

Determinação fenotípica das haptoglobinas em pacientes com dor crônica causada por desordens temporomandibulares

Haptoglobin phenotypic determination in patients with chronic pain caused by temporomandibular disorders

Norberto Perri Moraes*
Maria Margareth Theodoro Caminhas**
João Paulo De Carli***
Soluete Oliveira da Silva****
Maria Salete Sandini Linden*****
Micheline Sandini Trentin*****
Rejane Eliete Luz Pedro*****

Resumo

Os fenótipos do sistema hemoglobina-haptoglobina (Hb-Hp) foram determinados em 124 indivíduos, dos quais cem eram pacientes portadores de algia crônica por desordens temporomandibulares (DTMs) e 24 normais, sem nenhuma dor corporal, durante os anos de 2000-2003. O sistema Hb-Hp apresentou polimorfismo Hp1-1, Hp2-1 e Hp2-2, respectivamente, em 100 e 85%, e anahaptoglobinemia (Hp 0) em 15% da amostra estudada. O genótipo Hp1-1 esteve presente significativamente ($p < 0,0001$) em pacientes com DTMs, independentemente do tipo clínico da DTM diagnosticada, podendo sugerir a Hp1-1 como provável marcador genético de suscetibilidade para o desenvolvimento de algias crônicas por DTMs.

Palavras-chave: Articulação temporomandibular. Dor. Haptoglobina. Polimorfismo genético.

Introdução

Na associação entre doenças e genética destaca-se o estudo eletroforético do polimorfismo genético bioquímico do sistema hemoglobina-haptoglobina associado à suscetibilidade a infecções, inflamações e neoplasias, além de ser um método laboratorial de baixo custo¹⁻⁶.

A haptoglobina é uma proteína ligada à hemoglobina (sistema Hb-Hp) que apresenta propriedades antioxidantes e imunomodulatórias⁷⁻⁹. A função principal da haptoglobina é impedir a perda da hemoglobina em nível renal por meio da formação do sistema Hb-Hp, que é estruturalmente estável e de grande tamanho, portanto não atravessa a membrana glomerular¹. O sistema Hb-Hp, sendo estável e estando presente dessa forma na circulação sanguínea, permite o estudo bioquímico dos seus níveis séricos em diferentes abordagens de pesquisa, incluindo os estudos genéticos. No homem existe o polimorfismo genético da cadeia alfa com três principais genótipos: Hp1-1, Hp1-2 e Hp2-2¹, determinados por dois genes codominantes, Hp1 e Hp2, localizados no cromossomo 16q22^{10,11}.

* Professor Titular do Departamento de Patologia e Propedêutica Clínica, disciplina de Estomatologia – Faculdade de Odontologia de Araçatuba/SP/Unesp.
** Professora Assistente Doutora de Genética Animal do Departamento de Apoio, Produção e Saúde Animal – Faculdade de Medicina Veterinária de Araçatuba/SP/Unesp.
*** Mestre em Estomatologia pela Unesp de Araçatuba - SP, aluno do curso de doutorado em Estomatologia pela PUCPR e professor Assistente da Faculdade de Odontologia da UPF.
**** Doutora em Estomatologia Clínica pela PUCRS, professora Titular da Faculdade de Odontologia da UPF.
***** Doutora em Implantodontia pela SL Mandic/Campinas/SP, professora Titular da Faculdade de Odontologia da UPF.
***** Doutora em Periodontia pela Unesp de Araraquara - SP, professora Adjunta da Faculdade de Odontologia da UPF.
***** Mestra e aluna do curso de doutorado em Gerontologia da PUCRS.

Na região bucofacial, enfermidades desenvolvem dor crônica ou persistente durante três a seis meses¹²⁻¹⁴. Dentre as dores crônicas da região bucofacial, as desordens temporomandibulares (DTMs) são motivo de queixa de grande número de pacientes no consultório odontológico¹⁵⁻¹⁸. Foi constatado que 6% da população civil americana (10,8 milhões de pessoas) apresentaram dores na região da articulação temporomandibular (ATM) ou na face/botoca nos últimos seis meses, sintomas que estavam comumente associados às DTMs¹⁹.

