

ANÁLISE DO POLIMORFISMO DO CÓDON 72 (Arg72Pro) DO GENE DA P53 EM PACIENTES COM SÍNDROME DA ARDÊNCIA BUCAL

RODRIGUES, Fernanda Martins¹; NEDEL, Fernanda¹; TARQUINIO, Sandra Beatriz Chaves²; DA SILVA, Adriana Fernandes²; SEIXAS, Fabiana Kömmling¹

¹Grupo de Oncologia Celular e Molecular, Laboratório de Genômica Funcional, Centro de Desenvolvimento Tecnológico (CDTec), Universidade Federal de Pelotas

²Faculdade de Odontologia, Universidade Federal de Pelotas
mrodrigues.fernanda@gmail.com

1 INTRODUÇÃO

A Síndrome da Ardência Bucal (SAB), também chamada glossodinia, glossopirose, estomatodinia e, entre outros termos, disestesia bucal, consiste em uma síndrome de dor crônica que afeta, principalmente, mulheres no período pós-menopausa. Essa síndrome tem uma prevalência de 7% a 4,6%, sendo sete vezes mais comum em mulheres do que em homens (Guimarães *et al.*, 2006; Lamey *et al.*, 2005). É uma doença complexa que engloba todas as sensações de ardência na mucosa bucal quando esta se encontra clinicamente normal, apresentando sintomatologia característica de reações inflamatórias (Guimarães *et al.*, 2006; Cavalcanti *et al.*, 2007). Essa sensação de ardor também pode ser descrita por alguns pacientes em outras regiões do corpo, como nas mucosas de revestimento intestinal e urogenital (Lamey *et al.*, 2005).

Apesar de sua etiologia desconhecida, alguns fatores têm sido relacionados a esta síndrome, como infecções causadas por candida ou algumas bactérias inespecíficas, xerostomia, alteração do paladar, hipogeusia, fatores hormonais e nutricionais e, além disso, condições psicogênicas, como cancerofobia, ansiedade, estresse e depressão, sendo esta síndrome apresentada como psicossomática por uma série de estudos (Guimarães *et al.*, 2006; Lamey *et al.*, 2005; Matsuoka *et al.*, 2010; Miziara *et al.*, 2009). Ainda, baseado em estudos recentes e evidências clínicas, tem sido sugerido um possível papel para a inflamação neurogênica na patogênese da SAB (Guarneri *et al.*, 2008).

A p53 consiste em uma proteína de 53kd e 393 aminoácidos codificada pelo gene TP53, o qual localiza-se no cromossomo 17p13.1 e possui 11 exons e 20kb. Este gene, além de exercer um importante papel na resposta ao estresse celular, reagindo a uma variedade de insultos, como a hipóxia, danos ao DNA, estresse metabólico e atividade de oncogenes, exerce a sua função protetora, atuando como um fator de transcrição. Ainda, estudos recentes têm evidenciado a atuação da proteína p53 como um regulador negativo da inflamação (Gudkov e Komarova, 2010).

As ferramentas da genética molecular disponíveis atualmente permitem a caracterização da fonte mais abundante de variação genética no genoma humano, a qual compreende os Polimorfismos de Nucleotídeo Único (SNP). A associação de SNPs com fenótipos de doenças humanas tem demonstrado grande potencial para aplicações clínicas diretas, fornecendo novos e mais precisos marcadores genéticos para fins de diagnóstico, prognóstico e, possivelmente, novos alvos terapêuticos (Havill e Dyer 2005; Suh e Vijg 2005). O polimorfismo no códon 72 (Arg72Pro) do gene TP53 consiste em um importante e mais estudado SNP relacionado a este gene. O códon 72 pertence ao exon 4 e apresenta a sequência CCC, a qual codifica

uma Prolina (Pro), ou a sequência CGC, que codifica uma Arginina (Arg), sendo possível a formação de três genótipos distintos: homozigoto para Arginina (Arg/Arg), homozigoto para Prolina (Pro/Pro) e heterozigoto (Arg/Pro) (Johnson e Nakamura, 2007).

Assim, o presente estudo teve por objetivo verificar a frequência e o perfil dos genótipos do polimorfismo do códon 72 do gene da p53 em pacientes com a Síndrome da Ardência Bucal.

2 METODOLOGIA (MATERIAL E MÉTODOS)

População Alvo: Compreendeu os usuários do Centro de Diagnóstico das Doenças Bucais (CDDB) da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Pelotas. O presente estudo teve duas amostras: um grupo teste, constituído por 42 pacientes portadores da Síndrome da Ardência Bucal, e um grupo controle, constituído por 39 pessoas sem nenhuma evidência clínica dessa síndrome. A partir de uma listagem de diagnóstico do CDDB, foram selecionados os pacientes do grupo teste. Os procedimentos de diagnóstico realizados no CDDB basearam-se na avaliação clínica. Para o grupo controle foram selecionados pacientes situados na mesma faixa etária, não fumantes, e não portadores de doenças imunodepressoras. Todos os voluntários assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido anterior a qualquer procedimento. O presente estudo foi aprovado pelo comitê de ética da Faculdade de Odontologia (UFPel).

Obtenção do DNA Genômico: As amostras foram coletadas utilizando escovas citológicas descartáveis, onde as mesmas foram friccionadas a mucosa jugal por aproximadamente 30 segundos. Após a coleta, as escovas citológicas foram imediatamente introduzidas em um tubo de microcentrífuga contendo solução de lise celular e processadas segundo instruções do fabricante (Puregene DNA Tissue Kits - Gentra Systems, Inc., Minneapolis, Minnesota).

