

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MONTES CLAROS

Osiris José Dutra Martuscelli

ANÁLISE DA PROPORÇÃO 2D:4D EM PACIENTES COM CARCINOMA  
ORAL DE CÉLULAS ESCAMOSAS

Montes Claros, Minas Gerais  
Abril de 2018

Osiris José Dutra Martuscelli

ANÁLISE DA PROPORÇÃO 2D:4D EM PACIENTES COM CARCINOMA ORAL DE  
CÉLULAS ESCAMOSAS

Dissertação de Mestrado Profissional apresentada ao Programa de Pós-graduação em Cuidado Primário em Saúde da Universidade Estadual de Montes Claros, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Cuidado Primário em Saúde.

Área de Concentração: Clínica, diagnóstico e terapêutica das doenças.

Orientador: Prof. Dr. Hercílio Martelli Júnior

Co-orientadora: Profa. Dra. Patrícia Helena Costa Mendes

Montes Claros, Minas Gerais  
Abril de 2018

M375a Martuscelli, Osiris José Dutra.  
Análise da proporção 2D:4D em pacientes com carcinoma oral de células escamosas [manuscrito] / Osiris José Dutra Martuscelli. – 2018.  
62 f. : il.

Inclui Bibliografia.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual de Montes Claros - Unimontes,  
Programa de Pós-Graduação em Cuidado Primário em Saúde/PPGCPS, 2018.

Orientador: Prof. Dr. Hercílio Martelli Júnior.

Coorientadora: Profa. Dra. Patrícia Helena Costa Mendes.

1. Proporção 2D:4D. 2. Neoplasias bucais. 3. Hormônios esteroidais gonadais. I. Martelli Júnior, Hercílio. II. Mendes, Patrícia Helena Costa. III. Universidade Estadual de Montes Claros. IV. Título. V. Título.

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MONTES CLAROS

Reitor: Professor Antônio Alvimar Souza

Vice-Reitora: Professora Ilva Ruas de Abreu

Pró-reitor de Pesquisa: Professor José Reinaldo Mendes Ruas

Coordenadoria de Acompanhamento de Projetos: Professora Virgílio Mesquita Gomes

Coordenadoria de Iniciação Científica: Professor Sônia Ribeiro Arrudas

Coordenadoria de Inovação Tecnológica: Professora Sara Gonçalves Antunes de Souza

Pró-reitor de Pós-Graduação: Professor André Luiz Sena Guimarães

Coordenador de Pós-Graduação Stricto sensu: Professora Maria de Fátima Rocha Maia

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CUIDADO PRIMÁRIO EM SAÚDE

Coordenador: Antônio Prates Caldeira

Coordenadora Adjunta: Simone de Melo Costa



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MONTES CLAROS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CUIDADO PRIMÁRIO EM SAÚDE



CANDIDATO: OSIRIS JOSÉ DUTRA MARTUSCELLI

TÍTULO DO TRABALHO: "Análise da Proporção 2D/4D em Pacientes com Carcinoma Oral de Células Escamosas"

ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: Aspectos Clínicos dos Cuidados em Saúde

LINHA DE PESQUISA: Clínica, Diagnóstico e Terapêutica das Doenças

**BANCA (TITULARES)**

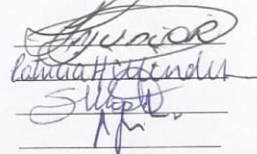
PROF. DR. HERCÍLIO MARTELLI JÚNIOR (ORIENTADOR/PRESIDENTE)

PROFª. DRª PATRÍCIA HELENA COSTA MENDES (COORIENTADORA)

PROFª DRª SIMONE DE MELO COSTA

PROF. DR. ANTÔNIO LUIZ BARBOSA PINHEIRO

ASSINATURAS



**BANCA (SUPLENTES)**

PROF. DR. LUIS ANTÔNIO NOGUEIRA SANTOS

PROFª. DRª. SHIRLENE BARBOSA PIMENTEL FERREIRA

ASSINATURAS

\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

APROVADO

REPROVADO

Centro de Ciências Biológicas e da Saúde - CCBS

<http://www.unimontes.br> / [mestrado.cuidadosprimarios@unimontes.br](mailto:mestrado.cuidadosprimarios@unimontes.br)

Telefone: (0xx38) 3229-8292

Av. Rui Braga, s/n, Vila Mauricéia - Montes Claros - MG, Brasil - Cep: 39401-089

A Érika Fernanda Sales Martuscelli, minha esposa, que além do exemplo de determinação, me fez continuar nos momentos em que mais fraquejei. A você dedico este trabalho!

## AGRADECIMENTOS

Ao meu Deus, o Deus de Israel, minha fortaleza, meu caminho diante das dificuldades e pelas inúmeras bênçãos que tem derramado sobre a minha vida.

A Nossa Senhora de Fátima, mãe santíssima, em todas as horas comigo!

A minha família, pai, mãe, irmãos, filhos e, em especial, minha esposa que foi a pessoa que mais me incentivou nesta caminhada, agradeço por não me deixar desistir em nenhum momento.

Ao Professor Hercílio Martelli Júnior, meu orientador, referência acadêmica regional e nacional em pesquisa científica. Sem dúvida, uma das pessoas que mais impulsionou o desenvolvimento científico desta região.

Ao meu colega de bloco cirúrgico Dr. Cláudio Marcelo, por todo o seu auxílio na condução deste trabalho e pela troca de experiências durante este período.

À Dra. Patrícia Helena Costa Mendes, minha co-orientadora, pela sua gigantesca contribuição no processo de condução deste trabalho.

Ao aluno de iniciação científica, da Universidade Estadual de Montes Claros, João Vítor Tonelli, por ter estado presente em todas as etapas deste trabalho. Obrigado pela sua inestimável ajuda!

Ao Hospital Dilson Godinho, minha segunda casa há quatorze anos; à Santa Casa de Montes Claros e à Secretaria Municipal de Saúde de Montes Claros por permitirem à realização deste trabalho em suas dependências.

Aos pacientes oncológicos do Hospital Dílson Godinho e da Santa Casa de Montes Claros, muito obrigado por consentirem a realização desta pesquisa e, ainda, por nos ensinarem tanto com seus exemplos de fé, esperança e superação!

Às Faculdades Integradas Pitágoras, por proporcionar, em parceria com a Universidade Estadual de Montes Claros, a realização do Mestrado Profissional em Cuidado Primário em Saúde.

*“Eu não sou quem eu gostaria de ser; eu não sou quem eu poderia ser, ainda, eu não sou quem eu deveria ser. Mas graças a Deus eu não sou mais quem eu era!”*

*(Martin Luther King Jr.)*



## RESUMO

A proporção 2D:4D (razão entre o comprimento do dedo indicador em relação ao comprimento do dedo anelar) há mais de duas décadas tem sido utilizada como um marcador de comportamento humano, de características psicológicas e susceptibilidade a várias doenças, inclusive neoplasias malignas. A diferença entre o segundo e o quarto dedo das mãos é um reflexo da exposição intrauterina a hormônios sexuais, especialmente a estrógeno e testosterona. Na diferenciação dos dedos no período pré-natal também atuam genes que são importantes no desenvolvimento de órgãos e mutações nesses genes estão relacionadas à carcinogênese oral. Este trabalho, de delineamento caso-controle, propôs investigar a associação entre a proporção 2D:4D e a presença de carcinoma oral de células escamosas, além de verificar a existência de um padrão 2D:4D em indivíduos que apresentam essa condição. Participaram deste estudo 30 indivíduos com diagnóstico de carcinoma oral de células escamosas, assistidos pelo ambulatório de oncologia do Hospital Dilson Godinho e da Santa Casa de Montes Claros, Minas Gerais, Brasil e um grupo controle formado por 30 sujeitos, clinicamente normais, pareados por gênero, idade e que apresentavam hábitos tabagistas e etilistas semelhantes ao grupo com a doença. A coleta de dados envolveu a medição dos comprimentos dos dedos indicador e anelar de ambas as mãos, utilizando-se um paquímetro digital e as médias 2D:4D foram comparadas entre os dois grupos. A diferença entre a proporção da mão direita em relação à mão esquerda também foi obtida (DR-L). Inicialmente, foram conduzidas análises estatísticas univariadas, a fim de descrever as frequências das características gerais das amostras e as médias das proporções 2D:4D nos grupos. Em seguida, para comparar as médias das proporções entre os grupos, foi utilizado o Teste T de *Student* para amostras independentes. Todas as análises estatísticas foram realizadas utilizando o Programa *Statistical Package for the Social Sciences* (SPSS<sup>®</sup>) versão 19.0 para Windows<sup>®</sup>, adotando-se uma significância de 5%. Dos 30 indivíduos em cada grupo, 25 (83%) eram homens e 5 (17%) mulheres. As médias 2D:4D foram mais elevadas no grupo de pacientes com câncer oral em comparação ao grupo controle, especialmente para a mão direita (0,975 e 0,957, respectivamente,  $p=0,07$ ). Quando comparado por gênero, homens com a doença apresentaram médias 2D:4D da mão direita mais elevadas em relação a homens saudáveis (0,980 e 0,959,  $p=0,04$ , respectivamente). Este estudo reforça a relação entre 2D:4D como um possível biomarcador associado ao câncer oral, sugerindo que a exposição intrauterina a estrógenos fetais poderia representar um fator de risco para essa doença de etiologia multifatorial.

Palavras-chaves: 2D:4D. Neoplasias bucais. Hormônios esteroidais gonadais.

## ABSTRACT

The 2D:4D proportion (ratio between the length of the index finger relative to the length of the ring finger) for more than two decades has been used as a marker of human behavior, psychological characteristics and susceptibility to various diseases, including malignant neoplasms. The difference between the second and the fourth finger of the hands is a reflection of the intrauterine exposure to sexual hormones, especially estrogen and testosterone. In the differentiation of the fingers in the prenatal period also act genes that are important in the development of organs and mutations in these genes are related to oral carcinogenesis. This work, of case-control design, proposed to investigate the association between the 2D:4D ratio and the presence of squamous cell carcinoma, in addition to verifying the existence of a 2D:4D pattern in individuals presenting this condition. Participated in this study 30 individuals affected by oral squamous cell carcinoma, assisted by the oncology clinic of the Dilson Godinho Hospital and the Santa Casa Hospital from Montes Claros, Minas Gerais, Brazil and a control group formed by 30 subjects, clinically normal, paired by gender, age and that presented smokers and ethylic habits similar to the group with the disease. The data collection involved measuring the lengths of the index finger and ring of both hands, using a digital caliper and 2D:4D averages were compared between the two groups. The difference between the right hand ratio in relation to the left hand was also obtained (DR-L). Initially, univariate statistical analyses were conducted in order to describe the frequencies of the general characteristics of samples and the averages of 2D:4D in groups. Then, to compare the averages of the proportion between the groups, the Student's T-test was used for independent samples. All statistical analyses were conducted using the Statistical Package for the Social Sciences (SPSS®) version 19.0 for Windows®, adopting a significance of 5%. Of the 30 individuals in each group, 25 (83%) were men and 05 (17%) women. The 2D:4D means were higher in the group of oral cancer patients compared to the control group, especially for the right hand (0.975 and 0.957, respectively,  $p=0.07$ ). When compared by gender, men with cancer presented right 2D:4D higher than healthy men (0.980 and 0.959,  $p=0.04$ , respectively). This study reinforces the relationship, built upon previous studies, between 2D:4D as a likely biomarker associated with oral squamous cells carcinoma, suggesting that intrauterine exposure to fetal estrogens could be a likely risk factor for this multifactorial disease.

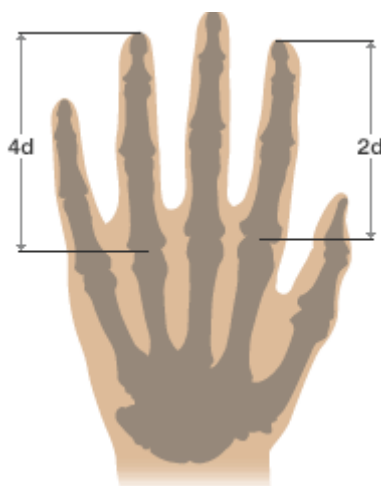
Keywords: 2D:4D. Oral neoplasms. Gonadal Steroid hormones.

## SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO .....	11
2 REVISÃO DE LITERATURA .....	14
2.1 Proporção 2D:4D.....	14
2.2 Proporção 2D:4D e neoplasias malignas.....	18
2.2.1 Características gerais do carcinoma oral de células escamosas e relação com a proporção 2D:4D.....	18
3 OBJETIVOS .....	22
3.1 Objetivo geral .....	22
3.2 Objetivos específicos .....	22
4 METODOLOGIA.....	23
5 PRODUTO .....	28
5.1 Artigo Científico: <i>Association between hand digit ratio (2D:4D) and oral squamous cell carcinoma</i> .....	30
6 CONCLUSÕES.....	46
7 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	47
REFERÊNCIAS .....	48
APÊNDICE A – Instrumento de coleta de dados.....	52
APÊNDICE B – Termo de consentimento livre e esclarecido para participação em pesquisa – Projeto: Análise da proporção 2D:4D em pacientes com carcinoma oral de células escamosas.....	54
ANEXO A - Parecer favorável do Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Estadual de Montes Claros - Projeto: Análise da proporção 2D:4D em pacientes com neoplasias malignas.....	56

## 1 INTRODUÇÃO

Comprimento digital ou proporção 2D:4D representa a razão entre o comprimento do segundo dedo das mãos (2D - dedo indicador) em relação ao comprimento do quarto dedo (4D – dedo anelar), (Figura 1) e tem sido considerada como um marcador biológico para estudar características comportamentais, psicológicas e a susceptibilidade de indivíduos a várias doenças (HOPP; JORGE, 2011).



**Figura 1:** Proporção 2D:4D – Razão entre o comprimento do dedo indicador em relação ao comprimento do dedo anelar.

**Fonte:** <http://www.fingerlengthdigitratio.wordpress.com>

A proporção 2D:4D reflete uma importante característica: a exposição pré-natal a hormônios sexuais, notadamente à testosterona e ao estrógeno, que por sua vez estão associados à etiologia de doenças cujo aparecimento ocorre na vida adulta (MANNING *et al.*, 1998). A razão 2D:4D é negativamente correlacionada à testosterona pré-natal (TP) e positivamente ao estrógeno pré-natal (EP) (LUTCHMAYA *et al.*, 2004).

Estudos relacionados à temática 2D:4D, consideram a relação estabelecida tanto na mão direita, quanto na esquerda (R - *Right(direita)* 2D:4D ou R2D:4D e L - *Left(esquerda)* 2D:4D ou L2D:4D) (MANNING; BUNDRED, 2000). A maioria das pesquisas avalia apenas a mão direita devido a evidências de que esta apresenta maior responsividade aos hormônios sexuais, quando comparado à mão esquerda (HÖNEKOPP; WATSON, 2010). Recentes pesquisas têm buscado avaliar um marcador secundário: DR-L ou  $\Delta R-L$ , que corresponde à diferença entre as proporções da mão

direita e esquerda refletindo a sensibilidade aos hormônios sexuais, sendo proposto que baixo DR-L está associado a uma maior exposição à testosterona intrauterina e, conseqüentemente, à menor exposição ao estrogênio (MCINTYRE, 2006; BREEDLOVE, 2010).

Genes que atuam na formação e diferenciação dos dedos como os genes da família Homeobox (*HOX*) (MANNING *et al.*, 2003), notadamente o *HOXB2*, *HOXB7* e *HOXB13* (SOUZA-SETUBAL *et al.*, 2010), *AR* e *LIN28b* também estão relacionados a gênese do carcinoma oral de células escamosas (MEDLAND *et al.*, 2010; CHIEN *et al.*, 2015). Deste modo, sendo a proporção 2D:4D um marcador para atividade desses genes, é possível que o comprimento digital também seja preditor para o desenvolvimento deste tipo de tumor, o que sugere que tal condição possa estar relacionada aos efeitos da exposição intrauterina aos hormônios sexuais.

A partir dessa premissa, este estudo pretendeu investigar a relação entre a proporção 2D:4D e carcinoma oral de células escamosas, a fim de averiguar a existência de um padrão digital específico relacionado a essa condição, o que evidenciaria a razão 2D:4D como marcadora para tal situação.

A hipótese deste trabalho refere-se a: indivíduos diagnosticados com carcinoma oral de células escamosas possuem um padrão digital diferente de indivíduos que não manifestam a neoplasia, sendo este padrão ainda desconhecido, uma vez que há poucos estudos realizados investigando esta possível associação.

Este estudo se justifica uma vez que ainda existe um vasto campo a ser explorado pelas pesquisas envolvendo a proporção 2D:4D, sobretudo relacionado à susceptibilidade a doenças, tendo em vista que o ambiente hormonal intrauterino está associado à etiologia de várias condições. Destaca-se a expressiva quantidade de genes que atuam concomitantemente no desenvolvimento dos dedos e em diversos processos patogênicos relacionados à oncogênese.

Em relação à associação entre o comprimento digital e carcinoma oral de células escamosas, este estudo se faz oportuno por colaborar para a validação de um marcador simples e de fácil mensuração para tal neoplasia, visto que ainda existem lacunas na

literatura relacionadas a essa temática. Além disso, uma vez que o tumor de boca possui elevada prevalência e apresentam bom prognóstico quando detectado precocemente com reduzida morbidade, a elucidação de um novo preditor poderá prover uma ferramenta adicional de rastreamento para diagnóstico precoce e base para orientações de mudanças no estilo de vida de pacientes sob risco de desenvolver tal neoplasia.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Proporção 2D:4D

Ecker (1875) reportou pela primeira vez que os dedos anelar e indicador podem apresentar três padrões de simetria aproximada – o dedo indicador pode ser maior do que o dedo anelar ( $2D > 4D$  ou  $2D:4D$  alto) e vice-versa ( $2D < 4D$  ou  $2D:4D$  baixo) ou ambos podem ter comprimentos similares ( $2D = 4D$ ), contrariando observações anteriores de que os dedos sempre apresentavam o mesmo padrão de simetria, com o dedo anelar maior do que o indicador abrindo um campo para o entendimento da razão desta relação (HOPP, 2010).

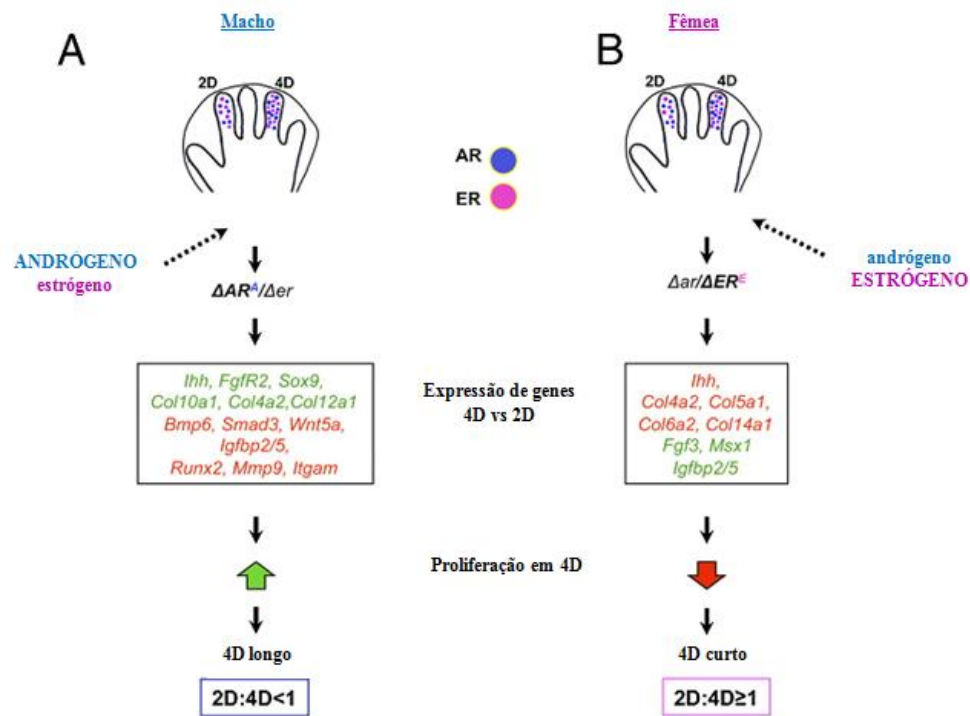
Sabe-se que a proporção entre os dedos indicador e anelar é estabelecida na 13ª semana de gestação (GARN *et al.*, 1975) e representa uma característica individual, refletindo a exposição aos hormônios sexuais durante a gestação (MANNING *et al.*, 1998; LUTCHMAYA *et al.*, 2004). Além disso, a proporção 2D:4D não está relacionada às concentrações de hormônios sexuais presentes na circulação sanguínea e na saliva do adulto, o que implica que o comprimento digital reflete rigorosamente a exposição hormonal (HÖNEKOPP *et al.*, 2007).

Zheng e Cohn (2011) esclareceram o mecanismo de desenvolvimento dos dedos no qual andrógenos e estrógenos regulam uma rede de genes controladores da proliferação dos condrócitos. Este estudo, realizado em animais, confirmou que a proporção digital é estabelecida pelo equilíbrio entre a exposição e sensibilidade aos hormônios estrógeno e testosterona, sendo comandados pela atividade de 19 genes (Em ordem alfabética: *BMP6*, *COL4A2*, *COL5A1*, *COL6A2*, *COL10A1*, *COL12A1*, *COL14A1*, *FGF3*, *FGFR2*, *IGFBP2*, *IGFBP5*, *IHH*, *ITGAM*, *MMP9*, *MSX1*, *RUNX2*, *SMAD3*, *SOX9*, *WNT5A*).

Tais genes influenciam a sensibilidade dos receptores celulares de andrógenos (*AR*) e estrógeno (*ER*), de modo a aumentar sua expressão (para os *ER*) ou diminuí-la (para *AR*). O equilíbrio entre a exposição aos dois hormônios sexuais gera diferenças na proporção

entre os dedos anelar e indicador, correlacionada negativamente à exposição à testosterona e positivamente à expressão ao estrógeno. Assim, quanto maior for a exposição ao andrógeno, maior será o dedo anelar em relação ao dedo indicador, diminuindo a proporção digital. O contrário é verdadeiro, quanto maior for a exposição ao estrógeno, isto é, dedo anelar menor que o dedo indicador, maior a proporção digital (ZHENG; COHN, 2011).

Zheng e Cohn (2011) observaram ainda um maior número de receptores de andrógeno e estrógeno em 4D quando comparado a 2D, e que a ativação dos condrocitos acontece principalmente sobre as falanges proximal e média de 4D. Devido a esta influência, a razão 2D:4D apresenta dimorfismo sexual, em que homens tendem a apresentar baixa proporção 2D:4D e mulheres tendem a apresentar proporção aproximadamente igual entre os dois dedos ou o indicador levemente maior que o anelar (Figura 2).