É propósito deste trabalho estudar a possível base genética no desenvolvimento das DTMs por meio do estudo genético-bioquímico eletroforético da haptoglobina de pacientes acometidos por algia crônica ocasionada por desordens temporomandibulares. Dessa forma, este trabalho caracterizou o padrão eletroforético do complexo hemoglobina-haptoglobina em pacientes com algia crônica por DTMs e em indivíduos normais, sem nenhuma dor corporal; além disso, pesquisou possíveis associações entre o polimorfismo do complexo hemoglobina-haptoglobina e a algia crônica por DTMs.

Sujeitos e método

O presente trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Odontologia de Araçatuba (protocolo nº 2007-00151).

Foram coletados, em seringas heparinizadas, 0,5 mL de sangue total venoso de 124 indivíduos

adultos, selecionados aleatoriamente quanto a gênero, idade e raça. Esses foram divididos em: Grupo I - 100 indivíduos portadores de algia crônica por DTMs, registrados no Serviço de Dor Orofacial do Centro de Oncologia Bucal (COB) e na Clínica de Estomatologia da Faculdade de Odontologia de Araçatuba/Unesp; Grupo II - 24 indivíduos voluntários, formado por alunos e docentes da Unesp/Campus de Botucatu, sem nenhuma dor corporal.

O diagnóstico das DTMs baseou-se principalmente na análise conjunta dos dados da história da doença, sinais e sintomas, além dos achados dos exames radiográficos de rotina^{12,14,17,20}.

A determinação dos fenótipos do sistema Hb-Hp foi feita no Laboratório de Genética da Faculdade de Medicina Veterinária da FOA/Unesp por meio de eletroforese horizontal¹, modificando o meio suporte para ágar-amido²¹.

Resultados e discussão

O estudo clínico revelou como resultado de maior significado os seguintes tipos clínicos diagnosticados de DTMs: artralgia (sinovite, capsulite, retrodiscite), em 94% dos casos; artralgia associada a deslocamento do disco sem redução e desordem miofacial, em 25% dos casos; artralgia associada ao deslocamento do disco sem redução, desordem miofacial e desordem espinocervical, em 20% dos casos (Fig. 1).

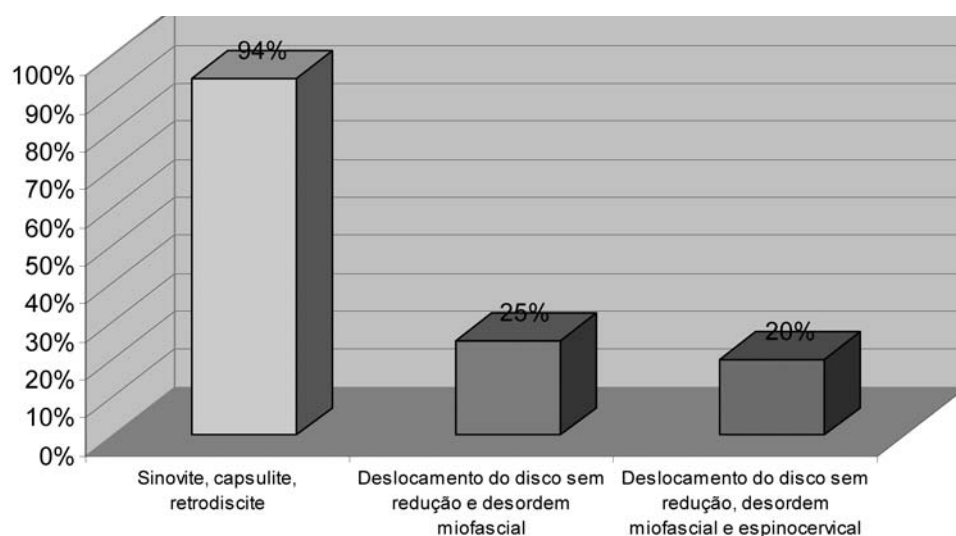


Figura 1 - Tipos de desordens temporomandibulares constatadas no estudo clínico realizado

Os resultados do estudo laboratorial do polimorfismo genético bioquímico do sistema hemoglobina-haptoglobina demonstraram que o genótipo HbA-A esteve presente em 95,96% da amostra e o genótipo HbA-B, em 4,04% (Fig. 2); o genótipo Hp1-1 esteve presente significativamente ($p < 0,0001$) em 85,48% da amostra e em 100% dos pacientes estudados, independentemente do tipo clínico da DTM diagnosticada. O gene Hp1 prevaleceu nas mulheres (77 casos no gênero feminino e 8 no masculino) e na raça branca (69 casos). A anahaptoglobinemia (Hp0) foi detectada em 14,52% da amostra (14 mulheres e 4 homens) e com maior frequência na raça branca (10,48%).

