse forandringer. Det er vigtigt at gøre sig klart,

at histonmodificeringer og DNA-metylering ikke er adskilte reaktioner, men ofte optræder samtidig, og at deres kombinerede virkninger resulterer i unikke cellulære reaktioner. Det er derfor et udfordrende arbejde at udvikle lægemidler, der er målrettede mod specifikke epigenetiske mekanismer. Betegnelsen *epidrugs* omfatter "lægemidler, der hæmmer eller aktiverer sygdomsassocierede epigenetiske proteiner med henblik på at lindre, kurere eller forebygge den pågældende sygdom" (92). Aktuelt er brugen af hæmmere af HDAC eller DNA-metylering som behandlingsmuligheder ved parodontitis og andre orale inflammatoriske sygdomme kun sparsomt udforsket (93). Derimod har man flere undersøgelser vedrørende hæmmere af HDAC-enzymet (dvs. de enzymer, der fjerner acetylgrupper på histonerne og dermed ændrer gentranskriptionen) i behandling af cancer, neurodegenerative tilstande og inflammatoriske lidelser som SLE og RA (94). Af særlig odontologisk interesse kan nævnes, at man har undersøgt brug af HDAC-inhibitorer ved pulpitis, og resultaterne tyder på, at disse inhibitorer i fremtiden kan anvendes som regenerativ behandling af pulpitis (95). Aktuelt er TSA, en HDAC-inhibitor, godkendt som lægemiddel af de amerikanske sundhedsmyndigheder, som også har godkendt HDAC-hæmmeren SAHA til behandling af T-cellelymfom (95).

Muligheden for at bruge levnedsmidler i stedet for epidrugs til behandling af sygdom er besnærende, idet mængden af bivirkninger formentlig ville reduceres betydeligt. Et andet vigtigt aspekt ved den epigenetiske forskning er, at der åbnes mulighed for at udvikle nye diagnostiske metoder, der kan identificere patienter på et tidligt stadie af sygdomsudviklingen, eller allerede inden sygdommen opstår hos personer med sygdomsrisiko. Vi bevæger os dermed i retning af sygdomsforebyggelse og personlig medicin. Ved sygdomme i mundhulen er der flere non-invasive metoder til indsamling af materiale til epigenetisk analyse, fx kindslimhindeskrab, gingivalvæske eller spyt. Anvendelse af sådanne non-invasive teknikker kan danne grundlag for fremtidige kliniske tests til identifikation af risikopatienter.

KONKLUSIONER

Epigenetiske forandringer er reversible og opstår som respons på miljømæssige påvirkninger. Disse forandringer kan finde sted i alle celler i mundhulen og resten af legemet. Såvel opståen af sygdom som opretholdelse af sundhed afhænger af forskellige epigenetiske mekanismer. Denne oversigt viser, at der er store huller i vores viden om epigenetikens betydning for den orale sundhed. Der er behov for flere undersøgelser vedrørende epigenetiske forhold ved sygdomme i mundhulen, hvis vi skal forbedre diagnostik og behandling af maligne tilstande, herunder stille diagnoser på et tidligere tidspunkt end i dag.

TAK

FA har opnået støtte fra the Osteology Research Scholarship (Osteology Foundation, Lucern, Schweiz). Til det aktuelle projekt har FA endvidere modtaget støtte fra Irisstipendiet (Iris Jonzén-Sandblom & Greta Jonzén Foundation, Sverige). ♦ ▶

ABSTRACT (ENGLISH)

EPIGENETICS AND ORAL HEALTH

The immune response is influenced by genetic and epigenetic factors, diseases and environmental factors. Epigenetics refers to alterations in the gene expression that are not encoded in the DNA sequence, which result in the remodelling of the chromatin and activation or inactivation of a gene. Studies indicate that factors, such as bacteria, diet, inflammation, age and smoking, have the potential to affect the oral health by altering the epigenome. The aim of this article was to review the literature on epigenetic modifications with respect

to oral health and inflammatory conditions in the oral cavity. Pertinent citations were identified by electronic searches in four bibliographic databases and included articles up to June 2019. In addition, manual searching of bibliographies was undertaken in already identified papers as well as periodontology related journals. The results of this review show that there is a void in the research on epigenetics in relation to oral health and indicate a need for more studies on how environmental factors can influence gene expression in tissues of the oral cavity through epigenetics.

