



## Receptor de leptina polimorfismo Gln223Arg em carcinoma epidermóide bucal e lesões orais potencialmente malignas

*Marcela Gonçalves de Souza, Patrícia Luciana Batista Domingos, Mariana Batista Soares, Camila Santos Pereira, Lucyana Conceição Farias, Alfredo Maurício Batista de Paula, Andre Luíz Sena Guimarães*

### Introdução

A leptina (LEP) é uma proteína da família das citocinas, composta por 167 aminoácidos. É principalmente sintetizada no tecido adiposo e está relacionada com o metabolismo energético e o peso corporal por meio da regulação do hipotálamo. Sua função é atingida quando ela se liga ao seu receptor, a proteína receptora de leptina (LEPR) [1]. Além disso, o gene LEP tem sido ligado a outros mecanismos fisiológicos e patológicos, tais como a remodelação óssea, inflamação, artrite reumatóide e no desenvolvimento de alguns cânceres [2-4]. Os antagonistas do receptor de leptina, capazes de bloquear os efeitos da leptina poderiam oferecer novos processos terapêuticos para o tratamento de vários tipos de câncer. Os polimorfismos de genes nos genes LEP e LEPR têm sido associadas com vários tipos de cânceres, que ocorre no cólon, próstata, e mama [3, 4, 5]. No câncer de próstata, a análise do polimorfismo da LEP rs7799039 demonstraram que um alelo foi associado a uma maior expressão do receptor da leptina [4]. A leptina também pode interferir com a expressão do oncogene c-myc e anti-apoptótica Bcl-2, regula o volume de células e facilita a progressão do câncer do colo do útero [6]. O polimorfismo na LEPR Gln223Arg é caracterizada por uma transição de A para G no códon 223, o que resulta em uma glutamina em substituição a arginina [7]. Níveis mais altos de atividade de ligação de leptina foram mostrados em indivíduos homozigotos para o alelo G (Arg223Arg) [8]. No entanto, houve resultados contrários de menor níveis de leptina de ligação para o alelo G em um estudo envolvendo mulheres brancas na pós-menopausa [9]. O alelo LEPR 223Arg tem sido associada ao aumento do risco de câncer de mama [3]. Da mesma forma, no carcinoma hepatocelular (HCC), o genótipo 223Arg/Arg tiveram um risco significativamente mais elevado para o HCC do que aqueles com o genótipo 223Gln/Gln. Poucos estudos têm sido realizados para explicar a real importância de genes LEP e LEPR em malignidade orais. Portanto, a fim de obter um melhor conhecimento sobre o gene receptor leptina no câncer oral, avaliou-se variantes polimórficas de LEPR Gln223Arg em carcinoma epidermóide bucal (CEB) e lesões orais potencialmente malignas (PMOL) em comparação com a mucosa oral normal de uma população.

### Material e métodos

#### A. Estudo e Projeto

Foi realizado um estudo caso-controle para verificar uma possível associação entre o polimorfismo do gene receptor leptina (GenBank: U59251 - Nucleotide banco de dados do Centro Nacional de Informações sobre Biotecnologia, EUA) e carcinoma epidermóide bucal. Para testar nossa hipótese, foi realizado um estudo populacional com os residentes não-institucionalizados com idade > 18 anos, da cidade de Montes Claros, no estado de Minas Gerais, Brasil. A partir de uma amostra representativa de 471 indivíduos da população geral de Montes Claros, Brasil, que serviram como grupo controle, só selecionou indivíduos fumantes sem CEB (n = 89), com idade para CEB pareados por sexo (n = 25) e pacientes com displasia epiteliais orais (n = 25). Diagnóstico da CEB e PMOL foram confirmadas através de análises histopatológicas. Neste estudo apenas displasia epitelial bucal foram considerados como PMOL. O estudo foi aprovado pelo conselho de revisão institucional relevante (Universidade Estadual de Montes Claros; número de processo 2667/2011).

#### B. Genotipagem do receptor da leptina

O DNA foi extraído a partir de raspado de mucosa oral de um grupo controle e dos grupos das lesões em estudo. As amostras de DNA foram isoladas utilizando partículas de sílica, que adsorvem o DNA. Em seguida, o DNA foi lavado para remover as impurezas e eluído em tampão de TE, como descrito anteriormente. DNA de tecido incluído em parafina foi extraído como descrito anteriormente. Polimorfismo do gene receptor da leptina Gln223Arg (A> G; rs1137101) foi avaliada por RFLP-PCR.