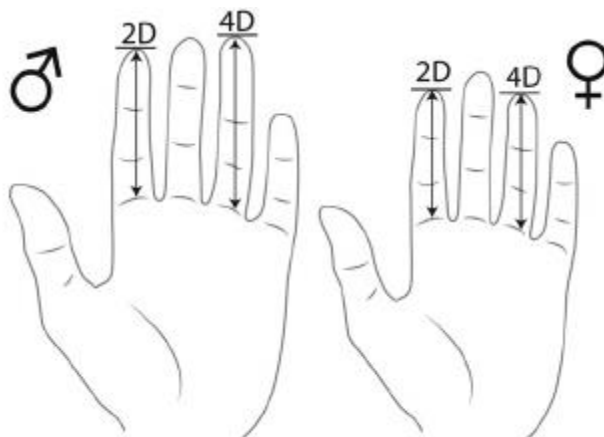


**Figura 2** – Base do desenvolvimento da proporção 2D:4D e elucidação do dimorfismo sexual. Receptores de andrógenos (AR – círculo azul) e receptores de estrógenos (ER – círculo rosa) estão presentes em dedos de embriões machos e fêmeas, com maiores níveis observados em 4D. **A)** Em machos, os dedos estão expostos a maiores concentrações de andrógenos (testosterona) e baixos níveis de estrógenos, que resulta na ativação dos AR ( $AR^A$  representa o limite de androgênios para AR). Alta atividade de AR e baixa atividade de ER ( $\Delta AR^A/\Delta er$ ), em machos, leva a diferentes perfis de expressão gênica em 4D relativo a 2D (verde indica genes ativados e vermelho indica genes desativados em 4D). Desta forma, a proliferação dos condrocitos é aumentada na falange proximal de 4D, que resulta no alongamento de 4D em relação a 2D, levando a uma proporção 2D:4D mais baixa. **B)** Em fêmeas, os dedos são expostos a altos níveis de estrógeno e baixos níveis de andrógenos, levando à ativação de  $ER^E$ . Baixa atividade de AR e alta de ER ( $\Delta ar/\Delta ER^E$ ) induz um perfil de expressão oposto de genes esqueléticos de 4D em relação a 2D (indicados por nomes em verde e vermelho). Altos níveis de ER ativados causam diminuição da proliferação



dos condrócitos na falange média de 4D, que reduz o crescimento relativo a 2D, resultando em uma proporção 2D:4D mais alta. **Fonte:** Adaptado de Zheng e Cohn, 2011.

O dimorfismo sexual característico da razão 2D:4D pode ser observado aos dois anos de idade e mantém-se inalterado independente da faixa etária, mesmo que comprimento digital sofra alteração durante o período de crescimento humano (Figura 3)(MCINTYRE *et al.*, 2005; GILLAM *et al.*, 2008).



**Figura 3:** Mãos adultas humanas indicando o dimorfismo sexual da proporção 2D:4D. **Fonte:** Dean e Sharpe, 2013.

O comprimento digital pode ser influenciado também pelos genes da família Homeobox (*HOX*), principalmente os grupos de genes *HOXA* e *HOXD*(MANNING *et al.*, 2003). Esses genes, além de contribuírem para o desenvolvimento e diferenciação dos dedos, atuam no controle do crescimento celular de vários órgãos do organismo humano (KONDO *et al.*, 1997).

Desde 1998, diferentes métodos têm sido empregados para a aferição da proporção 2D:4D. As formas mais utilizadas pelos pesquisadores referem-se ao método direto, realizado por meio de paquímetros convencionais ou digitais, régua milimetrada diretamente sobre as mãos dos indivíduos ou a forma indireta, a partir da obtenção de imagens fotografadas ou escaneadas das mãos e, posterior, análise do comprimento dos

dedos, por meio de régua, paquímetro ou *softwares* de computador (MANNING *et al.*, 2005).

O método de análise da proporção 2D:4D, proposto por Manning (MANNING *et al.*, 1998), tem sido amplamente utilizado como um biomarcador não invasivo e retrospectivo da exposição hormonal pré-natal. Sua importância está ligada ao fato de que a ação de tais hormônios se relaciona à etiologia de várias doenças ou condições (HOPP, 2010), sendo a razão 2D:4D um fator preditivo para várias situações, podendo ser utilizada no diagnóstico, prognóstico e em intervenções precoces de estilo de vida que podem retardar o aparecimento da doença ou facilitar a sua detecção precoce (MANNING; BUNDRED, 2000).

## 2.2 Proporções 2D:4D e neoplasias malignas

Um importante e recente campo que tem sido explorado na pesquisa sobre 2D:4D refere-se à sua correlação com diferentes tipos de cânceres, apontando o comprimento digital como um marcador para o risco, prevalência e severidade de diversas neoplasias (HOPP *et al.*, 2014).

Em geral, a plausibilidade da relação 2D:4D *versus* câncer baseia-se em duas premissas. A primeira é que a exposição hormonal pré-natal tem sido implicada na etiologia de inúmeros cânceres (POTISCHMAN *et al.*, 2005), e a segunda, refere-se à ação concomitante de genes que atuam tanto no controle e na diferenciação dos dedos no período intrauterino, como em eventos relacionados à carcinogênese de diversos tumores, principalmente àqueles que mostram diferenças sexuais em relação à ocorrência, progressão e prognóstico (HOPP; JORGE, 2012).

Até o presente momento, os tipos de câncer que já foram correlacionados à razão 2D:4D foram: câncer gástrico (HOPP *et al.*, 2013; SHENG *et al.*, 2016; GONÇALVES *et al.*, 2017), colorretal (HOPP *et al.*, 2015), oral (HOPP; JORGE, 2011; SARODE *et al.*, 2014), mama (MANNING; LEINSTER, 2001; MULLER *et al.*, 2012; HONG *et al.*, 2014; MENDES *et al.*, 2016a) e próstata (RAHMAN *et al.*, 2011; JUNG *et al.*, 2011; HOPP; JORGE, 2012; WATERS *et al.*, 2013; MENDES *et al.*, 2016b).

### 2.2.1 Características gerais do carcinoma oral de células escamosas e a relação com a proporção 2D:4D

No mundo, 10% dos tumores malignos e aproximadamente 40% dos cânceres da cabeça e pescoço ocorrem na cavidade oral (SCULLY; BAGAN, 2009). No Brasil, foram estimados 11.140 casos novos em homens e 4.350 casos em mulheres para o ano de 2016 (INCA, 2016).

O carcinoma oral de células escamosas, também denominado carcinoma epidermóide, carcinoma escamocelular e carcinoma espinocelular, é uma neoplasia maligna que se origina no epitélio de revestimento, sendo considerada a neoplasia maligna mais comum nesta região (BRENER *et al.*, 2007).

O câncer da boca apresenta uma distribuição geográfica variável. Em países da Ásia apresenta-se como o câncer mais comum, associado principalmente a hábitos como mascar bétete (planta originária da Índia) ou tabaco. As mais altas taxas de incidência para o câncer da boca entre homens foram observadas no Baixo-Reno, Somme, Alto-Reno e Calvados na França (40 a 50 casos por 100.000 habitantes), Trivandrum na Índia (38 casos por 100.000 habitantes) e Trieste na Itália (34 casos por 100.000 habitantes). Entre as mulheres, destacam-se as taxas observadas em Madras, Bangalore, Karunagappally, Trivandrum e Bombay, todas localidades na Índia (18 a 28 casos por 100.000 habitantes) e Manila, nas Filipinas, (15 casos por 100.000 habitantes) (SCULLY; BAGAN, 2009).

O câncer da boca é um tumor dos mais incidentes em homens brasileiros, 5,2% do total. Os últimos dados nacionais consolidados para pessoas do sexo masculino apontam para taxas de incidência que atingem 11,27 por 100.000 homens e 4,21 para cada 100.000 mulheres. O câncer da boca é o 4º câncer mais frequente no sexo masculino e o 7º mais frequente no sexo feminino (INCA, 2016).

Além dos fatores genéticos, os principais fatores de risco para o câncer da cavidade oral são: tabagismo, etilismo, infecções por HPV, principalmente pelo tipo 16 e exposição à radiação UVA solar (câncer de lábio). Contudo, entre tais fatores, destaca-se a sinergia entre o tabagismo e o etilismo (MASEREJIAN *et al.*, 2006).

Ressalta-se ainda um aumento no risco de acordo com o tempo que a pessoa fuma, como fuma, o número de cigarros fumados por dia e a frequência de ingestão de bebidas

alcoólicas. A dieta também parece exercer um papel importante na prevenção desse tipo de câncer. As taxas de incidência para câncer de cavidade oral relacionado à infecção pelo HPV, como amígdala, base da língua e orofaringe, vêm aumentando entre a população de adultos jovens em ambos os sexos, sendo que parte desse aumento pode ser em razão de mudanças no comportamento sexual (INCA, 2016).

Lesões consideradas pré-malignas podem preceder o câncer de cavidade oral. Sendo as mais comuns a leucoplasia, a eritroplasia e a eritroleucoplasia. Dos pacientes portadores de leucoplasia mais de 80% são tabagistas e há relação com o número de cigarros consumidos (NAPIER; SPEIGHT, 2008). Polimorfismos gênicos, como no gene *p53* (MISRA *et al.*, 2009) foram descritos levando ao desenvolvimento de displasias epiteliais na mucosa normal por meio de mutações nos queratinócitos (SCULLY; BAGAN, 2009) que muitas vezes acabam evoluindo para o carcinoma espinocelular.

A relação entre o etilismo e os carcinomas espinocelular parece ser independente do tipo de bebida alcoólica consumida, se relacionando com a quantidade ingerida e o tempo de duração do hábito sendo mais deletéria quando o etilismo está associado a deficiências nutricionais com baixo consumo de vitaminas, fibras, frutas e vegetais (MACFARLANE *et al.*, 1995; MCDOWELL *et al.*, 2006).

O etilismo tem efeito sinérgico na etiologia do câncer oral (MASEREJIAN *et al.*, 2006), sendo o risco estimado de desenvolvimento de carcinomas espinocelulares cerca de 50 vezes maior para os etilistas e tabagistas em comparação a pessoas que nunca fumaram ou ingeriram bebidas alcoólicas (CASTELLSAGUÉ *et al.*, 2004).

A plausibilidade para a associação entre a proporção 2D:4D e o carcinoma oral de células escamosas refere-se ao fato de genes envolvidos na diferenciação dos dedos no período fetal também estarem envolvidos em eventos carcinogênicos da boca, como genes da família *HOX*, *AR* e *LIN28b*.

Evidências crescentes apontam para o papel dos genes *HOX* no aparecimento do carcinoma oral de células escamosas. Genes da família *HOXB* são inativos nos tecidos orais normais, com exceção do *HOXB2*, *HOXB7* e do *HOXB13* que possuem uma maior expressão nos carcinomas orais de células escamosas, especialmente para o *HOXB7*

(SOUZA-SETÚBAL *et al.*, 2010). Estes autores reportaram que a diminuição da expressão gênica de *HOXB7 in vitro* diminui a proliferação celular.

HASSAN *et al.* (2006) estudaram os níveis de expressão dos 39 genes que compõem a família *HOX* em 31 amostras de carcinoma espinocelular, 11 displasias epiteliais e 10 amostras de tecido normal e encontraram expressão aumentada em 18 genes nas amostras de carcinoma espinocelular, especialmente para os genes *A1*, *B7*, *B9* e *C8*.

Outro marcador molecular alvo de recente interesse na etiologia do câncer oral de células escamosas é o gene receptor de andrógenos (*AR*). Foi estabelecida uma correlação entre um menor número de sequências poliglutamina (CAG) neste gene e uma maior incidência do câncer de cabeça e pescoço, bem como a correlação entre sequências curtas de poliglutamina - menores ou iguais a 20 repetições – e um pior prognóstico para estes carcinomas (SANTOS *et al.*, 2004; ROSA *et al.*, 2007). Além disso, uma variante do gene *LIN28b*, identificada por estar fortemente associada à proporção 2D:4D (MEDLAND *et al.*, 2010), também está relacionada à carcinogênese do cancer oral de células escamosas (CHIEN *et al.*, 2015).

Deste modo, sendo a proporção 2D:4D um marcador relacionado à atividade desses genes, é possível que o comprimento digital também seja preditor para o desenvolvimento do carcinoma oral de células escamosas, o que sugere que essa condição possa estar relacionada aos efeitos da exposição intrauterina aos hormônios sexuais.