LITTERATUR

- Wilson AG. Epigenetic regulation of gene expression in the inflammatory response and relevance to common diseases. *J Periodontol* 2008;79(Suppl 8):1514-9.
- Bird A. DNA methylation patterns and epigenetic memory. *Genes Dev* 2002;16:6-21.
- Llena C, Forner L. Dietary habits in a child population in relation to caries experience. *Caries Res* 2008;42:387-93.
- Zhang Y, Sun X, Han X et al. Protective effect of folic acid on vulnerability to oxidative stress in dental pulp stem cells of deciduous teeth from children with orofacial clefts. *Biochem Biophys Res Commun* 2019;516:127-32.
- McKay JA, Mathers JC. Diet induced epigenetic changes and their implications for health. *Acta Physiol* 2011;202:103-18.
- Ducker GS, Rabinowitz JD. One-carbon metabolism in health and disease. *Cell Metab* 2017;25:27-42.
- Rampersaud GC, Kauwell GPA, Bailey LB. Folate: a key to optimizing health and reducing disease risk in the elderly. *J Am Coll Nutr* 2003;22:1-8.
- Wald NJ, Law MR, Morris JK et al. Quantifying the effect of folic acid. *Lancet* 2001;358:2069-73.
- Li H, Wang X, Zhao H et al. Low folate concentration impacts mismatch repair deficiency in neural tube defects. *Epigenomics* 2020;12:5-18.
- Pandey M, Shukla S, Gupta S. Promoter demethylation and chromatin remodeling by green tea polyphenols leads to re-expression of GSTP1 in human prostate cancer cells. *Int J Cancer* 2010;126:2520-33.
- Li Y, Chen H, Hardy TM et al. Epigenetic regulation of multiple tumor-related genes leads to suppression of breast tumorigenesis by dietary genistein. *PLoS One* 2013;8:e54369.
- Myzak MC, Hardin K, Wang R et al. Sulforaphane inhibits histone deacetylase activity in BPH-1, LnCaP and PC-3 prostate epithelial cells. *Carcinogenesis* 2006;27:811-9.
- Sapienza C, Issa JP. Diet, nutrition, and cancer epigenetics. *Annu Rev Nutr* 2016;36:665-81.
- Colacino JA, Arthur AE, Dolinoy DC et al. Pretreatment dietary intake is associated with tumor suppressor DNA methylation in head and neck squamous cell carcinomas. *Epigenetics* 2012;7:883-91.
- Li Y, Buckhaults P, Li S et al. Temporal efficacy of a sulforaphane-based broccoli sprout diet in prevention of breast cancer through modulation of epigenetic mechanisms. *Cancer Prev Res* 2018;11:451-64.
- Meeran SM, Ahmed A, Tollefsbol TO. Epigenetic targets of bioactive dietary components for cancer prevention and therapy. *Clin Epigenetics* 2010;1:101-16.
- Shukla S, Penta D, Mondal P et al. Epigenetics of breast cancer: clinical status of epi-drugs and phytochemicals. *Adv Exp Med Biol* 2019;1152:293-310.
- Rampersaud GC, Kauwell GP, Hutson AD et al. Genomic DNA methylation decreases in response to moderate folate depletion in elderly women. *Am J Clin Nutr* 2000;72:998-1003.
- Torano EG, Garcia MG, Fernandez-Morera JL et al. The impact of external factors on the epigenome: In utero and over lifetime. *Biomed Res Int* 2016;2016:2568635.
- Ferguson LR, Chen H, Collins AR et al. Genomic instability in human cancer: Molecular insights and opportunities for therapeutic attack and prevention through diet and nutrition. *Semin Cancer Biol* 2015;35(Suppl):S5-24.
- Joehanes R, Just AC, Marioni RE et al. Epigenetic signatures of cigarette smoking. *Circ Cardiovasc Genet* 2016;9:436-47.
- Lee J, Taneja V, Vassallo R. Cigarette smoking and inflammation: cellular and molecular mechanisms. *J Dent Res* 2012;91:142-9.
- Kinane DF, Stathopoulou PG, Papananou PN. Periodontal diseases. *Nat Rev Dis Primers* 2017;3:17038.
- Cho YD, Kim PJ, Kim HG et al. Transcriptomics and methylomics in chronic periodontitis with tobacco use: a pilot study. *Clin Epigenetics* 2017;9:81.
- Martinez de JHC, Villafuerte KRV, Luchiani HR et al. Effect of smoking on the DNA methylation pattern of the SOCS1 promoter in epithelial cells from the saliva of patients with chronic periodontitis. *J Periodontol* 2019;90:1279-86.
- Gandini S, Botteri E, Iodice S et al. Tobacco smoking and cancer: a meta-analysis. *Int J Cancer* 2008;122:155-64.
- Wang TH, Hsia SM, Shih YH et al. Association of smoking, alcohol use, and betel quid chewing with epigenetic aberrations in cancers. *Int J Mol Sci* 2017;18:1210.
- Russo D, Merolla F, Varricchio S et al. Epigenetics of oral and oropharyngeal cancers. *Biomed Rep* 2018;9:275-83.
- De Oliveira SRL, Da Silva ICB, Mariz BALA et al. DNA methylation analysis of cancer-related genes in oral epithelial cells of healthy smokers. *Arch Oral Biol* 2015;60:825-33.
- Richter GM, Kruppa J, Munz M et al. A combined epigenome- and transcriptome-wide association study of the oral masticatory mucosa assigns CYP1B1 a central role for epithelial health in smokers. *Clin Epigenetics* 2019;11:105.
- Kaur G, Begum R, Thota S et al. A systematic review of smoking-related epigenetic alterations. *Arch Toxicol* 2019;93:2715-40.
- Lopez-Otin C, Blasco MA, Partridge L et al. The hallmarks of aging. *Cell* 2013;153:1194-217.
- Fraga MF, Ballestar E, Paz MF et al. Epigenetic differences arise during the lifetime of monozygotic twins. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2005;102:10604-9.