### Resultados

Os dados clínicos, bem como as distribuições do grupo são apresentados na Tabela 1. A Tabela 2 mostra a distribuição de genótipos do polimorfismo do receptor da leptina entre grupos. O alelo A em homozigose (Gln223Gln) mostra uma



associação significativa com o desenvolvimento de PMOL; 80% das amostras apresentam o genótipo AA. Por outro lado, a genótipo GG (Arg223Arg) parece ser a mais relevante variante polimórfica em CEB.

Apoio financeiro: FAPEMIG, CNPq

Aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Unimontes nº 2667/2011

Ocorreu, aproximadamente, duas vezes mais frequentemente do que na população em geral. A população em geral teve maior frequência de AG e variantes AA. O genótipo GG apresentou distribuição mais baixas nestas amostras; o alelo A parece ser mais importante neste grupo. Não foi observada associação entre sexo e variantes genotípicas LEPR (Tabela 3).

## Discussão

O polimorfismo LEPR Gln223Arg, resulta em uma mudança de glutamina em arginina no códon 223 no éxon 6 do gene de receptor de leptina, tem sido associada com o desenvolvimento e aumento do risco de câncer. Neste estudo, a hipótese de que as variações do gene do polimorfismo LEPR Gln223Arg pode ser associado com CEB, bem como PMOL. Apesar do pequeno grupo de pacientes com câncer e casos de PMOL, nossos resultados foram capazes de demonstrar um aumento significativo de frequência do genótipo GG (Arg223Arg) em pacientes com câncer, em comparação com a população em geral; que ocorreu, aproximadamente, duas vezes mais frequente na amostra do que no grupo controle. Um estudo anterior mostrou que os pacientes com câncer de mama com o alelo G foram mais propensos a desenvolver tumores pouco diferenciados do que aqueles com alelos A. O alelo A em homozigose (Gln223Gln) mostrou associação significativa com PMOL; 80% das amostras apresentam o genótipo AA.

## Conclusão/Conclusões/Considerações finais

Em conclusão, nossos resultados sugerem novas perspectivas sobre variações genéticas LEPR em CEB e também aponta para o polimorfismo LEPR Gln223Arg em PMOL. Sinalização LEP-LEPR pode estar implicado na patogênese dessas lesões. No entanto, estudos adicionais podem explicar melhor a importância de variantes Gln223Arg identificados em grupos com lesões.

