

Expresión del Micro ARN 145-5P en la enfermedad periodontal (Expression of Micro RNA 145-5P in periodontal disease)

Rosa Alicia García-Jau*, Valeria Guadalupe Gastelum-García, Efigenia Moreno-Terrazas, Cynthia Marina Urías-Barreras, Paulita Toscano-Carrillo, Gloria Elena Guzmán-Celaya

Universidad Autónoma de Sinaloa

Correo electrónico: rossygaja@uas.edu.mx

Resumen

Introducción: Los MicroRNAs son pequeñas moléculas de ARN no codificante para proteínas, que constituyen una extensa familia de genes reguladores postranscripcionales. **Objetivo:** Determinar la relación entre la expresión del micro ARN 145-5p en pacientes con y sin enfermedad periodontal. **Material y métodos:** Estudio de tipo transversal, observacional, descriptivo y comparativo, se incluyeron a individuos con y sin enfermedad periodontal, posteriormente a la firma del consentimiento informado, se recolectaron muestras mediante cepillado del tejido gingival con microbrush por 20 segundos entre encía y órgano dental, en zona cervical, de individuos mayores de 18 años con y sin enfermedad periodontal, la muestra se almacenó a -70°C hasta su procesamiento, se usó técnica RT-PCR. Se estimaron medidas de tendencia central e intervalos de confianza, para variables cuantitativas; para variables cualitativas, frecuencias y porcentajes, e intervalos de confianza. t-Student y U de Mann-Whitney, para variables paramétricas y no paramétricas, respectivamente. **Resultados:** La muestra, 80 pacientes ambos sexos, de los cuales el 55% pertenece al sexo femenino, pacientes sin enfermedad periodontal fueron 40, 23 de sexo femenino, pacientes con enfermedad periodontal 40, 21 de sexo femenino, los pacientes con enfermedad periodontal presentaron menos expresión de miRNA 145-5p en comparación con los pacientes sin enfermedad periodontal. **Discusión:** Comparando el miRNA 145-5p sobre el tema de enfermedad periodontal (EP), hay estudios relacionados que comenten una variación significativa en los perfiles de expresión de miARN en tejidos afectados por EP con expresiones altas del miR-145-5p. **Conclusiones:** El micro RNA 145-5p se relaciona con un proceso de inflamación, pero en los resultados obtenidos no se encontró diferencia significativa, por tanto, no tiene relación con el proceso inflamatorio en la enfermedad periodontal.

Palabras clave: microRNAs, enfermedad periodontal, pacientes

Abstract

Introduction: MicroRNAs are small non-protein-coding RNA molecules that constitute an extensive family of post-transcriptional regulatory genes. **Objective:** Determine the relationship between the expression of microRNA 145-5p in patients with and without periodontal disease. **Material and methods:** cross-sectional, observational, descriptive and comparative study, individuals with a positive and/or negative diagnosis for periodontal disease were included, after signing the informed consent, samples will be collected by brushing the gingival tissue, RT-technique was used. PCR with a microbrush for 20 seconds between the gum and dental organ in the cervical area, individuals over 18 years of age with and without periodontal disease, the sample was stored at -70°C until processing. Measures of central tendency and confidence intervals for quantitative variables. For qualitative variables, frequencies and percentages will be estimated, as well as the respective confidence intervals. t-Student and Mann-Whitney U, for parametric and non-parametric variables, respectively. **Results:** The sample, 80 patients of



both sexes, of which 55% are female, patients without periodontal disease were 40, 23 female, patients with periodontal disease 40, 21 female, patients with periodontal disease have less expression of miRNA compared to patients without periodontal disease, who have a higher expression of miRNA 145. **Discussion:** Comparing miRNA 145-5p on the subject of periodontal disease, there are no related studies that comment on any significant statistical difference or relationship with this study, this type of miRNA is present in states of inflammation in the human body or in the immune system of each of us. **Conclusions:** Micro RNA 145-5p is related to an inflammation process, but in the results obtained no significant difference was found, therefore it has no relationship with the inflammatory process in periodontal disease.

Key words: microRNAs, periodontal disease, patients.