34. Heyn H, Li N, Ferreira HJ et al. Distinct DNA methylomes of newborns and centenarians. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2012;109:10522-7.
35. Bormann F, Rodriguez-Paredes M, Hagemann S et al. Reduced DNA methylation patterning and transcriptional connectivity define human skin aging. *Aging Cell* 2016;15:563-71.
36. Pal S, Tyler JK. Epigenetics and aging. *Sci Adv* 2016;2:e1600584.
37. O'Sullivan RJ, Kubicek S, Schreiber SL et al. Reduced histone biosynthesis and chromatin changes arising from a damage signal at telomeres. *Nat Struct Mol Biol* 2010;17:1218-25.
38. Childs BG, Gluscevic M, Baker DJ et al. Senescent cells: an emergent target for diseases of ageing. *Nat Rev Drug Discov* 2017;16:718-35.
39. Cruickshanks HA, McBryan T, Nelson DM et al. Senescent cells harbour features of the cancer epigenome. *Nat Cell Biol* 2013;15:1495-506.
40. Li Y, Zhou G, Bruno IG et al. Transient introduction of human telomerase mRNA improves hallmarks of progeria cells. *Aging Cell* 2019;18:e12979.
41. Bobetsis YA, Barros SP, Lin DM et al. Bacterial infection promotes DNA hypermethylation. *J Dent Res* 2007;86:169-74.
42. Diomedea F, Thangavelu SR, Merciaro I et al. Porphyromonas gingivalis lipopolysaccharide stimulation in human periodontal ligament stem cells: role of epigenetic modifications to the inflammation. *Eur J Histochem* 2017;61:2826.
43. Larsson L, Thorbert-Mros S, Rymo L et al. Influence of epigenetic modifications of the interleukin-10 promoter on IL10 gene expression. *Eur J Oral Sci* 2012;120:14-20.
44. Takai R, Uehara O, Harada F et al. DNA hypermethylation of extracellular matrix-related genes in human periodontal fibroblasts induced by stimulation for a prolonged period with lipopolysaccharide derived from Porphyromonas gingivalis. *J Periodontol Res* 2016;51:508-17.
45. Huang FY, Chan AO, Rashid A et al. Helicobacter pylori induces promoter methylation of E-cadherin via interleukin-1beta activation of nitric oxide production in gastric cancer cells. *Cancer* 2012;118:4969-80.
46. Drury JL, Chung WO. DNA methylation differentially regulates cytokine secretion in gingival epithelia in response to bacterial challenges. *Pathog Dis* 2015;73:1-6.
47. Martins MD, Jiao Y, Larsson L et al. Epigenetic Modifications of Histones in Periodontal Disease. *J Dent Res* 2016;95:215-22.
48. Berglundh T, Donati M, Zitzmann N. B cells in periodontitis: friends or enemies? *Periodontol* 2000 2007;45:51-66.
49. Surace AEA, Hedrich CM. The Role of epigenetics in autoimmune/inflammatory disease. *Front Immunol* 2019;10:1525.
50. Relle M, Weinmann-Menke J, Scorletti E et al. Genetics and novel aspects of therapies in systemic lupus erythematosus. *Autoimmun Rev* 2015;14:1005-18.
51. Hedrich CM. Epigenetics in SLE. *Curr Rheumatol Rep* 2017;19:58.
52. Hu N, Qiu X, Luo Y et al. Abnormal histone modification patterns in lupus CD4+ T cells. *J Rheumatol* 2008;35:804-10.
53. McInnes IB, Schett G. The pathogenesis of rheumatoid arthritis. *N Engl J Med* 2011;365:2205-19.
54. Liu Y, Aryee MJ, Padyukov L et al. Epigenome-wide association data implicate DNA methylation as an intermediary of genetic risk in rheumatoid arthritis. *Nat Biotechnol* 2013;31:142-7.
55. Han J, Park SG, Bae JB et al. The characteristics of genome-wide DNA methylation in naive CD4+ T cells of patients with psoriasis or atopic dermatitis. *Biochem Biophys Res Commun* 2012;422:157-63.
56. Bolstad AI, Skarstein K. Epidemiology of Sjogren's Syndrome-from an oral perspective. *Curr Oral Health Rep* 2016;3:328-36.
57. Altorok N, Coit P, Hughes T et al. Genome-wide DNA methylation patterns in naive CD4+ T cells from patients with primary Sjogren's syndrome. *Arthritis Rheumatol* 2014;66:731-9.
58. Kornman KS. Mapping the pathogenesis of periodontitis: a new look. *J Periodontol* 2008;79(Suppl 8):1560-8.
59. Benakanakere M, Abdolhosseini M, Hosur K et al. TLR2 promoter hypermethylation creates innate immune dysbiosis. *J Dent Res* 2015;94:183-91.
60. Larsson L, Thorbert-Mros S, Lopez-Lago A et al. Expression of TET2 enzyme indicates enhanced epigenetic modification of cells in periodontitis. *Eur J Oral Sci* 2016;124:329-33.