Genotipagem do polimorfismo do códon 72 do gene da p53 através de PCR-RFLP: A genotipagem do polimorfismo do códon 72 localizado no exon 4 do gene da p53 foi realizada através da técnica de PCR. O fragmento contendo o polimorfismo do códon 72 foi amplificado utilizando *primers* do exon 4 e clivado com a enzima *Bst*UI, a qual gerou fragmentos para a determinação dos genótipos (Fig. 1).

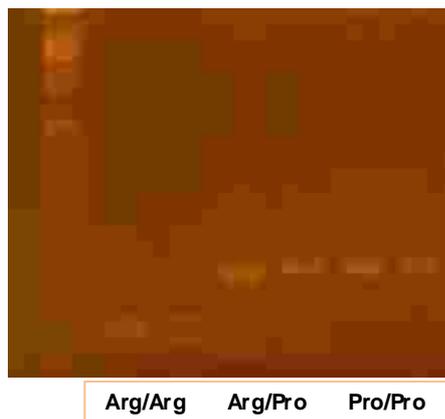


Figura 1 – Fragmentos do polimorfismo do códon 72 obtidos com a RFLP e seus respectivos genótipos.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A etiopatogênese da SAB tem gerado muitas controvérsias na literatura. Até o momento, poucos estudos foram realizados com o intuito de investigar fatores genéticos associados a portadores dessa síndrome. Um estudo realizado por Guimarães *et al.* (2006) evidenciou a associação entre a SAB e a presença de SNPs na Interleucina-1 (IL-1), uma citosina pró-inflamatória que exerce importante papel em uma série de doenças crônicas. Esse estudo também demonstrou que pacientes com SAB apresentam níveis sanguíneos elevados de IL-1, 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 IL-1, juntamente com estímulos mediados por estresse e outras citosinas, é responsável pela ativação de uma via de inflamação chamada c-Jun N-terminal quinase (JNK), a qual apresenta um importante papel no desenvolvimento e manutenção da dor crônica (Johnson e Nakamura, 2007). Entre os substratos nucleares utilizados nesta via, tem-se uma série de fatores de transcrição, como a proteína p53. A fosforilação destes substratos pode modular suas atividades de forma negativa ou positiva. Com relação à p53, a fosforilação pela via JNK aumenta sua atividade transcricional e, subseqüentemente, induz a expressão gênica (Gao e Ji, 2008).

Apesar da relevância da proteína p53 na via de inflamação supracitada, no presente estudo não foram encontradas diferenças estatísticas significativas ($p=0,493$) entre os três possíveis genótipos do códon 72 do gene da p53 no grupo controle e no grupo portador da SAB. Ainda, não foi verificada uma diferença estatística significativa entre a frequência dos alelos Pro ($p=0,377$) e Arg ($p=1,0$) entre o grupo controle e os casos de SAB (Tab. 1).

Tabela 1 - Distribuição dos genótipos e frequência dos alelos (%) em pacientes com e sem a síndrome da ardência bucal.

Genótipos do códon 72 do gene da p53	Casos (n=42)		Controles (n=39)		P
	Número	(%)	Número	(%)	
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)	
Frequência do alelo Prolina	19	(46.34)	22	(53.66)	0.377
Frequência do alelo Arginina	36	(51.43)	34	(48.57)	1.0

4 CONCLUSÃO

Apesar do presente estudo não ter demonstrado nenhuma associação entre o SNP analisado e a Síndrome da Ardência Bucal, 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

CAVALCANTI, Desirée Rosa *et al.* Burning Mouth Syndrome: Clinical Profile of Brazilian Patients and Oral Carriage of *Candida* Species. **Braz. Dent. J.**, v. 18, n. 4, p. 341 - 345, 2007.

GAITONDE, Puneet *et al.* Burning mouth syndrome and vulvodynia coexisting in the same patient: a case report. **Dent Update**, v. 29, n. 2, 2002.

GUARNERI, Fabrizio *et al.* Contribution of neuroinflammation in burning mouth syndrome: indications from benzodiazepine use. **Derma Thera**, v. 21, 2008.

GUIMARÃES, André Luiz Sena *et al.* Interleukin-1 and Serotonin Transporter Gene Polymorphisms in Burning Mouth Syndrome Patients. **The Journal of Pain**, Elsevier, v. 7, n. 9, p. 654 - 658, 2006.

GUDKOV, Andrei V. e KOMAROVA, Elena A. Pathologies Associated with the p53 Response. **Cold Spring Harb Perspect Biol**, 2002.

HAVILL, Lorena M. e DYER, Thomas D. Association mapping: methodologies, strategies and issues. **Genetic Epidemiology**, v. 29, n. 1, p. 77 - 85, 2005.

LAMEY, Philip-John *et al.* Vulnerability and presenting symptoms in burning mouth syndrome. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod**, Elsevier, v. 99, n. 1, p. 48 - 54, 2005.

MATSUOKA, Hirofumi *et al.* Cognitive profile of patients with burning mouth syndrome in the Japanese population. **Odontology**, v. 98, p. 160 - 164, 2010.

MIZIARA, Ivan Dieb *et al.* Group psychotherapy: Na additional approach to burning mouth syndrome. **Journal of Psychosomatic Research**, Elsevier, v. 67, p. 443 - 448, 2009.

SUH, Yousin e VIJG, Jan. SNP discovery in associating genetic variation with human disease phenotypes. **Mutat. Res.**, Elsevier, v. 573, n. 1-2, p. 41 - 53, 2005.