Destaca-se que a etiologia do carcinoma oral de células escamosas ainda não foi totalmente elucidada, principalmente por se tratar de uma condição multifatorial. Um estudo em nível molecular procurou correlacionar o carcinoma oral a eventos genéticos, assim como esclarecer qual o efeito dos fatores etiológicos já conhecidos, além de identificar outros possíveis fatores causadores (SOUZA-SETÚBAL *et al.*, 2010). Além disso, pesquisas envolvendo receptores e marcadores moleculares diversos estão sendo desenvolvidas, porém ainda existe muito a ser explorado para o esclarecimento da etiologia exata desta lesão (CASTELLSAGUÉ *et al.*, 2004). A ação do tabagismo e do etilismo está bem definida, mas acredita-se haver fatores adjuvantes no desenvolvimento desta malignidade, visto que etilistas e tabagistas podem não desenvolver carcinomas

espinocelulares orais ou pessoas que nunca fumaram ou foram etilistas vir a apresentá-lo (SARODE *et al.*, 2014).

A partir dessa premissa, este estudo pretendeu investigar a relação entre a proporção 2D:4D e carcinoma oral de células escamosas, a fim de averiguar a existência de um padrão digital específico relacionado a essa condição, o que evidenciaria a razão 2D:4D como marcadora para essa situação.

### 3 OBJETIVOS

#### 3.1 Objetivo Geral

- Avaliar a proporção 2D:4D em pacientes com carcinoma oral de células escamosas.

#### 3.2 Objetivos específicos

- Verificar a existência de um padrão para a proporção 2D:4D em uma amostra de indivíduos com carcinoma oral de células escamosas.
- Averiguar se o comprimento digital está associado ao carcinoma oral de células escamosas ao comparar as proporções 2D:4D entre indivíduos com e sem a neoplasia maligna.

## 4 MATERIAL E MÉTODO

### 4.1 Delineamento do estudo

Trata-se de um estudo observacional do tipo caso-controle.

### 4.2 Tamanho Amostral

Para estimativa do tamanho amostral foi utilizada uma fórmula específica para cálculo de amostras, cujo objetivo é comparar médias de dois grupos independentes (ARANGO, 2009).

$$n = \frac{(\sigma_1^2 + \sigma_2^2) (z_{\alpha/2} + z_{1-\beta})^2}{(\mu_2 - \mu_1)^2}$$

Em que:

$z_{\alpha/2}$  = Valor z tabelado para determinado nível de confiança.

$z_{1-\beta}$  = Valor z tabelado para o poder do teste.



$\sigma_1$  = desvio padrão da média da população 1.

$\sigma_2$  = desvio padrão da média da população 2.

$\mu_1$  = média da população 1.

$\mu_2$  = média da população 2.

Os valores referentes às médias e desvios-padrões das populações utilizados na fórmula podem ser extraídos de estudos prévios envolvendo populações com características semelhantes ou a partir da realização de estudos pilotos. Neste estudo, as médias e desvios-padrões foram baseados nos resultados de um estudo conduzido por Sarode *et al.* (2014), que compararam médias das proporções 2D:4D da mão direita entre indivíduos com e sem o diagnóstico de carcinoma oral de células escamosas, sendo obtido 0.98 ( $\pm 0.02$ ) e 0.96 ( $\pm 0.02$ ), respectivamente. Com base nesses dados, e considerando um nível de significância de 5% e poder do teste de 80%, este estudo requereu, no mínimo, 16 indivíduos em cada grupo para que os resultados obtivessem poder de inferência.

Participaram deste estudo 30 indivíduos de ambos os gêneros afetados por carcinoma oral de células escamosas assistidos pelo Ambulatório de Oncologia da Santa Casa de Montes Claros e Hospital Dilson Godinho, Minas Gerais, Brasil; e 30 indivíduos clinicamente saudáveis, sem a neoplasia referida (grupo controle), que foram selecionados entre usuários dos serviços públicos de saúde de Montes Claros.

#### 4.3 Critérios de inclusão

- Grupo caso – foram incluídos indivíduos com diagnóstico de carcinoma oral de células escamosas, resultados confirmados por laudo histopatológico e que estavam cadastrados no Ambulatório de Oncologia da Santa Casa de Montes Claros e do Hospital Dilson Godinho.
- Grupo controle – foram incluídos indivíduos saudáveis pareados por gênero, idade e experiências com hábitos tabagistas e etilistas semelhantes ao grupo anterior oriundos de ambulatórios das unidades básicas de saúde do município de Montes Claros/MG.

#### 4.4 Critérios de exclusão

Foram excluídos deste estudo, em relação ao grupo caso, pacientes que possuíam carcinoma oral em lábio, tendo em vista a etiologia desta condição ser preponderantemente devido à exposição solar. Para ambos os grupos, foram excluídos pacientes que apresentaram distúrbios hormonais (dado obtido através de relato do paciente e confirmado em prontuários clínicos), assim como histórico de fraturas nos dedos anelares e indicadores das mãos direita e esquerda.

#### 4.5 Critérios para avaliação dos hábitos tabagista e etilista

Os hábitos tabagista e etilista foram avaliados categorizando-se o indivíduo em três aspectos: nunca ter tido experiência com tabaco ou álcool durante a vida; ter tido experiência anterior (tempo de cessação do hábito num período igual ou anterior a seis meses antes da data da participação nesta pesquisa) e experiência atual, ou seja, estar apresentando o hábito no momento da avaliação na pesquisa. Em relação à frequência dos hábitos, a “experiência”, tanto prévia quanto atual, referiu-se ao uso de 20 cigarros por dia e a ingestão de bebida alcoólica no mínimo três vezes por semana.

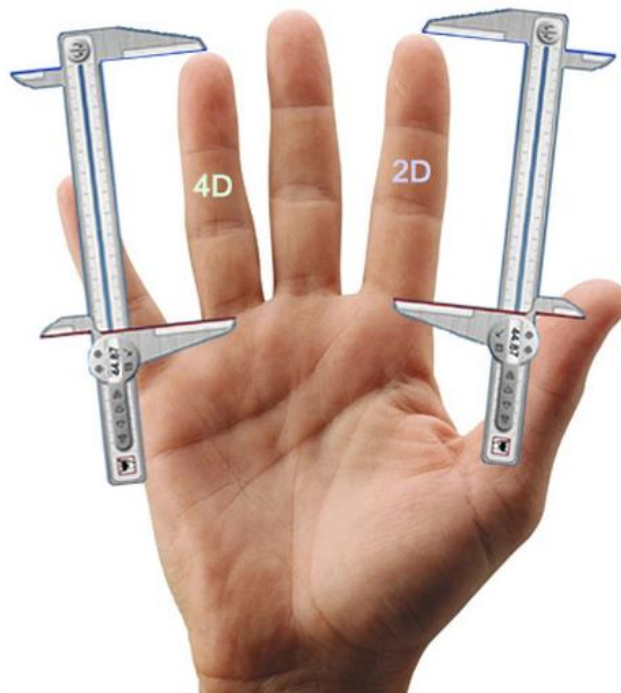
#### 4.6 Coleta de dados:

A coleta de dados envolveu a medição do comprimento em centímetros dos dedos indicadores e anelares das mãos direita e esquerda, por meio de um paquímetro digital, realizada em dois momentos, conforme Instrumento de Coleta de Dados (Apêndice A). A coleta aconteceu nas dependências do Ambulatório de Oncologia da Santa Casa e do Hospital Dilson Godinho e nas Unidades Básicas de Saúde do município de Montes Claros/MG no período de Outubro de 2016 a Junho de 2017. A primeira medição ocorreu na sala de espera dos consultórios clínicos, no momento em que o paciente aguardava para a consulta. A segunda medição foi realizada após a consulta clínica, decorridos cerca de 30 minutos após a primeira. O critério de seleção dos indivíduos para ambos os grupos foi mediante amostragem por conveniência devido à disponibilidade dos pacientes nos ambulatórios.

Foi utilizada a técnica de medição direta mediante a utilização de um paquímetro digital ZAAS Amatoools®, cuja resolução é de 0,01 mm. Este método de análise da proporção 2D:4D apresenta facilidade de uso, reprodutibilidade significativa e baixo custo (JUNG *et al.*, 2010, RIBEIRO *et al.*, 2016). O paquímetro é um instrumento usado para medir com precisão as dimensões de pequenos objetos. Trata-se de uma régua graduada, com encosto fixo, sobre a qual desliza um cursor. O paquímetro possui dois bicos de medição, sendo um ligado à escala e o outro ao cursor.

As medições foram feitas na face palmar das mãos direita e esquerda, com os dedos esticados sobre superfície rígida. Inicialmente, foi realizada no dedo indicador e, posteriormente, no dedo anelar. Conforme mostra a figura 4, um bico do paquímetro foi fixado sobre o ponto médio da depressão palmar mais próxima à palma da mão e o outro bico ligado ao cursor deslizou até a ponta dos dedos, tocando-a suavemente. Este ponto foi tomado como referência para finalizar a medição. Posteriormente, foi calculada a razão 2D:4D, ou seja, dividindo-se o comprimento do dedo indicador (2D) pelo comprimento do dedo anelar (4D). Após as duas medições realizadas para cada indivíduo, foram utilizadas as médias dos dois valores obtidos para cálculo estatístico.

A medição dos dedos foi realizada por três examinadores. Em estudos envolvendo 2D:4D, recomenda-se verificar a concordância intra e inter-examinador a partir do Coeficiente de Correlação Intraclassa (ICC) (VORACEK *et al.*, 2007). Nesta análise, foram verificados ICC para as medidas: 2D, 4D, 2D:4D.



**Figura 4:** Paquímetro posicionado nos pontos de referência para medir a proporção 2D:4D.  
**Fonte:**<http://www.fingerlengthdigitratio.wordpress.com>

Um estudo piloto foi realizado com o objetivo de averiguar a adequabilidade do instrumento de coleta de dados e o manuseio do aparelho de medição. A coleta de dados envolveu também a aplicação de questionários para a obtenção de informações relativas ao gênero, idade e exposição aos fatores de risco para o câncer, considerando os hábitos tabagista e etilista. Para o grupo caso foram obtidas informações quanto à idade do indivíduo no momento do diagnóstico, localização da lesão na cavidade bucal, estadiamento clínico e presença de metástases.

#### 4.7 Análise estatística

Inicialmente, foram conduzidas análises univariadas dos dados, a fim de descrever as frequências das características gerais das amostras e as médias das proporções 2D:4D nos grupos. Em seguida, para iniciar as análises bivariadas, foi verificada a normalidade das distribuições de todas as variáveis adotando-se o Teste Shapiro-Wilk. Para comparar as proporções 2D:4D, foi utilizado o Teste t de *Student*, já que as variáveis apresentaram distribuição normal.

Com o intuito de explorar a significância dos resultados obtidos, além do cálculo do valor  $p$ , analisou-se o tamanho de efeito das associações, conforme preconizado por Manning (2002), ao ressaltar que esse dado acrescenta informação quanto à força da relação entre as variáveis. O tamanho de efeito consiste em uma medida de magnitude padronizada que representa a importância da associação em termos práticos. Uma medida de tamanho de efeito utilizada é o coeficiente  $r$  de correlação de Pearson, que se limita ao intervalo entre 0 (sem efeito) e 1 (efeito perfeito) (FIELD, 2009). Todas as análises estatísticas foram realizadas utilizando o Programa *Statistical Package for the Social Sciences* (SPSS®) versão 19.0 para Windows®, adotando-se uma significância de 5%.

#### 4.8 Aspectos éticos

Este projeto foi desenvolvido de acordo com os preceitos determinados pela resolução 466/2012 do Conselho Nacional de Saúde do Ministério da Saúde. Este projeto faz parte do Projeto Análise da proporção 2D:4D em pacientes com neoplasia maligna, submetido à análise ao Comitê de Ética em Pesquisa da UNIMONTES (parecer consubstanciado nº 311.756/2013). Todos os indivíduos que participaram deste estudo foram devidamente informados a respeito do mesmo, solicitando a assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido para permissão da análise de seus dados.