61. De Oliveira NFP, Andia DC, Planello AC et al. TLR2 and TLR4 gene promoter methylation status during chronic periodontitis. *J Clin Periodontol* 2011;38:975-83.
62. Dev A, Iyer S, Razani B et al. NF-kappaB and innate immunity. *Curr Top Microbiol Immunol* 2011;349:115-43.
63. Abu-Amer Y. NF-kappaB signaling and bone resorption. *Osteoporos Int* 2013;24:2377-86.
64. Kearney M, Cooper PR, Smith AJ et al. Epigenetic approaches to the treatment of dental pulp inflammation and repair: Opportunities and Obstacles. *Front Genet* 2018;9:311
65. Hui T, Wang C, Chen D et al. Epigenetic regulation in dental pulp inflammation. *Oral Dis* 2017;23:22-8.
66. Segal T, Salmon-Divon M, Gerlitz G. The heterochromatin landscape in migrating cells and the importance of H3K27me3 for associated transcriptome alterations. *Cells* 2018;7:205.
67. Larsson L, Rymo L, Berglundh T. Sp1 binds to the G allele of the 1087 polymorphism in the IL-10 promoter and promotes IL-10 mRNA transcription and protein production. *Genes Immun* 2010;11:181-7.
68. Zhao M, Tang J, Gao F et al. Hypomethylation of IL10 and IL13 promoters in CD4+ T cells of patients with systemic lupus erythematosus. *J Biomed Biotechnol* 2010;2010:931018.
69. Mi XB, Zeng FQ. Hypomethylation of interleukin-4 and -6 promoters in T cells from systemic lupus erythematosus patients. *Acta Pharmacol Sin* 2008;29:105-12.
70. Imgenberg-Kreuz J, Sandling JK, Almlöf JC et al. Genome-wide DNA methylation analysis in multiple tissues in primary Sjogren's syndrome reveals regulatory effects at interferon-induced genes. *Ann Rheum Dis* 2016;75:2029-36.
71. Filipowicz W, Bhattacharyya SN, Sonenberg N. Mechanisms of post-transcriptional regulation by microRNAs: are the answers in sight? *Nat Rev Genet* 2008;9:102-14.
72. Reale M, D'Angelo C, Costantini E et al. MicroRNA in Sjogren's Syndrome: Their potential roles in pathogenesis and diagnosis. *J Immunol Res* 2018;2018:7510174.
73. Asa'ad F, Monje A, Larsson L. Role of epigenetics in alveolar bone resorption and regeneration around periodontal and peri-implantitis tissues. *Eur J Oral Sci* 2019;127:477-93.
74. Kramer IR, Lucas RB, Pindborg JJ et al. Definition of leukoplakia and related lesions: an aid to studies on oral precancer. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1978;46:518-39.
75. Olson MA, Rogers RS, Bruce AJ. Oral lichen planus. *Clin Dermatol* 2016;34:495-504.
76. Crincoli V, Di Bisceglie MB, Scivetti M et al. Oral lichen planus: update on etiopathogenesis, diagnosis and treatment. *Immunopharmacol Immunotoxicol* 2011;33:11-20.
77. Piyathilake CJ, Bell WC, Jones J et al. Pattern of nonspecific (or global) DNA methylation in oral carcinogenesis. *Head Neck* 2005;27:1061-7.
78. Jithesh PV, Risk JM, Schache AG et al. The epigenetic landscape of oral squamous cell carcinoma. *Br J Cancer* 2013;108:370-9.
79. Morandi L, Gissi D, Tarsitano A et al. CpG location and methylation level are crucial factors for the early detection of oral squamous cell carcinoma in brushing samples using bisulfite sequencing of a 13-gene panel. *Clin Epigenetics* 2017;9:85.
80. Jawert F, Hasseur B, Kjeller G et al. Loss of 5-hydroxymethylcytosine and TET2 in oral squamous cell carcinoma. *Anticancer Res* 2013;33:4325-8.
81. Bediaga NG, Marichalar-Mendia X, Aguirre-Urizar JM et al. Global DNA methylation: uncommon event in oral lichenoid disease. *Oral Dis* 2014;20:821-6.
82. Németh CG, Röcken C, Siebert R et al. Recurrent chromosomal and epigenetic alterations in oral squamous cell carcinoma and its putative premalignant condition oral lichen planus. *PLoS One* 2019;14:e0215055.
83. Abe M, Yamashita S, Mori Y et al. High-risk oral leukoplakia is associated with aberrant promoter methylation of multiple genes. *BMC Cancer* 2016;16:350.
84. Dillenburger CS, Martins MA, Almeida LO et al. Epigenetic modifications and accumulation of DNA double-strand breaks in Oral Lichen Planus lesions presenting poor response to therapy. *Medicine (Baltimore)* 2015;94:e997.
85. Shen J, Yin C, Jiang X et al. Aberrant histone modification and inflammatory cytokine production of peripheral CD4+ T cells in patients with oral lichen planus. *J Oral Pathol Med* 2019;48:136-42. ▶