## Referências

1. Ahima RS, Osei SY. Leptin signaling. *Physiol Behav.* 2004 Apr;81(2):223-41. PubMed PMID: 15159169. Epub 2004/05/26. eng.
2. Beccari S, Kovalszky I, Wade JD, Otvos L, Jr., Surmacz E. Designer peptide antagonist of the leptin receptor with peripheral antineoplastic activity. *Peptides.* 2013 Apr 6;44C:127-34. PubMed PMID: 23567149. Epub 2013/04/10. Eng.
3. Okobia MN, Bunker CH, Garte SJ, Zmuda JM, Ezeome ER, Anyanwu SN, et al. Leptin receptor Gln223Arg polymorphism and breast cancer risk in Nigerian women: a case control study. *BMC Cancer.* 2008;8:338. PubMed PMID: 19017403. Pubmed Central PMCID: 2613914. Epub 2008/11/20. eng.
4. RIBEIRO R, VASCONCELOS A, COSTA S, PINTO D, MORAIS A, OLIVEIRA J, ET AL. OVEREXPRESSION OF LEPTIN GENETIC POLYMORPHISM (-2548 G/A) IS ASSOCIATED WITH SUSCEPTIBILITY TO PROSTATE CANCER AND RISK OF ADVANCED DISEASE. *PROSTATE.* 2004 MAY 15;59(3):268-74. PUBMED
5. Slattery ML, Wolff RK, Herrick J, Caan BJ, Potter JD. Leptin and leptin receptor genotypes and colon cancer: gene-gene and gene-lifestyle interactions. *Int J Cancer.* 2008 Apr 1;122(7):1611-7. PubMed PMID: 18059035. Pubmed Central PMCID: 2430084. Epub 2007/12/07. eng.
6. Chung WK, Power-Kehoe L, Chua M, Chu F, Aronne L, Huma Z, et al. Exonic and intronic sequence variation in the human leptin receptor gene (LEPR). *Diabetes.* 1997 Sep;46(9):1509-11. PubMed PMID: 9287054. Epub 1997/09/01. eng.
7. Quinton ND, Lee AJ, Ross RJ, Eastell R, Blakemore AI. A single nucleotide polymorphism (SNP) in the leptin receptor is associated with BMI, fat mass and leptin levels in postmenopausal Caucasian women. *Hum Genet.* 2001 Mar;108(3):233-6. PubMed PMID: 11354636. Epub 2001/05/17. eng.
8. Stefan N, Vozarova B, Del Parigi A, Ossowski V, Thompson DB, Hanson RL, et al. The Gln223Arg polymorphism of the leptin receptor in Pima Indians: influence on energy expenditure, physical activity and lipid metabolism. *Int J Obes Relat Metab Disord.* 2002 Dec;26(12):1629-32. PubMed PMID: 12461680. Epub 2002/12/04. eng.
9. Li Y, Geng J, Wang Y, Lu Q, Du Y, Wang W, et al. The role of leptin receptor gene polymorphisms in determining the susceptibility and prognosis of NSCLC in Chinese patients. *J Cancer Res Clin Oncol.* 2012 Feb;138(2):311-6. PubMed PMID: 22127368. Epub 2011/12/01. eng.



**Tabela 1.** Distribuição de amostras por idade e sexo

parâmetros clínicos	<u>Grupos Amostra</u>		
	População em geral / mucosa normal (n=89)	PMOL (n=25)	CEB (n=25)
<u>Sexo</u>			
masculino	67 (75.3%)	17 (68.0%)	21 (84.0%)
Feminine	22 (24.7%)	08 (32.0%)	04 (16.0%)
<u>Idade (em anos)</u>			
Variação	28-92	36-82	28-77
Média ± desvio padrão	55.9±13.9	58.1±12.0	58.0±13.6

**Tabela 2.** Frequência de genótipos LEPR em mucosa normal oral, lesões orais potencialmente malignas e carcinoma epidermóide de boca

Grupo	<u>LEPR Genótipo</u>		
	GG (%)	AG (%)	AA (%)
População em geral / mucosa normal	11 (12.4)	38 (42.7)	40 (44.9)
Lesão oral potencialmente malignas	01 (4.0)	04 (16.0)	20 (80.0)
CEB	06 (24.0)	07 (28.0)	12 (48.0)
Valor de p	0.011*		

\* Analisado pelo teste X2. P-valor significativo <0,05

**Tabela 3.** Genótipos LEPR e sua associação com o gênero em mucosa normal oral, lesões potencialmente malignas e carcinoma epidermóide de boca



FÓRUM ENSINO • PESQUISA  
EXTENSÃO • GESTÃO  
**FEPEG**

UNIVERSIDADE: SABERES E PRÁTICAS INOVADORAS

Trabalhos científicos • Apresentações artísticas  
e culturais • Debates • Minicursos e Palestras

REALIZAÇÃO:



APOIO:



**24 a 27**  
**setembro**

Campus Universitário Professor Darcy Ribeiro

[www.fepeg.unimontes.br](http://www.fepeg.unimontes.br)

Variáveis	População geral / mucosa normal			Lesões potencialmente malignas			CEB		
	GG (%)	AG (%)	AA (%)	GG (%)	AG (%)	AA (%)	GG (%)	AG (%)	AA (%)
<b>Sexo</b>									
Masculino	07 (63.6)	33 (86.8)	27 (67.5)	01 (100.0)	03 (75.0)	13 (65.0)	05 (83.3)	07 (100.0)	09 (75.0)
Feminino	04 (36.4)	05 (13.2)	13 (32.5)	0 (0.0)	01 (25.0)	07 (35.0)	01 (16.7)	0 (0.0)	03 (25.0)
Valor de p *		0.089			0.725			0.357	

\* Analisado pelo teste X2. P-valor significativo <0,05