

Avaliação da frequência dos genótipos do polimorfismo T102C do receptor 5HT2A em lesões bucais malignas e potencialmente malignas e sua associação com o fumo e o álcool

RAFAELY FERREIRA SEVERO¹; CAINÁ CORREA DO AMARAL; ANA CARINA CALDAS; CAMILA PERELLÓ FERRÚA; SANDRA BEATRIZ CHAVES TARQUINIO²; FERNANDA NEDEL³

¹Universidade Católica de Pelotas – rafaelysevero@hotmail.com;

²Universidade Federal de Pelotas – sbtarquinio@gmail.com

³Universidade Católica de Pelotas – fernanda.nedel@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

A molécula de Serotonina (5-HT) realiza a função de neurotransmissor e age em diversas áreas fisiológicas, tais como o sistema cardiovascular, o sistema digestivo e também no cérebro, onde é capaz de interferir no apetite, na agressividade, nos hábitos e na memória. Os receptores serotoninérgicos são classificados em sete tipos (5-HT1-7), o receptor tipo 2 é dividido em três subgrupos (A,B e C). O receptor 5-HT2A, cujo gene (*HTR2A*) se encontra no cromossomo 13 (13q14-q21), apresenta diferentes polimorfismos, como o T102C (rs6313). No polimorfismo T102C o nucleotídeo timina (T) é alterado pela citosina (C), assim surgem três alelos que podem ser identificados pela técnica de PCR, são eles: TC, TT e CC (MIGOTT, 2007). Algumas pesquisas sugerem uma provável relação entre o genótipo CC do polimorfismo T102C com dependência ao tabaco, álcool e drogas (JAKUBCZYK, 2013; WRZOSEK, 2012). Neste sentido, o fumo, o álcool, a má nutrição, a má higiene, variáveis demográficas e problemas imunológicos são alguns dos fatores que, associados, podem resultar na iniciação e promoção neoplásica na cavidade bucal.

Desta forma o objetivo do presente estudo foi verificar a frequência e o perfil dos genótipos do polimorfismo T102C do receptor 5HT2A e sua associação com o fumo e o álcool em lesões bucais malignas e potencialmente malignas.

2. METODOLOGIA

A população alvo consistiu em pacientes com e sem lesões bucais malignas e potencialmente malignas, e dentro destes grupos pacientes com e sem os hábitos de fumo e consumo de bebidas alcoólicas. Os pacientes são usuários do Centro de Diagnóstico das Doenças da Boca (CDDB-UFPel), com idade igual ou superior a 45 anos. Estes assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido, e também responderam a um questionário feito por equipe treinada, contendo questões a respeito do hábito de fumar e ingerir bebidas alcoólicas. As células bucais foram coletadas de lesões e da mucosa normal utilizando escovas citológicas descartáveis. A extração de DNA total foi realizada seguindo as instruções do fabricante (Puregene Bucca lCell Kit- Gentra Systems, Inc., Minneapolis, Minnesota, USA). O polimorfismo do T102C foi genotipado em ensaios de discriminação alélica por PCR em tempo real no termociclador 7500 Fast Real-Time PCR System (Applied Biosystems). Primer e sonda do tipo TaqMan MGB foram designados utilizando-se o software Primer Express v3.0, o DNA genômico foi diluído 2:8 para a realização da reação de PCR. A sequência consenso do gene foi obtida a partir do GeneBank. O presente estudo obteve a

aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da Universidade Federal de Pelotas (Parecer n. 058/2008 do CEP da FOUFPEL).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

No total foram genotipadas e analisadas 177 amostras de pacientes com e sem lesões bucais malignas e potencialmente malignas. Desse grupo faziam parte 22 indivíduos diagnosticados com carcinoma, 28 com displasia moderada/severa, 33 com hiperqueratose + acantose + displasia leve, 22 com líquen plano e 72 faziam parte do grupo controle. Na tabela 1, é possível observar que as frequências totais dos genótipos observados são similares aos esperados, e que os mesmos se enquadraram no equilíbrio de Hardy-Weinberg ($p=0,18$).

