A INFLUÊNCIA DO POLIMORFISMO VAL16ALA-SOD2 SOBRE O EFEITO PRÓ-CICATRIZANTE DO LASER DE BAIXA POTÊNCIA: ESTUDO IN VITRO¹

Tanize Louize Milbradt², Fernanda Barbisan³, Bárbara Osmarin Turra⁴, Cibele Ferreira Teixeira⁵, Ivana Beatrice Manica da Cruz⁶, Nathália Cardoso de Afonso Bonotto⁷

¹ Pesquisa institucional desenvolvida no Laboratório de Biogenômica - Departamento de Morfologia - UFSM, Programa de Pós-Graduação em Gerontologia da Universidade Federal de Santa Maria.

² Aluna do Curso de Medicina (UFSM), tanize.milbradt2@gmail.com - Santa Maria/RS/Brasil.

³ Pós-Doutoranda em Gerontologia (UFSM), fernandabarbisan@gmail.com - Santa Maria/RS/Brasil.

⁴ Doutoranda em Farmacologia (UFSM), babi_turra@hotmail.com - Santa Maria/RS/Brasil.

⁵ Doutoranda em Farmacologia (UFSM), cibelefteixeira@gmail.com - Santa Maria/RS/Brasil.

⁶ Professora do Programa de Pós-Graduação em Gerontologia (UFSM), ibmcruz@hotmail.com - Santa Maria/RS/Brasil.

⁷ Mestranda em Gerontologia (UFSM), nathaaliab23@gmail.com - Santa Maria/RS/Brasil.

Introdução: As alterações decorrentes do envelhecimento acometem a pele, causando disfunções estéticas e déficit na capacidade de cicatrização, em decorrência da diminuição da proliferação celular. O estresse oxidativo, resultante da formação em excesso de espécies reativas de oxigênio (EROS), pode ser considerado o mecanismo central do envelhecimento cutâneo, contribuindo também para a instauração de estados inflamatórios. A superóxido dismutase dependente de manganês (SOD2) é a principal enzima antioxidante que atua no combate às EROS. Entretanto, um polimorfismo, denominado VAL16ALA-SOD2, pode interferir na quantidade desta enzima dentro da mitocôndria celular e, conseqüentemente, em sua ação, dando origem à três possíveis genótipos (AA, VV e AV). A modulação do envelhecimento cutâneo, bem como de estados inflamatórios está condicionada a este polimorfismo. O *laser* de baixa potência (LPB) é um recurso amplamente utilizado na estética em tratamentos para envelhecimento cutâneo e cicatrização tecidual. **Objetivo:** Investigar a influência do polimorfismo VAL16ALA-SOD2 no efeito pró-cicatrizante do LPB. **Metodologia:** Fibroblastos humanos (HFF-1) foram plaqueados em placas de 12 poços e, após 24 horas, rasgadas com o auxílio de uma ponteira amarela (método Stratch Assay), mimetizando um corte de pele. Logo após foi aplicado o LPB vermelho (660nm) no modo pulsado, com frequência de 16Hz, potência de 4j/cm² e 35mW. Foram aplicados 5 pontos em cada poço, por 14s cada. O LPB foi aplicado em posição vertical a uma distância de 2cm das células. Posterior à aplicação do LPB, foi

retirado o meio de cultivo de origem e adicionado os tratamentos, porfirina (para mimetizar genótipo AA) ou paraquat (genótipo VV) nas concentrações de 30 μ M, ou apenas meio de cultivo nos grupos controles. Para a avaliação do efeito pró-cicatrizante foi realizado, após 24 horas de tratamento, o teste RT-PCR para determinar a expressão gênica do pró-colágeno tipo 1 e do inflamassoma NLRP-3. Inicialmente, foi extraído o mRNA com trizol, a quantificação do RNA se deu via espectrofotometria, em seguida o Kit de transcrição de cDNA-Biorad foi utilizado na conversão do mRNA para cDNA, e, por fim, a expressão gênica foi analisada utilizando-se o Kit Corante Supermix Sybr Green-Interprise, iniciadores desenhados especificamente para os genes alvo, a reação se deu em termociclador do tipo Rotor gene-Qiagen. O gene da Beta-actina foi utilizado como *housekeeping*. **Resultados:** O gene NLRP-3 encontrou-se diminuído nas células do grupo controle tratadas com o LPB (0,21), em comparação com aquelas não tratadas (1), sendo este um indicativo do efeito anti-inflamatório do LBP. As células tratadas com porfirina e LPB (1,01) apresentaram uma diminuição do NLRP3 quando comparadas àquelas tratadas apenas com a porfirina (1,45). Por outro lado, observou-se uma tendência *upregulation* do NLRP-3 quando aplicado o LPB juntamente com o paraquat (0,63), em comparação com o grupo que recebeu apenas a substância (0,51). Vale lembrar que quanto maior a elevação na expressão do gene NLRP-3, maior é o processo inflamatório instaurado. Já os resultados da expressão gênica do pró-colágeno tipo 1 apresentaram-se aumentados no grupo controle tratado com o LPB (1) do que naquele onde essa terapia não foi aplicada (3,23), ressaltando o efeito proliferativo já conhecido desta fototerapia. Entretanto, as células tratadas com porfirina e LPB (0,44) apresentaram uma diminuição deste gene quando comparadas àquelas tratadas apenas com a porfirina (1,17). Por outro lado, sua concentração foi maior no grupo que recebeu o tratamento com o paraquat juntamente com o LPB (5,35) do que naquele tratado apenas com a substância (0,26), sugerindo um efeito proliferativo maior do LPB quando associado ao paraquat, molécula utilizada para mimetizar o genótipo VV da enzima SOD2. **Conclusão:** Apesar das limitações metodológicas inerentes a estudos *in vitro*, nossos resultados, ainda que iniciais, demonstram que há influência do polimorfismo genético VAL16ALA-SOD2 na resposta a terapia com LPB. Possivelmente induzindo um maior efeito proliferativo em pessoas com genótipo VV e anti-inflamatório em pessoas com o genótipo AA.

Palavras-chave: Envelhecimento; Estresse oxidativo; Cicatrização; Terapia a laser.