

ESTUDO DA ASSOCIAÇÃO ENTRE SÍNDROME DA ARDÊNCIA BUCAL E POLIMORFISMOS NOS GENES p53, 5-HT2A e IL-1 β

**RODRIGUES, LUIZA PAULSEN¹; NEDEL, FERNANDA²; TARQUINIO, SANDRA
 BEATRIZ CHAVES²; DA SILVA, ADRIANA FERNANDES³**

¹ Graduação em Biotecnologia, Universidade Federal de Pelotas – luizapaulsen@gmail.com

² Faculdade de Odontologia, Universidade Federal de Pelotas – fernanda.nedel@gmail.com;
 sbtarquinio@gmail.com;

³ Faculdade de Odontologia, Universidade Federal de Pelotas – adrisilvapilva@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

A Síndrome de Ardência Bucal (SAB) é uma condição crônica oral caracterizada por uma sensação de desconforto, evidenciada principalmente pela queixa de ardência constante na mucosa bucal quando esta se encontra clinicamente normal, apresentando sintomatologia característica de reações inflamatórias (GUIMARÃES *et al*, 2006). Essa sensação de ardência, em alguns pacientes, pode também ser descrita em outras regiões do corpo, como nas mucosas de revestimento intestinal e urogenital (THOPPAY *et al*, 2013).

A SAB afeta principalmente mulheres no período de pós-menopausa entre 50 e 70 anos, tendo prevalência de 7% a 4,5% maior em mulheres que em homens. A etiopatologia desta síndrome pode ser dividida em local, sistêmica e psicológica, fazendo desta uma síndrome multifatorial. (GUIMARÃES *et al*, 2006; THOPPAY *et al*, 2013). Entre os fatores locais destaca-se o ato de fumar, o uso de álcool e ação de bactérias e fungos como maiores causas (SHIP *et al*, 1995). Em relação a fatores sistêmicos tem-se associado a diabetes, deficiências nutricionais e alterações hormonais como principais fatores (MERMAUM *et al*, 2009). Já os fatores psicológicos, autores consideram stress, ansiedade e depressão como possíveis causadores da SAB (SPANEMBERG *et al*, 2012; ABETS *et al*, 2009).

Atualmente ferramentas da genética molecular possibilitam a caracterização do genoma humano e alterações neste que podem estar relacionadas com doenças, entre estas ferramentas há os Polimorfismos de Nucleotídeo Único (SNP).

A proteína p53 exerce um importante papel na resposta ao estresse celular, esta proteína possui função protetora, agindo como um fator de transcrição. Além disso, correlaciona-se a ação da proteína p53 como um regulador negativo da inflamação (GUDKOV & KOMAROVA, 2010). O polimorfismo no códon 72 deste gene apresenta uma sequência CCC, codificando para o aminoácido Prolina (Pro) ou a sequência CGC, codificando para o aminoácido Arginina (Arg), podendo assim apresentar três genótipos distintos: homocigoto para Arginina (Arg/Arg), homocigoto para Prolina (Pro/Pro) e heterocigoto (Arg/Pro) (JOHNSON & NAKAMURA, 2007).

A família interleucina 1 inclui a IL-1A, IL-1B e IL-1 ARI, é uma citocina inflamatória que é envolvida nos processos inflamatórios (GUIMARAES *et al*, 2006). Um estudo realizado por GUIMARÃES *et al*. (2006) evidenciou a associação entre a SAB e a presença de SNPs na Interleucina-1 β (IL-1 β). Esse estudo também demonstrou que pacientes com SAB apresentam níveis

sanguíneos elevados de IL-1 β , demonstrando a relação entre os polimorfismos encontrados e a alta produção desta molécula. Essa síntese elevada vem sendo associada à condição psicológica de depressão em pacientes portadores da SAB.

A serotonina (5-HT_{2A}) é um neurotransmissor responsável pela regulação de diversos processos fisiológicos, como emoção, percepção e humor (BERGER *et al.*, 2009). O polimorfismo no receptor pós-sináptico da serotonina (T102C) é caracterizado pela substituição de timina por citosina, levando a alterações na expressão gênica, onde indivíduos com genótipo C/C possuem menores níveis do receptor de 5-HT_{2A} (WHITE, *et al.* 2011).