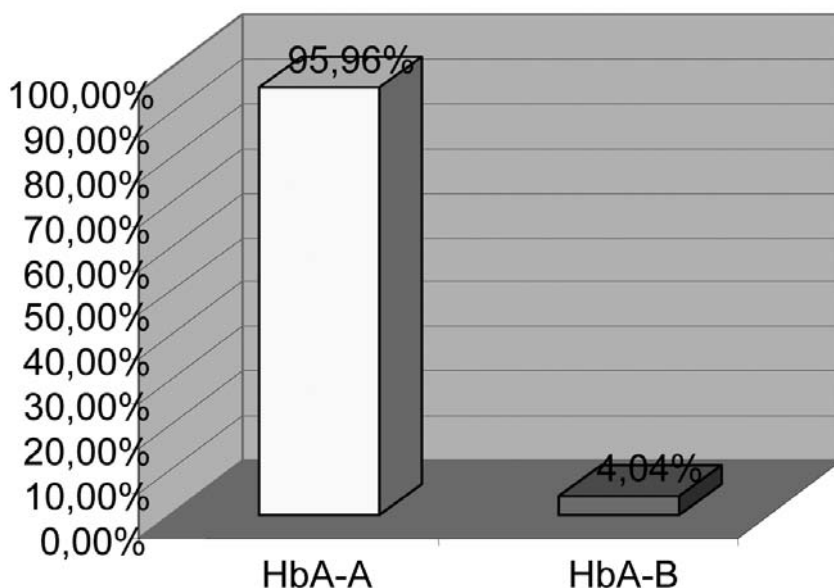


Figura 2 - Distribuição dos genótipos HbA-A e HbA-B na amostra estudada

Os genótipos Hp2-1 e Hp2-2 foram detectados, respectivamente, em 8,87% e 3,23% dos indivíduos e apenas no grupo de controle. Entretanto, no grupo de pacientes com algia crônica por distúrbios temporomandibulares houve o monomorfismo para o sistema Hb-Hp e para a haptoglobina Hp1-1 em indivíduos do gênero feminino e da raça branca, independentemente do tipo clínico da DTM. Sugere-se, portanto, que a haptoglobina Hp1-1 participa da etiopatogenia da algia crônica por distúrbios temporomandibulares.

Neste trabalho, no que se refere à condição de ser o genótipo Hp1-1 como associado à suscetibilidade para o desenvolvimento de DTMs, encontra-se respaldo na literatura consultada, visto que muitos autores sugerem o polimorfismo da haptoglobina com determinados genótipos como marcadores de suscetibilidade a infecções, inflamações e processos degenerativos. As leucemias, a artrite reumatoide juvenil e as talassemias do tipo beta mostraram-se associadas significativamente à haptoglobina¹, e o genótipo Hp1-1, associado à cirrose hepática²². Em pacientes coronarianos, o genótipo Hp2-2 é um fator angiogênico positivo, ao passo que o genótipo Hp 1-1 apresenta maior risco de mortalidade coronariana, obesidade e diabetes²³⁻²⁵, o que foi confirmado por outros autores^{5,25}. Diabéticos com o genótipo Hp 2-2 apresentaram significativamente mais nefropatias, retinopatias e doenças cardiovasculares do que diabéticos com os genótipos Hp1-1 e Hp1-2^{25,26}.

O gene Hp1 foi associado significativamente com alguns tipos de tumores: câncer ovariano^{27,28}, tumores mamários malignos (associados ao genótipo Hp1-1), carcinomas de cérvix (associados ao Hp1-2)²⁹, adenocarcinoma de pulmão (mulheres com o genótipo Hpt1-1)³⁰, câncer de esôfago (genótipo Hpt 1-2), cânceres gástrico³¹, renal³² e de bexiga³³

(associados ao genótipo Hpt 1-1) e câncer de pulmão em pacientes sem histórico familiar (associado ao genótipo Hp2-2)³⁰. Sugeriu-se⁵ o genótipo homocigoto haptoglobina Hp1-1 como marcador para a osteoporose pós-menopausa em mulheres. Em estudos com pacientes com leucemia, nenhuma associação foi verificada entre leucemia com Hp1-1, como sugere a literatura; entretanto, observou-se maior prevalência de haptoglobinêmicos entre os pacientes leucêmicos³⁴.