Introducción

La enfermedad periodontal (EP) es una enfermedad crónica e inflamatoria de origen disbiótico (desequilibrio del microbiota) que afecta a las estructuras de soporte del diente, siendo el resultado de la interacción entre bacterias patógenas y el sistema inmune (Kononen et al., 2019; Martínez et al., 2017, Buragaite et al., 2023). Los datos epidemiológicos en México reportan que el 65% de la población de estudio presenta problemas gingivales y el 8.7% periodontitis (García et al., 2016). En la actualidad los métodos diagnósticos van orientados a dirigir el tratamiento con base en las características de los defectos óseos, o a las alteraciones en los tejidos blandos de soporte del diente, sin embargo, se ha empezado a proponer métodos moleculares con la finalidad de que se pueda identificar el desarrollo de esta enfermedad antes de que pueda provocar un daño en cualquiera de los tejidos de soporte del diente (Cuevas-Gonzales, 2019). La literatura menciona que los microRNAs (miRNAs), son ácidos nucleicos de expresión oblicua no codificante que están formados por 18 a 25 nucleótidos de longitud, los cuales juegan un papel importante en la regulación post-transcripcional de la expresión genética (Ling-Gregory, 2015), se ha evaluado el potencial de los microRNA para ser usados como biomarcadores diagnósticos y pronósticos de enfermedades periodontales (Asaad et al., 2020; Mico-Martínez et al., 2021).

Debido a la información que se encuentra publicada y el potencial que representa esta línea de investigación, el objetivo del presente estudio

es valorar la relación del microARN 145-5P en pacientes con y sin enfermedad periodontal.

Materiales y Métodos

Estudio transversal, observacional, descriptivo y comparativo realizado a pacientes con y sin enfermedad periodontal. Después de la firma del consentimiento informado, se recolectó la muestra mediante el cepillado del tejido gingival con un microbrush por 20 segundos entre encía y órgano dental en la zona cervical, de pacientes mayores de 18 años con o sin enfermedad periodontal, que acudieron a consulta a la Clínica de la Facultad de Odontología en el periodo comprendido de enero a agosto del año 2022, la técnica utilizada fue RT-PCR.

La amplificación y cuantificación de los miRNAs, se realizó mediante PCR en Tiempo Real, utilizando sondas TaqMan®, Universal PCR Master Mix II (2x) de Applied Biosystems®.

Se realizó una cuantificación relativa utilizando el miRNA 145-5p como gen de referencia. Los cálculos se basaron en la comparación de los valores de umbral de ciclo (Ct). Para el análisis de la expresión génica relativa se utilizó el método $\Delta\Delta Ct$.

Medidas de tendencia central (media, mediana, moda), medidas de dispersión (desviación estándar) e intervalos de confianza, fueron estimados para las variables cuantitativas. Para las variables cualitativas, se estimaron las frecuencias y porcentajes, así como los respectivos intervalos de confianza. Para iden-

tificar diferencias entre medias, se realizó el estadístico t-Student y U de Mann-Whitney, para variables paramétricas y no paramétricas, respectivamente. Un valor menor a 0.05 fue considerado estadísticamente significativo.

Resultados

La muestra estuvo constituida por 80 pacientes de ambos sexos, 44 de sexo femenino y 36 del sexo masculino, los pacientes que presentaron enfermedad periodontal fueron 40, 21 de sexo femenino y 19 de sexo masculino, pacientes sin enfermedad periodontal fueron un total de 40, 23 del sexo femenino y 17 del masculino. La expresión relativa del miRNA 145-5p en pacientes con y sin enfermedad periodontal, fue de, el 0.8184 en pacientes con enfermedad periodontal y el 1.0000 en pacientes sin enfermedad periodontal, es decir, que los pacientes con enfermedad periodontal presentaron menos expresión de miRNA 145-5p en comparación con los pacientes sin enfermedad periodontal. Se utilizó la prueba t de student para calcular los valores mínimos, mediana y máximo de los pacientes con y sin enfermedad periodontal, la mediana de los pacientes con enfermedad periodontal fue del -0.2891 ± 1.4835 ; la mediana de los pacientes sin enfermedad periodontal fue del 4.2875 ± 1.1283 ; por consiguiente, la prueba t-Student fue de 0.721 ($p=0.475$, $N=45$), no hay diferencia significativa (Fig. 1).