- 86.** Webber LP, Wagner VP, Curra M et al. Hypoacetylation of acetyl-histone H3 (H3K9ac) as marker of poor prognosis in oral cancer. *Histopathology* 2017;71:278-86.
- 87.** Zhang WY, Liu W, Zhou YM et al. Altered microRNA expression profile with miR-27b down-regulation correlated with disease activity of oral lichen planus. *Oral Dis* 2012;18:265-70.
- 88.** Danielsson K, Wahlin YB, Gu X et al. Altered expression of miR-21, miR-125b, and miR-203 indicates a role for these microRNAs in oral lichen planus. *J Oral Pathol Med* 2012;41:90-5.
- 89.** Arao TC, Guimaraes AL, de Paula AM et al. Increased miRNA-146a and miRNA-155 expressions in oral lichen planus. *Arch Dermatol Res* 2012;304:371-5.
- 90.** Morandi L, Gissi D, Tarsitano A et al. DNA methylation analysis by bisulfite next-generation sequencing for early detection of oral squamous cell carcinoma and high-grade squamous intraepithelial lesion from oral brushing. *J Craniomaxillofac Surg* 2015;43:1494-500.
- 91.** Dang J, Bian YQ, Sun JY et al. MicroRNA-137 promoter methylation in oral lichen planus and oral squamous cell carcinoma. *J Oral Pathol Med* 2013;42:315-21.
- 92.** Ivanov M, Barragan I, Ingelman-Sundberg M. Epigenetic mechanisms of importance for drug treatment. *Trends Pharmacol Sci* 2014;35:384-96.
- 93.** Larsson L, Castilho RM, Giannobile WV. Epigenetics and its role in periodontal diseases: a state-of-the-art review. *J Periodontol* 2015;86:556-68.
- 94.** Mau T, Yung R. Potential of epigenetic therapies in non-cancerous conditions. *Front Genet* 2014;5:438.
- 95.** Duncan HF, Smith AJ, Fleming GJ et al. Epigenetic modulation of dental pulp stem cells: implications for regenerative endodontics. *Int Endod J* 2016;49:431-46.