Os resultados deste trabalho vêm se somar àquelas da literatura, que sugerem uma possível base genética na etiopatogenia das distúrbios temporomandibulares. Por exemplo: a matriz extracelular da cartilagem da ATM é muito afetada por atividades celulares, incluindo-se a expressão gênica^{24,35}; existe uma provável base genética no desenvolvimento dos processos inflamatórios e degenerativos da ATM em alguns pacientes³⁶.

A base genética para as DTMs também encontra suporte no estudo etiológico da artrite reumatoide, na medida em que há evidências não só do papel imunológico e neural no seu desenvolvimento, como da participação do fator genético na sua etiopatogenia, considerando-se que a artrite reumatoide é, dentre as doenças artríticas, a que mais acomete a ATM de pacientes com distúrbios temporomandibulares^{37,38}.

Neste trabalho, quanto à constatação da prevalência da Hp1-1 em mulheres, indicando monomorfismo para Hp1 para as mulheres da amostra estudada, encontra-se suporte na literatura³⁹ quando se deduz que raça branca e gênero feminino seriam significativamente prevalentes na DTM por osteoartrite secundária em razão de uma predisposição genética, e nos informes da Ciba Collection⁴⁰, ao afirmarem que um gene dominante nas mulheres e recessivo nos homens poderia estar envolvido na herança da osteoartrite. Portanto, sugere-se

no presente trabalho que Hp1 represente um gene dominante para mulheres e recessivo para homens quando na presença de algia crônica por distúrbios temporomandibulares.

No referente ao estudo haptoglobina *versus* raça, há variação das frequências dos genes Hp1, Hp2 e ausência de haptoglobina (anahaptoglobinemia) ou ocorrência de deleção do gene promotor da cadeia alfa Hp1¹⁰ entre as raças humanas^{1,41}. Existe prevalência do gene Hp1 em negros da África, seguidos de leucodermas da Europa e amarelos da Ásia; há também subtipos de Hp1 (HpF e HpS) em indígenas mexicanos⁴².

No presente trabalho constatou-se que o genótipo Hp1 (91 casos) esteve presente na raça branca (75 casos; 60,48%), seguido da raça negra (13 casos; 10,48%), da amarela (2 casos; 1,61%) e vermelha (1 caso; 0,81%).

A ana-haptoglobinemia apresentou-se em 18 casos, sendo 13 na raça branca, quatro na negra e uma na amarela.

Quanto à haptoglobina *versus* história familiar, houve correlação positiva entre Hp1-1 e história familiar para dores na face e artrite reumatoide (27 casos, correspondendo a 90% dos casos de história familiar positiva), indicando evidência da participação genética do sistema Hb-Hp no desenvolvimento das DTMs.

Conclusão

O monomorfismo da haptoglobina Hp1 esteve presente em 85% dos pacientes (mulheres da raça branca) com DTMs, independentemente do tipo clínico da DTM diagnosticada. Isso sugere a haptoglobina Hp1-1 como um provável marcador genético de suscetibilidade para o desenvolvimento de algia crônica por DTMs. O método genético-bioquímico eletroforético do sistema Hb-Hp mostrou-se válido para o estudo da etiopatogenia genética das DTMs, além de ser de baixo custo, simples e bem aceito pelo paciente. Finalizando, sugere-se que novos estudos nesta linha sejam realizados para melhor compreender os resultados obtidos neste trabalho.

Abstract

The phenotypes of the hemoglobin-haptoglobin (Hb-Hp) system were measured in 124 subjects, 100 patients with chronic pain in temporomandibular disorders and 24 normal, without any bodily pain during the years 2000-2003. The system Hb-Hp showed polymorphism Hp1-1, Hp2-1 and Hp2-2, at 100% and 85% respectively; anahaptoglobinemia (Hp0) in 15% of the sample studied. Hp1-1 genotype was present significantly ($p < 0,0001$) in patients with TMDs, regardless the clinical type TMD, suggesting that Hp1-1 and likely genetic marker of susceptibility for the development of chronic pain in TMD.

Key words: Temporomandibular joint. Pain. Haptoglobin. Polymorphism genetic.