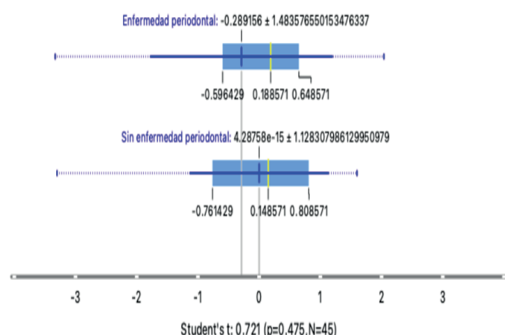


Figura 1. T de student para grupo de pacientes con y sin enfermedad periodontal

Los pacientes con enfermedad periodontal se diagnosticaron conforme a la clasificación de estadio (1 al 4) y del grado (A, B y C) que presenten los pacientes. Al realizarse el análisis de los grupos estadio 1,2,3 y 4 del microRNA 145-5p dio como resultado ANOVA:0.342 ($p=0.795$, $n=45$), resultados de los cuales son en estadio 1 -0.7347 ± 1.3442 , estadio 2 0.0645 ± 1.5943 , estadio 3 -0.4214 ± 1.3364 , estadio 4 -0.7580 ± 1.2551 , sin diferencia significativa (Fig. 2)

Al realizarse la prueba t de student para analizar la comparación de acuerdo con los grados que presentaron los pacientes con enfermedad periodontal dando como resultado en el grado B (progresión moderada): -0.5547 ± 1.3061 ; en el grado C (alto riesgo de progresión rápida): -0.5114 ± 0.3285 ; t-Student fue de 0.730 ($p=0.474$, $N=45$), al obtener el mayor número de pacientes con el grado B (28) nos indica que hay mayor inflamación y menor higiene bucal.

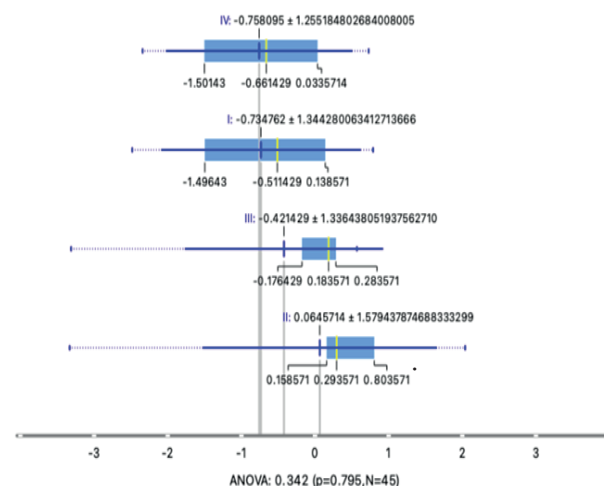


Figura 2. ANOVA para grupos 1,2,3 y 4 con microARN145-5P. Al analizar los resultados respecto al sexo, prueba t-Student:1.906 ($p=0.64$, $N=45$).

Discusión

Un número creciente de informes sugiere una utilidad significativa de los miARN como biomarcadores de condiciones patógenas, moduladores de la resistencia a los medicamentos y/o como fármacos para intervenciones médicas en casi todas las condiciones



de salud humana (Hanna et al., 2019). Se ha demostrado que miARN 145-5p tiene un impacto negativo en la formación ósea, y los estudios muestran que la inhibición de este miARN puede aumentar la diferenciación osteogénica (Liu et al., 2020), además también se demostró que miARN 145-5p tiene efectos antiinflamatorios en la aterosclerosis (Wang et al., 2021) y la enfermedad inflamatoria intestinal (Zhuang et al., 2022). Comparando el miARN 145-5p sobre el tema de enfermedad periodontal (EP), en nuestro estudio los resultados no presentaron diferencia estadísticamente significativa, lo cual difiere del estudio realizado por Bugaraite (2023), el cual mostró un aumento significativo de la expresión de miARN 145-5p en los tejidos afectados por la EP. La evaluación de la gravedad de la EP definida por etapas, en el estudio realizado por Bugaraite (2023) se observaron niveles gingivales altos del miARN 145-5P, con diferencia estadísticamente significativa entre los participantes con EP grave (estadio 3 y 4), resultados que difieren de los nuestros ya que el estadio que tuvo mayor presencia fue el estadio 2 sin diferencias estadísticamente significativas.