## 5 PRODUTO

O produto deste trabalho é apresentado no artigo científico:

5.1 Artigo científico: *Association between hand digit ratio (2D:4D) and oral squamous cell carcinoma*

Periódico submetido à publicação: *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, OralRadiology.*

**Association between hand digit ratio (2D:4D) and oral squamous cell carcinoma**

Osiris J. D. Martuscelli<sup>a</sup>, João Vitor Q. Tonelli<sup>b</sup>, Vanessa C. A. Oliveira<sup>c</sup>, Patrícia H. C. Mendes<sup>d</sup>, Daniella R. B. Martelli<sup>e</sup>, Marise Fagundes Silveira<sup>f</sup>, Hercílio Martelli Júnior<sup>g</sup>

<sup>a</sup>MD. Medical Plastic Surgeon. Primary Health Care Program. State University of Montes Claros, Montes Claros, Minas Gerais State, Brazil. E-mail address: osirisjosedutra@bol.com.br

<sup>b</sup>Dental Undergraduate Student. State University of Montes Claros, Montes Claros, Minas Gerais State, Brazil. E-mail address:joaoqtonelli@gmail.com

<sup>c</sup>DDS. State University of Montes Claros, Montes Claros, Minas Gerais State, Brazil. E-mail address: araujodonto@gmail.com

<sup>d</sup>DDS, MSD, PhD. Primary Health Care Program. State University of Montes Claros, Montes Claros, Minas Gerais State, Brazil. E-mail address: patyhcmendes@yahoo.com.br

<sup>e</sup>DDS, MSD, PhD. Health Science Program and Primary Health Care Program. State University of Montes Claros, Montes Claros, Minas Gerais State, Brazil. E-mail address:daniellareismartelli@yahoo.com.br

<sup>f</sup>DDS, MSD, PhD. Department of Exact Sciences, Health Science Program and Primary Health Care Program. State University of Montes Claros, Montes Claros, Minas Gerais State, Brazil. E-mail address: [ciaestatistica@yahoo.com.br](mailto:ciaestatistica@yahoo.com.br)

<sup>g</sup>DDS, MSD, PhD. Health Science Program and Primary Health Care Program. State University of Montes Claros, Montes Claros, Minas Gerais State, Brazil. E-mail address: [hmjunior2000@yahoo.com](mailto:hmjunior2000@yahoo.com)

**Corresponding author:** Patrícia Helena Costa Mendes – Rua Coriolano Gonzaga, number 1240, Zipcode: 39403-215, Montes Claros, Minas Gerais, Brazil. Tel: +55-38-998470021. E-mail address: [patyhcmendes@yahoo.com.br](mailto:patyhcmendes@yahoo.com.br)

**Declarations of interest:** none

**Funding:** This research was carried out with the researchers' own resources

**Abstract word count:** 197

**Manuscript word count:** 2200

**Number of references:** 34

**Number of tables:** 3

**Number of figures:** 1

## ABSTRACT

*Objective:* Digit ratio (2D:4D) has been suggested as a biomarker for prenatal hormones activity and has been linked to several types of neoplasms. This study aimed to investigate the possible correlation between 2D:4D ratios and oral squamous cell carcinoma.

*Study design:* A case-control study was performed with Brazilian subjects. Direct measurements of the lengths of index and ring fingers of both hands of patients with oral cancer (n=30) and controls matched by age, gender, and tobacco and ethanol habits (n=30) were obtained using a digital vernier caliper. Mean ratios between the second and fourth digits were compared. Data were analyzed by Student's *t*-test with a significance level of 5%.

*Results:* The 2D:4D means were higher in the oral squamous cell carcinoma group as compared to the control group, especially to the right 2D:4D (0.9752 and 0.9572,  $p=0.07$ , respectively). When compared by gender, men with cancer presented right 2D:4D higher than healthy men (0.9807 and 0.9598,  $p=0.04$ , respectively).

*Conclusions:* This study reinforces the relationship, built upon previous studies, between 2D:4D as a likely biomarker associated with oral squamous cells carcinoma, suggesting that intrauterine exposure to fetal estrogens could be a likely risk factor for this multifactorial disease.

*Keywords:* Finger ratio; Oral cancer; Gonadal steroid hormones.



## Introduction

The ratio of the length of the second (index) finger to the fourth (ring) finger (known as digit ratio or the 2D:4D ratio) represents an individual difference variable putatively related to prenatal hormonal exposure - a high digit ratio means higher estrogen exposure and a low digit ratio suggests higher testosterone exposure [1,2,3].

The 2D:4D ratio has been used as a marker in studies of behavioral and psychological characteristics and has even been used to determine an individual's propensity to a range of diseases, especially those diseases that show sex differences in their occurrence, progression, and/or prognosis[4].

Approximately 19 genes have been correlated to the formation and differentiation of digit ratios [5] and some of them have been correlated to carcinogenesis, making 2D:4D a marker for the action of these genes and predictive of the susceptibility for several types of cancer, such as oral cancer [6,7], prostate cancer [8,9,10], breast cancer [11,12,13,14], gastric cancer [15,16,17] and colorectal cancer [18].

So, the plausibility of the correlation between 2D:4D and oral cancer refers to the simultaneous action of genes, especially Homeobox (*HOX*), androgen receptor genes (*AR*), and *LIN28B* in differentiation of the digits, as well as in oral carcinogenesis. The 2D:4D ratio is a marker for the activity of these genes, and it is possible that the digital length also is a predictor for the development of oral cancer; this suggests that such a condition might be related to effects of intrauterine exposure to sex hormones [6,7].

Oral squamous cell carcinoma (OSCC) is the most common malignancy of the head and neck (excluding nonmelanoma skin cancer) and accounts for approximately 90% of all oral and oropharyngeal malignancies [19]. In Brazil, 11,140 new cases of oral cavity cancer in men and 4,350 in women were estimated in 2016. These values

correspond to an estimated risk of 11.27 new cases per 100,000 men and 4.21 per 100,000 women [20].

Considering the multifactorial etiology of OSCC and that some individuals manifest the disease without presenting the main risk factors, it is necessary to carry out studies that seek to elucidate other risk factors, primarily those related to the prevention and early identification of the disease. Thus, the aim of this study is to investigate whether 2D:4D is a marker for OSCC in a Brazilian population by comparing 2D:4D ratios among individuals with and without oral cancer.

## **Materials and methods**

### *Samples*

A case-control study was performed between October 2016 and June 2017 with a total of 30 patients with OSCC and 30 healthy controls. Patients with OSCC were recruited from the Oncology Centers of Minas Gerais State, Brazil, and met the following inclusion criteria: having a histopathological diagnosis of OSCC and undergoing treatment at the institutions. Exclusion criteria of both groups involved hormonal changes (data obtained from patient reports and medical records), a history of fractures on fingers of either hand, and, for OSCC group, cases of lip cancer.

After identifying the cases, controls were selected to include patients who were assisted by primary-care physicians in smoking-cessation programs conducted by public health services. The controls were given an oral evaluation and were matched by gender, age, and history of smoking and drinking habits in relation to the OSCC group. All subjects enrolled in this study resided in the same geographical area (northern region of Minas Gerais State). Thus, healthy controls presented similar demographic, ethnic, and sociocultural characteristics compared to the OSCC group. Furthermore, individuals from

both groups primarily used the public health services, a fact that ensures equivalent health assistance and screening practices.

#### *2D:4D ratio*

The lengths of the second (index) and fourth (ring) fingers were measured using digital vernier calipers with a resolution of 0.01 mm. Measurements were taken from the tip of the finger to the basal crease and were repeated two times, with a 30-minute interval between measurements. The second measurement was blind compared to the first. When two creases were visible at the base of the digit, the crease proximal to the palm was chosen. The length of the index finger was divided by the length of the ring finger to obtain the 2D:4D ratio. The analyzed ratio was the mean of the two measurements performed. The right hand minus the left hand 2D:4D was calculated as the difference between the right and left 2D:4D (DR-L) [12].

The measurements were undertaken by a team of three trained researchers. Intraclass correlation coefficients (ICC) were calculated to check intra- and inter-observer reliability of the 2D, 4D, and 2D:4D measurements [20]. Written informed consent was obtained from each subject, and the study was carried out with approval of the Human Research Ethics Committee of University(311.756/2013), following the recommendations of the Helsinki Declaration.

#### *Statistical analysis*

Sample size was calculated according to a specific formula using averages of independent groups [21]. It adopted a significance level of 5% and power of 80%. The mean values and standard deviations used in the sample formula were based on the results of Sarode et al. [7] that compared average 2D:4D among individuals with and without the

disease (0.98 [ $\pm 0.02$ ] and 0.96 [ $\pm 0.02$ ]), respectively. Thus, this study would require at least 16 individuals in each group.

For the analysis of the results, initially, a descriptive statistical analysis was carried out. Next, a Shapiro Wilk test was used to check the distribution of the sample and revealed that right and left 2D:4D and DR-L following a normal distribution. Finally, student's *t*-test for unpaired samples was performed to compare means of 2D:4D ratios among groups using SPSS<sup>®</sup> 19.0 for Windows<sup>®</sup> (IBM SPSS, Armonk, NY USA) with a significance level of 5%.

## Results

Intraclass correlation coefficients (ICC) were calculated to check intra- and inter-observer reliability of the 2D, 4D, 2D4D measurements. Intraobserver reliability was high for all measurements, with ICC greater than 0.98. ICC for interobserver reliability were lower but still adequate (lower value of 0.88). It suggests that the observed variability in digit ratio is due to individual differences rather than measurement error.

The sample comprised 60 individuals divided into two groups matched by gender and age. Of the 30 individuals of both groups, 25 (83%) were males and 5 (17%) females. The age of the individuals in OSCC group ranged from 42 to 92 years (mean  $61.17 \pm 10.48$ ), while in the control group the age ranged from 40 to 95 years (mean  $61.00 \pm 10.41$ ). Characteristics of study population are shown in Table 1. Note that features such as tobacco and ethanol consumption were matched between groups.

Regarding the location of oral cancer in the OSCC Group, 15 (25%) patients presented in the tongue, 8 (13.3%) in the floor of the mouth, 5 (8.3%) in the soft palate, 1 (1.7%) in the hard palate, and 1 (1.7%) in the retromolar trigone. Clinical features of OSCC group at diagnosis are shown in Table 2. Table 3 summarizes the difference of

2D:4D between OSCC and control groups for the whole sample, and for the distribution by gender.

Right hand digit ratios (R2D:4D), left hand digit ratios (L2D:4D), and DR-L were higher in OSCC group than in the control group, especially to right hand. When compared by gender, men with oral cancer presented higher R2D:4D than men without the disease, with a significant difference ( $p < 0.05$ ). The figure 1 shows the distribution variability of the right hand 2D:4D (R2D:4D) means between men with oral cancer and men of control group.

## Discussion

The concurrent action of the *HOX*, *AR*, and *LIN28b* genes in the differentiation of fingers, as well as in oral carcinogenesis, has shown that the 2D:4D ratio can be a putative marker that links these two situations. *HOX* genes play an important role in the formation of the fingers, mainly *HOXA* and *HOXD* [3]; notable, other studies reinforce the role of *HOX* family genes in the onset of OSCC, with a greater expression of *HOXB7* [23]. With respect to *AR* genes, it has been postulated that they are essential for the differentiation of fingers, with *AR* activity higher in digit 4 than in digit 2. This result is decisive for establishing the 2D:4D ratio [5]. Studies have established a correlation between a lower number of polyglutamine (CAG) sequences in this gene and a higher incidence of head and neck cancer, as well as a correlation between short polyglutamine sequences and a worse prognosis for these carcinomas [24]. Medland et al. [25] identified a variant of the *LIN28B* gene, rs314277, which was robustly associated with 2D:4D, while other evidence indicates that *LIN28B* is critically involved in initiation, progression, and overexpression in human OSCC [19,25,26].