Assim, o presente estudo tem como objetivo avaliar as variantes polimórficas do gene com diretrizes para resposta inflamatória: IL-1B (+3953 C/T), bem como a variante polimórfica do gene 5-HT_{2A} (102 T/C) do complexo serotoninérgico e as variações polimórficas do gene p53 e suas associações com a síndrome de ardência bucal.

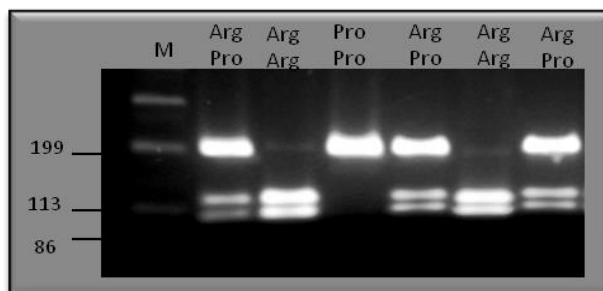
2. METODOLOGIA

3.1 Coleta de amostras: Os pacientes foram divididos em dois grupos. O grupo teste constituído por 42 pacientes portadores da SAB e o grupo controle constituído por 39 indivíduos sem nenhuma evidência clínica desta síndrome, não-fumantes e livres de doença imunossupressora, sendo os mesmos pareados de acordo com a faixa-etária e sexo com o grupo de casos. Estes pacientes foram recrutados do Centro de Diagnostico das Doenças Bucais (CDDDB) da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Pelotas. Todos os indivíduos participantes foram submetidos a um questionário a fim de obter informações a respeito de fatores locais, sistêmicos e psicológicos que poderão estar envolvidos com a síndrome de ardência bucal.

3.2 Obtenção do DNA: As amostras foram obtidas de células epiteliais da mucosa bucal, a partir de escovas citológicas estéreis. Em sequência estas células foram submetidas a lise celular em um tubo de microcentrifuga e foram então processadas através do Kit para Extração de DNA de Células Bucais da PUREGENE™ (Gentra Systems, Inc., Minneapolis, MN). Posteriormente, estas amostras de DNA foram acondicionadas em ultra-freezer a -80°C até o momento em que serão realizadas as análises moleculares.

3.3 Genotipagem dos polimorfismos do códon 72 do gene da p53, do gene IL-1 β (+3954) e do T102C do gene 5HT2A através de PCR-RFLP: A genotipagem dos polimorfismos do códon 72 do gene da p53, do gene IL-1 β (+3954) e do T102C do gene 5HT_{2A} foi realizada através da técnica de PCR. Os fragmentos contendo os polimorfismos foram amplificados utilizando *primers* já descritos na literatura. As porções genômicas amplificadas possuem sítios de clivagem para as enzima *Bst*UI (códon 72 do gene da p53), *Taq*I (gene IL-1 β (+3954)) e *Msp*I (T102C do gene 5HT_{2A}), os quais irão gerar fragmentos para a determinação dos genótipos. A Figura 1 traz uma exemplificação da forma com os fragmentos se apresentam no gel de agarose após a clivagem com a enzima *Bst*UI.

Figura 1 – Fragmentos do polimorfismo códon 72 obtidos com a RFLP obtidos com a RFLP e seus respectivos genótipos no gel de eletroforese.



3.4 Análises dos dados: Diferenças estatísticas significativas entre os grupos de casos e controles distribuídos por genótipos foram determinado utilizando o chi-quadrado. As análises estatística foi realizada utilizando o software SigmaStat 3.5 (Systat Software, Inc., CA, USA).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

As análises realizadas no presente estudo não evidenciaram uma correlação estatisticamente significativa (Tabela 1, 2 e 3) entre a SAB e os polimorfismos do códon 72 do gene da p53 ($p=0.493$), do gene IL-1 β (+3954) ($p=0.914$) e do T102C do gene 5HT2A ($p=0.654$). Contrastando com o único estudo realizado na área (GUIMARÃES *et al.*, 2006) que evidenciou a associação entre a SAB e a presença de SNPs na Interleucina-1 β (IL-1 β).

