

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

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

²*Universidade Federal de Pelotas – sbtarquinio@gmail.com*

³*Universidade 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 Buccal ICell 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 hiperceratose + 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 enquadram 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 hiperceratose+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 |
| Hiperceratose + 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 |
| Hiperceratose + 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 |
| Hiperceratose + Acantose + Displasia Leve | 3 (27,2) | 0 (0) | 4 (36,36) | 2 (66,67) | 4 (36,3) | 1 (33,33) | 11 (33,3) | 3 (9,0) | 19 |
| Líquen Plano | 8 (2) | 0 (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 51 | 59 (81,9 75 | 9 51 |
| Total | 9 (17,6 6) | 12 (16) | 21 (41,17) | 39 (52) | 21 (41,17) | 24 (32) | | | |

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 numero 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.