In the present study, mean values of 2D:4D for whole sample were higher in the OSCC group compared to the control group. When compared to 2D:4D means in relation to the distribution by gender, we verified that men of OSCC group had higher 2D:4D than men without the disease. These findings corroborate two studies previously conducted that compared 2D:4D in OSCC patients with healthy subjects. The first study was Brazilian research that correlated 2D:4D of 25 patients with OSCC, 25 individuals with oral premalignant lesions, and 25 controls. Individuals in the OSCC group presented with significantly higher 2D:4D ( $0.9700 \pm 0.0551$ ) in comparison with subjects with oral premalignant lesions ( $0.9625 \pm 0.0512$ ) and individuals without oral lesions ( $0.9643 \pm 0.0365$ ). It was concluded that individuals with higher 2D:4D seem to be more prone to malignant transformation of lesions in the oral cavity [6]. The other study was performed by Sarode et al. [7], which included 26 male patients with OSCC and 26 male without the disease. They observed that 2D:4D was significantly higher in the OSCC group ( $0.9855 \pm 0.0262$ ) as compared with the control group ( $0.9605 \pm 0.0216$ ). In Sarode et al.'s study, only individuals without history of tobacco and alcohol consumption were included, resulting in a more specific correlation of genetic aspects of OSCC and 2D:4D.

In the present study, we matched exposure to main risk factors for cancer among individuals in both groups to reduce the influence of these factors in the analysis. Thus, for each subject in the OSCC group, a control of the same gender was selected, close to the same age (range of  $\pm 2$  years), and similar smoking and drinking habits. It was difficult for researchers to achieve this pairing. A solution was to include those in the control group who participated in smoking cessation programs.

It is noteworthy that this study observed a higher digit ratio primarily in the right hand in the OSCC group as compared to the control group, as well as a significant difference in the right hand between men in both groups. Several studies evaluated the

right hand only [6,7,8,9,28,29], a decision that was supported by meta-analysis that showed the right hand might be a better indicator of prenatal androgenization than the left hand [30]. However, other studies that linked 2D:4D and cancer found significant associations with the left hand [12,15,18], which reinforces the importance of evaluating both hands in studies regarding this association.

2D:4D ratio displays differences between races and ethnic groups [4]. The ethnic variation in 2D:4D is of methodological importance, as it implies that ethnicity needs to be assessed and controlled in 2D:4D studies; participants should be carefully matched for ethnicity, or ethnically homogeneous samples should be used for the study. Mendes et al. [10] ratifies that, within this context, it is important to make some remarks about the Brazilian population's race and this should be considered when comparing the Brazilian people with other populations in studies involving 2D:4D ratio. The Brazilian population was derived from three different ancestral roots: Amerindians, Europeans, and Africans. This resulted in a great variability of skin pigmentation, with no discontinuities between black and white skin color[31]. Thus, the race of Brazilian individuals cannot be determined by skin color. The ideal method is to genetically identify the contribution of components of ancestry to characterize the race of the study population. A study concluded that European ancestry is the major contributor to the genetic background of Brazilians [32].

Several techniques are used to evaluate the 2D:4D ratio. We chose the direct technique for measuring the length of fingers using vernier calipers because of its significant reproducibility, low cost, and practicality. Furthermore, the direct technique is more suitable for studies involving small samples [33].

Despite the appropriate sample calculation, the limitation of this study refers to the use of a small sample, not exceeding the samples of studies already published. Even

though, our results reinforce a relationship, build upon previous studies, between 2D:4D as a likely putative biomarker associated with OSCC, showing that high 2D:4D could be associated with higher intrauterine exposure to estrogens, which in turn could increase the risk of oral cancer.

The elucidation of a new risk factor for this disease contributes to the investigation of its multifactorial etiology and the identification of a physical and easily accessible marker; it could contribute to the screening of patients at risk to develop this malignance. Speight et al. [34] ratifies the importance of performing screening tests for oral cancer as a public health measure, applied to people who are free of disease as a strategy for early identification of lesions or conditions that favor the development of the disease.

For oral cancer, the association with 2D:4D is still incipient in view of the low number of published studies. Further research is needed in different populations, with larger samples and control of the risk factors for the disease, in order to confirm this correlation.

## References

- [1] J.T. Manning, D. Scutt, J. Wilson, D.I. Lewis-Jones, The ratio of 2nd to 4th digit length: a predictor of sperm numbers and concentrations of testosterone, luteinizing hormone and oestrogen, *Hum. Reprod.* 13 (1998) 3000–3004.
- [2] J.T. Manning, P.E. Bundred, B.F. Flanagan, The ratio of 2nd to 4th digit length: a proxy for transactivation activity of the androgen receptor gene?, *Med. Hypotheses.* 59 (2002) 334–336.



- [3] J.T. Manning, M. Callow, P.E. Bundred, Finger and toe ratios in humans and mice: implications for the aetiology of diseases influenced by HOX genes, *Med. Hypotheses*. 60 (2003) 340–343.
- [4] J.T. Manning. *Digit ratio: a pointer to fertility, behavior, and health*. Rutgers University Press, New Jersey. 2002.
- [5] Z. Zheng, M.J. Cohn, Developmental basis of sexually dimorphic digit ratios, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 108 (2011) 16289–16294.
- [6] R.N. Hopp, J. Jorge, Right hand digit ratio (2D:4D) is associated with oral cancer, *Am. J. Hum. Biol.* 23 (2011) 423–425.
- [7] S.C. Sarode, G.S. Sarode, R. Anand Right hand digit ratio (2D:4D) in non-tobacco and/or non-alcohol habit related oral squamous cell carcinoma, *J. Oral. Maxillofac. Surg. Med. Pathol.* 24 (2014) 89–91.
- [8] H. Jung, K.H. Kim, S.J. Yoon, T.B. Kim, Second to fourth digit ratio: a predictor of prostate-specific antigen level and the presence of prostate cancer, *BJU. Int.* 107 (2011) 591–596.
- [9] A.A. Rahman, A. Lophatananon, S. Stewart-Brown, D. Harriss, J. Anderson, T. Parker, D. Easton, Z. Kote-Jarai, R. Pocock, D. Dearnaley, M. Guy, L. O'Brien, R.A. Wilkinson, A.L. Hall, E. Sawyer, E. Page, J.F. Liu, Hand pattern indicates prostate cancer risk, *Br. J. Cancer*. 104 (2011) 175–177.
- [10] P.H.C. Mendes, D.R.B. Martelli, S.M. Costa, E. Gonçalves, C.P. Macedo, M.F. Silveira, H. Martelli Júnior, Comparison of digit ratio (2D:4D) between Brazilian men with and without prostate cancer, *Prostate Cancer Prostatic Dis.* 19(2016) 107–110.
- [11] J.T. Manning, S. Leinster, The ratio of 2nd to 4th digit length and age at presentation of breast cancer: a link with prenatal oestrogen, *Breast*. 22 (2001) 61–69.

- [12] D.C. Muller, L. Baglietto, J.T. Manning, C. McLean, J.L. Hopper, D.R. English, G.G. Giles, G. Severi, Second to fourth digit ratio (2D:4D), breast cancer risk factors, and breast cancer risk: a prospective cohort study, *Br. J. Cancer.* 107 (2012) 1631–1636.
- [13] L. Hong, M. Zhan-Bing, S. Zhi-Yun, S. Xiao-Xia, Z. Jun-Li, H. Zheng-Hao, Digit ratio (2D:4D) in Chinese women with breast cancer, *Am. J. Hum. Biol.* 26 (2014) 562–564.
- [14] P.H.C. Mendes, A.C. Gomes, P.B. Soares, E. Gonçalves, C. Macedo, M. Silveira, D.R. Martelli, L.M.R. Paranaíba, H. Martelli Júnior, Digit ratio (2D:4D) is associated with breast cancer, *Int. J. Cancer. Ther. Oncol.* 4 (2016) 438.
- [15] R.N. Hopp, N.C. Souza Lima, J.L.F. Filho, M.S. Filho, C.S. Lima, J. Jorge, Digit ratio (2D:4D) is associated with gastric cancer, *Early Hum. Dev.* 89 (2013) 327–329.
- [16] Y. Sheng, W. Qian, L. Wang, Z. Huo, H. Lu, H. Yu, Z. Geng, P. Cheng, Decreased digit ratio (2D:4D) and gastric cancer in Chinese men, *Early Hum. Dev.* 103 (2016) 109–112.
- [17] E. Gonçalves, G.G.V. Veloso, L.M. Paranaíba, P.H. Mendes, D.R. Martelli, M.F. Silveira, H. Martelli Júnior, Hand digit ratio (2d:4d) and gastric cancer risk: a cross-sectional study among southeastern Brazilians, *J. Xiangya. Med.* 2 (2017) 1–5.
- [18] R.N. Hopp, Lima NCDS, J.L.F. Filho, M.S. Filho, J. Jorge, Digit ratio is associated with colorectal cancer, *J. Gastrointest. Dig. Syst.* 5 (2015) 1000253.
- [19] A.C. Chien, T.A. Day, B.W. Neville, Oral cavity and oropharyngeal squamous cell carcinoma—an update, *CA. Cancer. J. Clin.* 65 (2015) 401–421.
- [20] National Cancer Institute. Estimate 2015: Incidence of Cancer in Brazil. NationalCancerInstitute José Alencar Gomes da Silva: Rio de Janeiro, Brazil, 2015.

- [21] M. Voracek, J.T. Manning, S.G. Dressler, Repeatability and interobserver error of digit ratio (2D:4D) measurements made by experts, *Am. J. Hum. Biol.* 19 (2007) 142–146.
- [22] Arango H.G. *Biostatistics—theoretical and computational*. Nova Guanabara, Rio de Janeiro, Brazil, 2009.
- [23] M.F. De Souza-Setúbal Destro, C.C. Bitu, K.G. Zecchin, E. Graner, M.A. Lopes, L.P. Kowalski, R.D. Coletta, Overexpression of HOXB7 homeobox gene in oral cancer induces cellular proliferation and is associated with poor prognosis, *Int. J. Oncol.* 36 (2010) 141–149.
- [24] F.E. Rosa, R.M. Santos, R.C. Poli-Frederico, R.A. Canevari, I.N. Nishimoto, J. Magrin et al., Shorter CAG repeat length in the AR gene is associated with poor outcome in head and neck cancer, *Arch. Oral. Biol.* 52 (2007) 732–739.
- [25] S.E. Medland, T. Zayats, B. Glaser, D.R. Nyholt, S.D. Gordon, M.J. Wright, A variant in LIN28B is associated with 2D:4D finger-length ratio, a putative retrospective biomarker of prenatal testosterone exposure, *Am. J. Hum. Genet.* 86 (2010) 519–525.
- [26] D. Wang, Y. Zhu, T. Wang, Z. Li, C. Yuan, W. Zhang, H. Yuan, J.Y.J. Yang, H. Jiang, J. Cheng, The pluripotency factor LIN28B is involved in oral carcinogenesis and associates with tumor aggressiveness and unfavorable prognosis, *Cancer. Cell. Int.* 15 (2015) 1-9.
- [27] T.F. Wu, Y.C. Li, S.R. Ma, Bing-Liu, W.K. Zhang, Z.J. Sun, Expression and associations of TRAF1, BMI-1, ALDH1, and Lin28B in oral squamous cell carcinoma, *Tumour. Biol.* 39 (2017) 1-10.