Tabela 1 – Distribuição dos genótipos (%) do polimorfismo do códon 72 do gene p53 em pacientes com e sem a SAB.

Genótipos do polimorfismo do gene p53 códon 72					
	Casos (n = 42)		Controles (n = 39)		p
		(%)		(%)	
Arg/Arg	23	(54.76)	17	(43.59)	0.493
Arg/Pro	13	(30.96)	17	(43.59)	
Pro/Pro	6	(14.28)	5	(12.82)	

*P=0.05 pelo teste X²

Tabela 2 – Distribuição dos genótipos (%) do polimorfismo do gene IL-1 β (+3954) em pacientes com e sem a SAB.

Genótipos do polimorfismo do gene IL-1β (+3954)					
	Casos (n = 41)		Controles (n = 39)		p
		(%)		(%)	
C/C	21	(51.22)	21	(53.85)	0.914
T/C	17	(41.46)	16	(41.03)	
T/T	3	(7.32)	2	(5.13)	

*P=0.05 pelo teste X²

Tabela 3 – Distribuição dos genótipos (%) polimorfismo do T102C do gene 5HT2A em pacientes com e sem a SAB.

Genótipos do polimorfismo T102C do gene 5HT2A					
	Casos (n = 41)		Controles (n = 39)		p
		(%)		(%)	
C/C	17	(41.46)	14	(35.90)	

T/C	16	(39.02)	14	(35.90)	
T/T	8	(19.51)	11	(28.21)	0.654

P=0.05 pelo teste X²

4. CONCLUSÕES

Os polimorfismos do códon 72 do gene da p53, do gene IL-1 β (+3954) e do T102C do gene 5HT2A parecem não estar diretamente correlacionados com a SAB. Contudo, a realização de mais pesquisas acerca de fatores genéticos relacionados a essa doença são necessárias, tendo em vista a necessidade de elucidar e compreender melhor a etiopatogenia desta síndrome.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABETZ, M; SAVAGE, W. Burning mouth syndrome and psychological disorders. **Aust Dent J**, Australia, v. 54, p. 84-93, 2009

GUDKOV A.; KOMAROVA Elena; Pathologies associated with the p53 response. **Cold Spring Harb Perspect Biol**, Estados Unidos da América, v. 2, 2010.

GUIMARAES, A; *et al.* Interleukin-1B and serotonin transporter gene polymorphisms in burning mouth syndrome patients. **The Journal of Pain**, Brasil v.7, n.9, p.654-658, 2006.

GUIMARAES, A; *et al.* Association of interleukin-1b polymorphism with recurrent aphthous stomatitis in Brazilian individuals. **Oral Dis.**, Brasil, v. 12, p. 580-583, 2006.

JAKUBCZYK, A.; *et al.* The CC genotype in HTR2A T102C polymorphism is associated with behavioral impulsivity in alcohol-dependent patients. **Journal of Psychiatric Research**, Polônia, v.46, p.44-49, 2012.

JOHNSON L; NAKAMURA K. The c-jun kinase/stress-activated pathway: regulation, function and role in human disease. **Biochim Biophys Acta**, Estados Unidos da América, v. 8, p. 1773-1341, 2007.

THOPPAY J.; *et al.* Burning mouth syndrome. **Dent Clin N Am**, Estados Unidos da América v. 57, p. 497-512, 2013.

SHIP A.; *et al.* Burning mouth syndrome: and update. **J Am Dent Assoc**, Estados Unidos da América, v. 126, p. 842-853, 1995.

SPANEMBERG, J.; *et al.*, Aetiology and therapeutics of burning mouth syndrome: an update. **Gerodontology**, Brasil, v. 29, p. 84-89, 2012.

WHITE, M.; *et al.* Cigarette smoking in young adults: The influence of the HTR2A T102C polymorphism and punishment sensitivity. **Drug and Alcohol Dependence**, Australia, v.114, p.140-146, 2011.