Referências

1. Naoum PC. Eletroforese: técnicas e diagnósticos. São Paulo: Santos; 1990. 176 p.
2. Santos MNN. Genótipos das haptoglobinas nas doenças falciformes [Dissertação de Mestrado]. Universidade Estadual de Campinas: Faculdade de Ciências Médicas; 2009. 97 p.
3. Wang Y, Kinzie E, Berger FG, Lim SK, Baumann H. Haptoglobin, an inflammation-inducible plasma protein. *Redox Rep* 2001; 6:379-85.
4. Wassell J. Haptoglobin function and polymorphism. *Clin Lab* 2000; 46(11-12):547-52.
5. Pescarmona G, D'Amelio P, Morra E, Isaia GC. Haptoglobin genotype as a risk factor for postmenopausal osteoporosis. *J Med Genet* 2001; 38(9):636-8.
6. Fowkes FJ, Imrie H, Migot-Nabias F, Michon P, Justice A, Deloron P, et al. Association of haptoglobin levels with age, parasite density and haptoglobin genotype in malaria-endemic area of Gabon. *Am J Trop Med Hyg* 2006; 74(1):26-30.
7. Melamed-Frank M, Lache O, Enav BI, Szafranek T, Levy NS, Ricklis RM, et al. Structure-function analysis of the antioxidant properties of haptoglobin. *Blood* 2001; 98:3693-8.
8. Miller YI, Altamentova SM, Shaklai N. Oxidation of low-density lipoprotein by hemoglobin stems from a heme-initiated globin radical. Antioxidant role of haptoglobin. *Biochemistry* 1997; 36:12189-98.
9. Rosim ET, Garcia PMD, Munhoz RR, Aoki FH, Sonati MF. Polimorfismo da haptoglobina e resposta antioxidativa e de fase aguda em pacientes HIV+, 09/2004, 50º Congresso Brasileiro de Genética 2004; 1:580.
10. Koda Y, Watanabe Y, Soejima M. Simple PCR detection of haptoglobin gene deletion in anahaptoglobinemic patients with anti-haptoglobin antibody that causes anaphylactic transfusion reactions. *Blood* 2000; 95:1138-43.
11. McGill JR, Yang F, Baldwin WD, Brune JL. Localization of the haptoglobin alpha and beta genes (Hpa and Hpb) to human chromosome 16q22 by in situ hybridization. *Cytogenetic Cell Genet* 1984; 38(2):155-7.
12. Meneill C. Craniomandibular disorders: guidelines for evaluation, diagnosis and management. *The American Academy of Craniofacial Disorders*. Chicago: Quintessence Publ Co Inc; 1990. p. 1-54.
13. Dworkin SF. Research diagnostic criteria for temporomandibular disorders: review, examinations and specifications, critique. *J Craniomandib Disord: Facial & Oral Pain* 1992; 6(4):302-54.
14. Colombini NEP, Sanseverino C. Cirurgia da face. Interpretação funcional e estética. Dor craniofacial e ATM. 1. ed. Rio de Janeiro: Livraria e Editora Revinter; 2002.
15. Conti PCR, Ferreira PM, Pegoraro LF, Salvador MCG. A cross section study of prevalence and etiology of signs and symptoms of temporomandibular disorders in high school and university students. *J Oral Pain* 1996; 10(3):254-62.
16. Cooper BC, Cooper DL. Multidisciplinary approach to the differential diagnosis of facial. Head and Neck Pain. *J Prosthet Dent* 1991; 6(1):72-8.
17. Pertes RA, Heir GM. Chronic orofacial pain. *Dent Clin North Am* 1991; 35(1):1991.