- [28] J.K. Oh, K.H. Kim, H. Jung, S.J. Yoon, T.B. Kim, Second to fourth digit ratio: its relationship with core cancer volume and Gleason score in prostate biopsy, *Int. Braz. J. Urol.* 38 (2012) 611–619.
- [29] M. Waters, C.M. Rebholz, B. Wood, A. Kuske, M. McIntyre, O. Sartor, Second to fourth digit ratio and prostate cancer severity, *Prostate. Cancer. Prostatic. Dis.* 16 (2013) 107–110.
- [30] J. Hönekopp, S. Watson, Meta-analysis of digit ratio 2D:4D shows greater sex difference in the right hand, *Am. J. Hum. Biol.* 22 (2010) 619–630.
- [31] S.D. Pena, G. Di Pietro, M. Fuchshuber-Moraes, J.P. Genro, M.H. Hutz, F.S.G. Kehdy, F. Kohlrausch, L.A.V. Magno, R.C. Montenegro, M.O. Moraes, E.A. Moraes, M.R. Moraes, E.B. Ojopi, J.A. Perini, C.Racciopi, A.K.C. Ribeiro-dos-Santos, M.A. Romano-Silva, V.A. Sortica, G. Suarez-Kurt, The genomic ancestry of individuals from different geographical regions of Brazil is more uniform than expected, *PLoS ONE* 6 (2011) e17063.
- [32] R.R. Moura, A.V.C. Coelho, V.Q. Balbino, S. Crovela, L.A.C. Brandão, Meta-analysis of Brazilian genetic admixture and comparison with other Latin America countries, *Am. J. Hum. Biol.* 27 (2015) 674–680.
- [33] E. Ribeiro, N. Neave, R.N. Morais, J.T. Manning, Direct versus indirect measurement of digit ratio (2D:4D): a critical review of the literature and new data, *Evol. Psychol.* 14 (2016) 1–8.
- [34] P.M. Speight, J. Epstein, O. Kujan, M.W. Lingen, T. Nagao, K. Raganathan, P. Vargas. Screening for oral cancer – a perspective from the Global Oral Cancer Forum. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol.* 123 (2017) 680-687.

**Table 1**

Characteristics of patients with oral cancer (OSCC) and Control Group with respect to age and tobacco and ethanol consumption.

<b>Characteristics</b>	<b>OSCC Group</b>	<b>Control Group</b>	<b>%</b>
Age [mean (SD)]	61.17 (10.48)	61.00 (10.41)	-
TC* (n)			
Never	2	2	6.7
Ex-smokers	12	12	40
Smokers	16	16	53.3
EC* (n)			
Never	4	4	13.3
Ex-drinkers	10	10	33.4
Drinkers	16	16	53.3

\*Abbreviations: TC, tobacco consumption; EC, ethanol consumption

**Table 2**

Clinical features of patients with oral cancer at diagnosis.

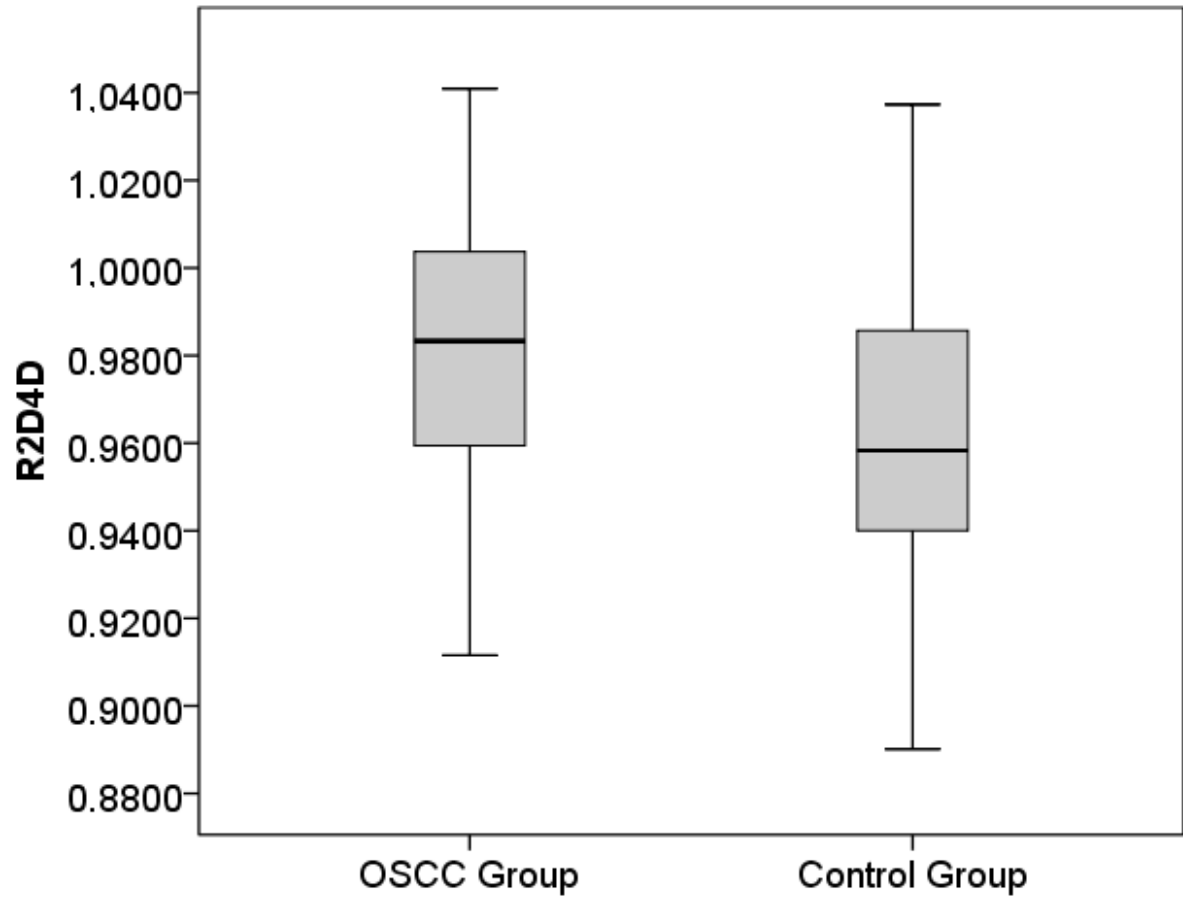
	<b>Mean (SD)</b>	<b>Median (range)</b>
<b>Age (years)</b>	60.6 (10.2)	58.5 (41-92)
	<b>n</b>	<b>(%)</b>
<b>Clinical stage</b>		
I	6	20
II	2	6.7
III	13	43.3
IV	9	30
<b>Regional metastasis</b>		
Yes	18	60
No	12	40
<b>Distant metastasis</b>		
Yes	04	13.3
No	15	50
Not determined	11	36.7

**Table3**

Comparison of right hand digit ratio (R2D:4D), left hand digit ratio (L2D:4D), and right hand minus left hand digit ratio (DR-L) between patients with oral cancer (OSCC) and Control Group and distribution by gender.

	<b>OSCC Group</b>	<b>CI<sub>95%</sub></b>	<b>Control Group</b>	<b>CI<sub>95%</sub></b>	<b>p value</b>	<b>sizeeffect</b>
	<b>Mean (SD)</b>		<b>Mean (SD)</b>			
<i>All subjects, 30</i>						
R2D:4D	0.9752 (0.0387)	(0.9607–0.9896)	0.9572 (0.0377)	(0.9431–0.9713)	0.074 <sup>a</sup>	r = 0.23
L2D:4D	0.9754 (0.0321)	(0.9634–0.9874)	0.9701 (0.0393)	(0.9554–0.9848)	0.568 <sup>a</sup>	r = 0.07
DR-L	-0.0002 (0.0313)	(-0.0119–0.0114)	-0.0012 (0.0360)	(-0.0263–0.0052)	0.152 <sup>a</sup>	r = 0.18
<i>By gender, n</i>						
<i>Men, 25</i>						
R2D:4D	0.9807 (0.0342)	(0.9666–0.9949)	0.9598 (0.0382)	(0.9440–0.9756)	0.047 <sup>a</sup>	r = 0.28
L2D:4D	0.9793 (0.0315)	(0.9663–0.9923)	0.9727 (0.0362)	(0.9577–0.9877)	0.492 <sup>a</sup>	r = 0.09
DR-L	0.0014 (0.0320)	(-0.0118–0.0146)	-0.0128 (0.0382)	(-0.0286–0.0029)	0.159 <sup>a</sup>	r = 0.20
<i>Women, 5</i>						
R2D:4D	0.9472 (0.0518)	(0.8829–1.0115)	0.9439 (0.0355)	(0.8998–0.9880)	0.910 <sup>a</sup>	r = 0.04
L2D:4D	0.9559 (0.0314)	(0.9169–0.9949)	0.9572 (0.0554)	(0.8884–1.0260)	0.966 <sup>a</sup>	r = 0.01
DR-L	-0.0087 (0.0291)	(-0.0449–0.0274)	-0.0132 (0.0250)	(-0.0444–0.0178)	0.798 <sup>a</sup>	r = 0.09

<sup>a</sup>Student's *t*-test for unpaired samples.



**Figure 1** -Distribution variability of the right hand 2D:4D (R2D:4D) means between men with oral cancer and men of control group.



## 6 CONCLUSÕES

Baseado nos resultados do estudo apresentado, pode-se concluir que:

- Indivíduos com carcinoma oral de células escamosas apresentaram médias 2D:4D em um padrão superior às apresentadas pelo grupo controle, especialmente para a mão direita. Quando comparado por gênero, homens com a doença apresentaram médias 2D:4D da mão direita mais altas em relação a homens saudáveis, corroborando com achados obtidos em estudos realizados previamente sobre essa temática.
- Este estudo fornece evidência adicional que reforça a relação entre 2D:4D como um biomarcador putativo associado ao carcinoma oral de células escamosas, mostrando que um alto 2D:4D está associado a níveis elevados de estrógenos intrauterino, que por sua vez, pode estar relacionado a um maior risco de desenvolvimento de carcinoma oral de células escamosas.

## 7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

- Uma vez que existem poucos estudos na literatura que relacionaram a proporção 2D:4D ao carcinoma oral de células escamosas, e que este marcador tem encontrado associação significativa com outros tipos de neoplasias, sugere-se a realização de pesquisas adicionais envolvendo populações de diferentes ancestralidades, uma vez que a proporção 2D:4D varia entre grupos étnicos/raciais, além do controle de fatores de riscos conhecidos para a neoplasia.
- A elucidação de um novo fator de risco para esta doença contribui para a investigação de sua etiologia multifatorial e a identificação de um marcador físico de fácil acesso poderá contribuir para a implementação de medidas de prevenção primária e secundária relacionadas à doença.

## REFERÊNCIAS

- ARANGO, H. G. **Biostatística teórica e computacional**. 3.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2009.
- BREEDLOVE, S.M. Minireview: Organizational hypothesis: instances of the fingerpost. **Endocrinology**, v.51, n.1, p.4116-4122, 2010.
- BRENER, S. *et al.* Carcinoma de células escamosas bucal: uma revisão de literatura entre o perfil do paciente, estadiamento clínico e tratamento proposto. **Rev Bras Cancerol**, v.53, n.1, p.63-69, 2007.
- CASTELLSAGUÉ, X. *et al.* The role of type of tobacco and type of alcoholic beverage in oral carcinogenesis. **Int J Cancer**., v.108, n.5, p.741-749, 2004.
- CHIEN, A.C.; DAY, T. A.; NEVILLE, B.W. Oral cavity and oropharyngeal squamous cell carcinoma—an update. **CA Cancer J Clin**, v.65, n.5, p.401–421, 2015.
- DEAN, A.; SHARPE, R. M. Anogenital distance or digit length ratio as measures of fetal androgen exposure: relationship to male reproductive development and its disorders. **J Clin Endocrinol Metab**, v.8, n.1, p.1-10, 2013.
- FIELD, A. **Descobrimos a estatística utilizando o SPSS**. 2. ed. Porto Alegre: Artmed, 2009.
- GARN, S. M. *et al.* Early prenatal attainment of adult metacarpal-phalangeal rankings and proportions. **Am J Phys Anthropol**, v.43, n.3, p.327–332, 1975.
- GILLAM, L. *et al.* Human 2D (index) and 4D (ring) finger lengths and ratios: cross-sectional data on linear growth patterns, sexual dimorphism and lateral asymmetry from 4 to 60 years of age. **J Anat**, v.213, n.3, p.325-335, 2008.
- GONÇALVES, E. *et al.* Hand digit ratio (2d:4d) and gastric cancer risk: a cross-sectional study among southeastern Brazilians. **J Xiangya Med**, v.2, n.1, p.1-5, 2017.
- HASSAN, N. M. *et al.* Aberrant expression of HOX genes in oral dysplasia and squamous cell carcinoma tissues. **Oncol Res**., v.16, n. 5, p.217-224, 2006.
- HÖNEKOPP, J. *et al.* Second to fourth digit length ratio (2D:4D) and adult sex hormone levels: new data and a meta-analytic review. **Psychoneuroendocrinology**, v.32, n.4, p.313–321, 2007.