Tabela 1: Frequência dos genótipos em lesões pré-malignas, malignas e controles

Genótipo	Frequência Esperada	Frequência Observada
C/C	59,7	61
T/C	82,7	80
T/T	28,7	30

Os genótipos, tanto independente do diagnóstico quanto em relação a cada diagnóstico podem ser observados na tabela 2. Nela, pode-se perceber que o genótipo TC, com 45,2% foi o de maior frequência, independente do diagnóstico. Se analisarmos a frequência dos genótipos em relação a cada diagnóstico, o genótipo de maior frequência em carcinoma, displasia moderada/severa e no grupo controle foi também o TC. Porém, em hiperqueratose+acantose+displasia leve e no líquen plano observou-se uma maior porcentagem do genótipo CC, quando comparados com os demais diagnósticos e com o grupo controle. Esta mesma população já foi avaliada para polimorfismos do códon 72 do gene da *p53*, onde o líquen plano também apresentou uma inversão da frequência do genótipo em relação aos demais diagnósticos, sendo encontrada uma maior do genótipo homozigoto (NEDEL, et al., 2010).

Tabela 2: Porcentagem dos genótipos em lesões malignas e pré-malignas

Diagnóstico	Genótipo			Total
	TT(%)	TC (%)	CC (%)	
Carcinoma	5 (22,7)	10 (45,5)	7 (31,8)	22
Displasia Moderada/Severa	3 (10,7)	16 (57,2)	9 (32,1)	28
Hiperqueratose + Acantose + Displasia Leve	6 (18,2)	13 (39,4)	14 (42,4)	33
Líquen Plano	3 (13,6)	9 (40,9)	10 (45,5)	22
Controle	13 (18)	32 (44,5)	27 (37,5)	72
Total	30(16,95)	80 (45,2)	67 (37,85)	=177

A literatura a respeito do polimorfismo T102C mostra uma provável relação entre os genótipos CC com hábitos em álcool e tabaco. Em relação ao álcool, alguns pesquisadores afirmam que esse genótipo tem relação com as recaídas nos tratamentos, com a iniciação e continuidade do vício (JAKUBCZK, 2013; LI et al., 2009). Sobre o fumo, os pesquisadores sugerem que o polimorfismo contribui

para a manutenção do vício, que o genótipo CC é mais encontrado em fumantes, entre outras hipóteses (RAMOS NETO et al., 2014; LIMA, 2004).

Foram analisadas características como genótipo em relação a cada diagnóstico; hábito de ingerir bebidas alcoólicas; frequência com que os pacientes ingeriam bebida alcoólica por semana; hábito de fumar; quantidade de cigarros fumados por dia. Nossos resultados apontam para uma associação positiva entre o alelo C e o hábito do fumo e álcool, o qual corrobora com estes achados da literatura (Figura 3 e 4). Este alelo parece ter importância nos momentos iniciais da carcinogênese, uma vez que o alelo C foi encontrado em maior frequência em lesões displásicas e de líquen plano quando comparadas com o carcinoma e o grupo controle. Ainda, observa-se um indicativo de que aspectos relacionados ao fumo e álcool em associação com genótipo T102C do receptor 5HT2A podem estar envolvidos no desencadeamento e/ou manutenção do líquen plano.

Tabela 3: Hábito de ingerir bebidas alcoólicas

Diagnóstico	Genótipo								
	TT		TC		CC		Total		
Hábito de ingerir bebidas alcoólicas	S (%)	N (%)	S (%)	N (%)	S (%)	N (%)	S (%)	N (%)	S/ inf.
Carcinoma	1 (10)	1 (20)	6 (60)	2 (40)	3 (30)	2 (40)	10 (45,4)	5 (22,7)	7
Displasia Moderada/Severa	0 (0)	3 (23,08)	3 (33,33)	9 (69,23)	6 (66,67)	1 (7,69)	9 (32,1)	13 (46,4)	6
Hiperkeratose + Acantose + Displasia Leve	2 (25)	2 (28,57)	2 (25)	3 (42,86)	4 (50)	2 (28,57)	8 (24,2)	7 (21,2)	18
Líquen Plano	0 (0)	1 (9)	1 (20)	5 (45,4)	4 (80)	5 (45,4)	5 (22,7)	11 (50)	6
Controle	1 (9)	11 (20,7)	8 (72,7)	24 (45,2)	2 (18,1)	18 (33,9)	11 (15,2)	53 (73,6)	8
Total	4 (9,3)	18 (20,2)	20 (46,5)	43 (48,3)	19 (44,2)	28 (31,5)	43	89	45