18. Pertes RA, Gross SE. Clinical management of temporomandibular disorders and orofacial pain. Chicago: Quintessence Publishing Co Inc; 1995.
19. Lipton JA, Ship J, Larach-Robinson D. Estimated prevalence and distribution of reported orofacial pain in the United States. *J Am Dent Assoc* 1993; 124:115-21.
20. Okeson JP. Dor orofacial: guia de avaliação, diagnóstico e tratamento. São Paulo: Ed Quintessence Ltda; 1990.
21. Caminhas MMT. Estudo dos grupos sanguíneos, hemoglobina e concentração de potássio eritrocitário em bovinos [Dissertação de Mestrado]. Botucatu/SP: UNESP; 1987. 117 p.
22. Wobeto VPA, Rosim ET, Mello MB, Calliari LE, Sonati MF. Polymorphism of human haptoglobin and its clinical importance. *Gen Molec Biol* 2008; 31(3):602-20.
23. De Bacquer D, Backer G, Langlois M, Delanghe J, Kesteloot H, Kornitzer H. Haptoglobin polymorphism as a risk factor for coronary heart disease mortality. *Atherosclerosis* 2001; 157(1):161-6.
24. Vilamitjana AJ, Harmand MF. Biochemical analysis of normal and osteoarthritic human cartilage. *Clin Physiol Biochem* 1990; 8:221-30.
25. Asleh R, Levy AP. *In vivo* and *in vitro* studies establishing haptoglobin as a major susceptibility gene for diabetic vascular disease. *Vascular health and risk management* 2005; 1:19-28.
26. Suleiman M, Aronson D, Asleh R, Kapeliovich MR, Roguin A, Meisel SR, et al. Haptoglobin polymorphism predicts 30-day mortality and heart failure in patients with diabetes and acute myocardial infarction. *Diabetes* 2005; 54(9):2802-6.
27. Dobrzszyka W, Warwals M. Haptoglobin types in ovarian tumors. *Neoplasma* 1983; 30(2):169-72.
28. Ahmed N, Barker G, Oliva KT, Hoffmann P. Proteomic-based identification of haptoglobin-1 precursor as a novel circulating biomarker of ovarian cancer. *Brit J Cancer* 2004; 91:129-40.
29. Bartel U, Geserick G. Distribution of haptoglobin phenotypes in gynecologic tumors. *Zentralbl Gynakol* 1985; 107(24):1492-5.
30. Awadallah SM, Atoum MF. Haptoglobin polymorphism in breast cancer patients from Jordan. *Clin Chim Acta* 2004; 341:17-21.
31. Jayanthi M, Habibullah CM, Isaq M. Distribution of haptoglobin phenotypes in oesophageal and gastric cancer. *J Med Genetics* 1989; 26:172-3.
32. Awadallah S, Hamad M. A study of haptoglobin phenotypes in patients with chronic renal failure. *Ann Clin Biochem* 2003; 40:680-3.
33. Benkmann G, Hanssen P, Ovenbeck R, Goedde W. Distribution of alpha-1 antitrypsin and haptoglobin phenotypes in bladder cancer patients. *Hum Hereditas* 1987; 37(5):290-3.
34. Campregher PV, Lorand-Metze I, Grotto HZW, Sonati MF. Fenótipos da haptoglobina em pacientes brasileiros com leucemia. *J Bras Patol Med Lab* 2004; 40(5):307-9.
35. Chevalier Y. Fibronectin, cartilage and osteoarthritis. *Semin Arthritis Rheum* 1993; 22:307-18.
36. Keith DA, Levine JD. Reaction papers to chapters 7-9. In: Temporomandibular disorders and related pain conditions, progress in pain research and management. Sessle BJ, Bryant PS, Dionne RA. Seattle: IASP Press; 1995.
37. Abubaker AO. Differential diagnosis of the temporomandibular joint. *Oral Maxillofac Surg Clin North Am* 1995; 7(1):1-21.
38. Nordhal S, Alstergen P, Appelgren A, Elliasson S, Kopp S. Pain tenderness mandibular mobility and anterior open bite in relation to radiographic erosions in TMJ disease. *Acta Odontol Scand* 1997; 33:18-22.
39. Dieppe P, Hutton C, Campion G. Osteoarthritis: progressive or controllable. Monography in medicine rheumatology. New Jersey: Pharmalibri; 1986.
40. Ciba Collection. Sistema musculoesquelético. Parte II. New Jersey: Pharma Libri; 1988. p. 178-81.
41. Giblett ER. Variant haptoglobin phenotypes. *Cold Spr Harb Symp Quant Biol* 1964; 29:321-6.
42. Delanghe J, Langlois M, Esquivel CA, Haenne H. Haptoglobin 1F allele frequency is high among indigenous populations in the State of Durango, Mexico. *Hum Hered* 2000; 50:263-5.

Endereço para correspondência

Norberto Perri Moraes
 Faculdade de Odontologia de Araçatuba/
 Unesp
 Centro de Oncologia Bucal, Departamento de
 Patologia e Propeidêutica Clínica
 Rua José Bonifácio, 1193, Vila Mendonça, Caixa
 Postal 341
 16015-050 Araçatuba - SP
 Fone/fax: (18) 3636-3275 / 3636-3332
 E-mail: moraes@foa.unesp.br

Recebido: 28.09.2009 Aceito: 20.11.2009