Conclusiones

El miARN 145-5p se relaciona con un proceso de inflamación, pero en los resultados obtenidos no se encontró diferencia significativa. La presente investigación presentó una descripción general que destaca los aspectos a considerar en futuros estudios destinados a valorar la asociación del miARN 145-5p con la EP.

Referencias Bibliográficas

Asa'ad F, Garaicoa-Pazmiño C, Dahlin C, Larsson L. Expression of MicroRNAs in Periodontal and Peri-Implant Diseases: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Int J Mol Sci.* 2020 Jun 10;21(11):4147.

Buragaite-Staponkiene B, Rovas A, Puriene A, Snipaitiene K, Punceviciene E, Rimkevicius A, Butrimiene I, Jarmalaite S. Gingival Tissue MiRNA Expression Profiling and an Analysis of Periodontitis-Specific Circulating MiRNAs. *Int J Mol Sci.* 2023 Jul 26;24(15):11983.

Cuevas-González MV, Suaste-Olmos F, García-Calderón AG, Tovar-Carrillo KL, Espinosa-Cristóbal LF, Nava-Martínez SD, Cuevas-González JC, Zambrano-Galván G, Saucedo-Acuña RA, Donohue-Cornejo A. Expression of MicroRNAs in Periodontal Disease: A Systematic Review. *Biomed Res Int.* 2021 Jan 19; 2021:2069410.

García-Pérez Á, Borges-Yáñez SA, Jiménez-Corona A, Jiménez-Corona ME, Ponce-de-León S. Self-report of gingival problems and periodontitis in indigenous and non-indigenous populations in Chiapas, Mexico. *Int Dent J.* 2016 Apr;66(2):105-12.

Hanna J, Hossain GS, Kocerha J. The Potential for microRNA Therapeutics and Clinical Research. *Front Genet.* 2019 May 16; 10:478.

Könönen E, Gursoy M, Gursoy UK. Periodontitis: A Multifaceted Disease of Tooth-Supporting Tissues. *J Clin Med.* 2019 Jul 31;8(8):1135.

Lin S, Gregory RI. MicroRNA biogenesis pathways in cancer. *Nat Rev Cancer.* 2015 Jun;15(6):321-33.

Liu X, Su K, Kuang S, Fu M, Zhang Z. miR-16-5p and miR-145-5p trigger apoptosis in human gingival epithelial cells by down-regulating BACH2. *Int J Clin Exp*

Pathol. 2020 May 1;13(5):901-911.

Martínez-Herrera M, Silvestre-Rangil J, Silvestre FJ. Association between obesity and periodontal disease. A systematic review of epidemiological studies and controlled clinical trials. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. 2017 Nov 1;22(6): e708-e715.

Micó-Martínez P, Almiñana-Pastor PJ, Alpiste-Illueca F, López-Roldán A. MicroRNAs and periodontal disease: a qualitative systematic review of human studies. *J Periodontal Implant Sci*. 2021 Dec;51(6):386-397.

Wang Y, Liu L, Li J. LncRNA KCNQ1OT1 depletion inhibits the malignant development of atherosclerosis by miR-145-5p. *Microvasc Res*. 2022 Jan;139:104236.

Zhuang X, Chen B, Huang S, Han J, Zhou G, Xu S, Chen M, Zeng Z, Zhang S. Hypermethylation of miR-145 promoter-mediated SOX9-CLDN8 pathway regulates intestinal mucosal barrier in Crohn's disease. *EBioMedicine*. 2022 Feb; 76:103846.