Tabela 4: Hábito de fumo

Diagnóstico	Genótipo								
	TT		TC		CC		Total		
Hábito de fumo	S (%)	N (%)	S (%)	N (%)	S (%)	N (%)	S (%)	N (%)	Se m inf.
Carcinoma	2 (16,6)	0 (0)	6 (50)	1 (33,33)	4 (33,3)	2 (66,67)	12 (54,5)	3 (13,6)	7
Displasia Moderada/Severa	2 (12,5)	1 (16,67)	7 (43,75)	5 (83,3)	7 (43,75)	0 (0)	16 (57,1)	6 (21,4)	6
Hiperkeratose + Acantose + Displasia Leve	3 (27,28)	0 (0)	4 (36,36)	2 (66,67)	4 (36,3)	1 (33,33)	11 (33,3)	3 (9,0)	19
Líquen Plano	1	0	1	3	6	1	8	4	10

	(12,5)	(0)	(12,5)	(75)	(75)	(25)	(36,3)	(18,1)	
Controle	1 (25)	11 (18,64)	3 (75)	28 (47,46)	0 (0)	20 (33,)	4 (5,5)	59 (81,9)	9
	9 (17,66)	12 (16)	21 (41,17)	39 (52)	21 (41,17)	24 (32)	51	75	51
Total									

4. CONCLUSÕES

Os resultados obtidos sugerem uma associação positiva entre o alelo C do polimorfismo T102C e o hábito do fumo e álcool. Contudo, o presente estudo apresenta limitações, em especial no aspecto do número amostral, neste sentido os autores pretendem ampliar a amostra no intuito de obter respostas referentes aos questionamentos levantados neste trabalho.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- JAKUBCZYK, A; KLIMKIEWICZ, A; KOPERA, M; KRASOWSKA, A; MATSUMOTO, H; BROWER, K.J; WOJNAR, M. The CC genotype in the T102C HTR2A polymorphism predicts relapse in individuals after alcohol treatment. **J Psychiatr Res.** v. 47, n.4, p. 527–533, 2013.
- LI, C.S; LUO, X; YAN, P; BERGQUIST, K; SINHA, R. Altered Impulse Control in Alcohol Dependence: Neural Measures of Stop Signal Performance. **Alcoholism: Clinical and Experimental Research.** v. 33, n. 4, p. 7340-750, 2009.
- LIMA, P.A.S.P. **O polimorfismo T102C do receptor serotoninérgico 5HT2A participa na manutenção do tabagismo e dos mecanismos de preferência alimentar.** 2004. Tese de Doutorado (Doutorado em Bioquímica) - Curso de pósgraduação em Ciências Biológicas, Universidade Federal do Rio Grande do Sul.
- MIGOTT, A.M.B. **Um estudo do polimorfismo 5HT2A como elo entre tabagismo e depressão.** 2007. Tese de Doutorado (Programa de Pós-graduação em Medicina e Ciências da Saúde) - Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul.
- NEDEL, F. THUROW, H.S; YURGEL, V; TARQUINIO, S; COLLARES, T; SEIXAS, F.K. Frequência dos polimorfismos do códon 72 do gene da p53 em lesões bucais pré-malignas e malignas: Estudo piloto. In: **XIX CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA**, Ufpel, Anais Ciências da Saúde. Pelotas, Pelotas, 2010.
- RAMOS NETO, E.S; MÁGULAS, J.O; SOUSA, J.J; MOURA, A.C; PINTO, G.R; YOSHIOKA, F.K; CANALLE, R; MOTTA, F.J. Study of polymorphic variants of the serotonin 2A receptor gene (5-HT2A) and its possible effects on smoking habits of a population from north eastern Brazil. **Genet Mol Res.** v. 13, n.4, p.8268-77, 2014.
- WRZOSEK, M; JAKUBCZYK, A; MATSUMOTO, H; LUKASZKIEWICZ, J; BROWER, K.J; WOJNAR, M. Serotonin 2A receptor gene (HTR2A) polymorphism in alcohol dependent patients. **Pharmacol Rep.** v. 64, n. 2, p. 449-453, 2012.