HÖNEKOPP, J.; WATSON, S. Meta-analysis of digit ratio 2D:4D shows greater sex difference in the right hand. **Am J Hum Biol**, v. 22, n.5, p.619–630, 2010.

HONG, L. *et al.* Digit ratio (2D:4D) in Chinese women with breast cancer. **Am J Hum Biol**, v. 26, n. 4, p.562–564, 2014.

HOPP, R. N. **Correlação entre a proporção 2D:4D, carcinoma espinocelular oral e adenocarcinoma de próstata**. 2010, 81f.Dissertação (Mestrado em Estomatopatologia) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Odontologia de Piracicaba, Piracicaba, 2010.

HOPP, R. N.; JORGE, J. Right hand digit ratio (2D:4D) is associated with oral cancer. **Am J Hum Biol**, v.23, n.3, p.423-425, 2011.

HOPP, R. N.*et al.* Digit ratio (2D:4D) is associated with gastric cancer. **Early Hum Dev**, v.89, n. 5, p.327-329, 2013.

HOPP, R. N.*et al.* Digit ratio (2D:4D) and cancer: What is known so far? **Int J Cancer Ther Oncol**, v.2, n.1, p.1-4, 2014.

HOPP, R. N.*et al.* Digit ratio is associated with colorectal cancer. **J GastrointestDigSyst**, v.5, n.1, p.1-4, 2015.

INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER (INCA). **Estimativa 2016– Incidência de Câncer no Brasil**.2016. Disponível em: <<http://www.inca.gov.br/estimativa/2016>>. Acesso em: 19 out. 2017.

KONDO, T. *et al.* Of fingers, toes and penises. **Nature**, v.390, n.6, p.185-198, 1997.

LUTCHMAYA, S. 2nd to 4th digit ratios, fetal testosterone and estradiol. **Early Hum Dev**, v. 77, v.1-2, p.23-28, 2004.

MCFARLANE, G. J.*et al.* Alcohol, tobacco, diet and the risk of oral cancer: a pooled analysis of three case-control studies.**European Journal of Cancer Part B: Oral Oncology**, v.31, n.3, p.181-187, 1995.

MANNING, J. T. The ratio of 2nd to 4th digit length: a predictor of sperm numbers and concentrations of testosterone, luteinizing hormone and oestrogen. **Hum Reprod**, v.13, n. 11, p.3000–3004, 1988.

MANNING, J. T.; LEINSTER, S. The ratio of 2nd to 4th digit length and age at presentation of breast cancer: a link with prenatal oestrogen. **Breast**, v.22, n.1, p.61-69, 2001.

MANNING, J.T.; CALLOW,M.; BUNDRED, P. E. Finger and toe ratios in humans and mice: implications for the aetiology of diseases influenced by HOX genes. **Med Hypotheses**, v.60, n.3, p.340-343, 2003.

- MASEREJIAN, N. N. *et al.* Prospective study of alcohol consumption and risk of oral premalignant lesions in men. **Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.**, v.15, n.4, p.774-781, 2006.
- MCDOWELL, J. D. An Overview of Epidemiology and Common Risk Factors for Oral Squamous Cell Carcinoma. **Otolaryngologic Clinics of North America**, v.39, n.2, p. 277–294, 2006.
- MCINTYRE, M. H.; COHN, B. A.; ELLISON, P. T. Sex dimorphism in digital formulae of children. **Am J Phys Anthropol**, v.129, n. 1, p.143-150, 2006.
- MCINTYRE, M. H. The development of sex differences in digital formula from infancy in the Fels Longitudinal Study. **Proc Biol Sci**, v.272, n. 1571, p.1473-1479, 2005.
- MEDLAND, S. E. *et al.* A variant in LIN28B is associated with 2D:4D finger-length ratio, a putative retrospective biomarker of prenatal testosterone exposure. **Am J Hum Genet**, v. 86, n.1, p.519–525, 2010.
- MENDES, P. H. C. *et al.* Digit ratio (2D:4D) is associated with breast cancer. **Int J Cancer Ther Oncol.**, v.4, n. 3, p.438-444, 2016a.
- MENDES, P. H. C. *et al.* Comparison of digit ratio (2D:4D) between Brazilian men with and without prostate cancer. **Prostate Cancer Prostatic Dis**, v.19, n.1, p.107–110, 2016b.
- MISRA, C. *et al.* Polymorphisms at p53, p73, and MDM2 loci modulate the risk of tobacco associated leukoplakia and oral cancer. **Mol Carcinog.**, v.48, p.790–800, 2009.
- MULLER, D. C. Second to fourth digit ratio (2D:4D), breast cancer risk factors, and breast cancer risk: a prospective cohort study. **Br J Cancer**, v.107, n.9, p.1631–1636, 2012.
- NAPIER, S. S.; SPEIGHT, P. M. Natural history of potentially malignant oral lesions and conditions: an overview of the literature. **Journal of Oral Pathology & Medicine**, v.37, n.1, p.1-10, 2008.
- POTISCHMAN, N. *et al.* Pregnancy hormone concentrations across ethnic groups: implications for later cancer risk. **Cancer Epidemiol Biomarkers Prev**, v. 14, n.6, p.1514–1520, 2005.
- RAHMAN, A. A. *et al.* Hand pattern indicates prostate cancer risk. **Br J Cancer**, v.104, n.1, p.175-177, 2011.
- RIBEIRO, E.; NEAVE, N.; MORAIS, R.N.; MANNING, J. T. Direct versus indirect measurement of digit ratio (2D:4D): a critical review of the literature and new data. **Evol Psych**, v.14, n.1, p.1–8, 2016.
- ROSA, F. E. *et al.* Shorter CAG repeat length in the AR gene is associated with poor outcome in head and neck cancer. **Arch Oral Biol**, v.52, n.8, p.732–739, 2007.

SANTOS, M. L. *et al.* The CAG repeat polymorphism in the androgen receptor gene (AR) and its relationship to head and neck cancer. **Oral Oncol.**, v.40, n.2, p.177-182, 2004.

SARODE, S. C.; SARODE, G. S.; ANAND, R. Right hand digit ratio (2D:4D) in non-tobacco and/or non-alcohol habit related oral squamous cell carcinoma. **J Oral Maxillofac Surg Med Pathol**, v.24, n.1, p.89–91, 2014.

SCULLY, C.; BAGAN, J. Oral squamous cell carcinoma overview. **Oral Oncology**, v.45, n.4-5, p. 301-308, 2009.

SHENG, Y. *et al.* Decreased digit ratio (2D:4D) and gastric cancer in Chinese men. **Early Hum Dev**, v.103, n.1, p.109–112, 2016.

SOUZA-SETÚBAL, D. M. F. *et al.* Overexpression of HOXB7 homeobox gene in oral cancer induces cellular proliferation and is associated with poor prognosis. **Int J Oncol**, v.36, n.1, p.141–149, 2010.

VORACEK, M.; MANNING, J. T., DRESSLER, S. G. Repeatability and interobserver error of digit ratio (2D:4D) measurements made by experts. **Am J Hum Biol**, v.19, n.1, p.142-146, 2007.

WATERS, M. *et al.* Second to fourth digit ratio and prostate cancer severity. **Prostate Cancer Prostatic Dis**, v.16, n.1, p.107-110, 2013.

ZHENG, Z.; COHN, M. J. Developmental basis of sexually dimorphic digit ratios. **Proc Natl Acad Sci USA**, v. 108, n.39, p.16289–16294, 2011.

## APÊNDICES

APÊNDICE A - Instrumento de Coleta de Dados - Projeto: Análise da proporção 2D:4D  
em pacientes com carcinoma oral de células escamosas

<b>1.DADOS GERAIS:</b>	
1. Identificação:	1.2 Prontuário:
1.3 Gênero: ( ) M ( ) F	
1.4 Data de nascimento: ___/___/___	1.5 Idade: _____ anos
1.6 Município de origem:	
1.7 Local de atendimento:	
1.8 Cor da pele: ( ) Leucoderma ( ) Melanoderma ( ) Feoderma ( ) Xantoderma	
1.9 ( ) Destro ( ) Canhoto	
1.10 Localização da lesão oral:	
1.11 Resultado do diagnóstico histopatológico do câncer oral:	
1.12 Estadiamento:	
1.13 Presença de metástase ( ) sim ( ) não	
1.14 Idade do paciente no momento do diagnóstico da doença: _____ anos	
<b>2. ANÁLISE DA PROPORÇÃO 2D:4D</b>	
<b>2- Relação 2D:4D</b>	
<b>MÃO DIREITA</b>	
<b>2.1 Primeira medida:</b> Comprimento do dedo indicador: Comprimento de dedo anelar: Razão 2D: _____: _____ cm 4D	<b>2.2 Segunda medida:</b> Comprimento do dedo indicador: Comprimento de dedo anelar: Razão 2D: _____: _____ cm 4D
<b>2.3 Média das razões R2D:4D:</b>	
<b>2.4 Relação R2D:4D:</b> ( ) dedo indicador maior que o dedo anelar	

<input type="checkbox"/> dedo indicador menor que o dedo anelar <input type="checkbox"/> dedo indicador de mesmo comprimento que dedo anelar	
<b>3- Relação 2D:4D</b>	
<b>MÃO ESQUERDA</b>	
<b>3.1 Primeira medida:</b> Comprimento do dedo indicador: Comprimento de dedo anelar: Razão 2D:_____:_____ 4D	<b>3.2 Segunda medida:</b> Comprimento do dedo indicador: Comprimento de dedo anelar: Razão 2D:_____:_____ 4D
<b>3.3 Média das razões L2D:4D:</b>	
<b>3.4 Relação L2D:4D:</b>	
<input type="checkbox"/> dedo indicador maior que o dedo anelar <input type="checkbox"/> dedo indicador menor que o dedo anelar <input type="checkbox"/> dedo indicador de mesmo comprimento que dedo anelar	
<b>4. QUESTIONÁRIO</b>	
4.1 Você sofreu alguma fratura ou trauma nos dedos anelar ou indicador? ( )Sim ( )Não	
4.2 Você tem/já teve alguma doença hormonal? ( )Sim Tipo: ( )Não ( )Não sabe informar	
4.3 Você faz uso de tabaco (fuma)? ( )Não ( )Sim: ( ) Raramente, ( ) 1 dia/sem, ( ) 2 a 3 dias /sem, ( ) Todo dia ou quase todo dia Número de Cigarros/Dia_____	
Tipo de cigarro: ( ) Industrializado ( ) Palha ( ) Outro, qual: _____ ( ) Ex-fumante - Parou há ____ anos	
4.4 Você faz uso de álcool? ( )Não ( )Sim ( )Ex-etilista - Parou há____anos Tipo de bebida: Qual a quantidade que você bebe (bebia) por ocasião ml/l : _____	



APÊNDICE B - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido para Participação em Pesquisa - Projeto: Análise da proporção 2D:4D em pacientes com neoplasias malignas.

**TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO PARA PARTICIPAÇÃO EM PESQUISA**

**Título da pesquisa:** Análise da proporção 2D:4D em pacientes com neoplasias malignas

**Instituição promotora:** Universidade Estadual de Montes Claros

**Patrocinador:** Financiamento próprio

**Coordenador:** Hercílio Martelli Júnior

Contato: 91211315

Você está sendo convidado a participar da pesquisa intitulada "**Análise da proporção 2d:4d em pacientes com neoplasias malignas**". Esta pesquisa será realizada por Patrícia Helena Costa Mendes, Lívia Máris Ribeiro Paranaíba, Priscila Miranda Soares, Renato Hopp, Jacks Jorge Júnior, Hercílio Martelli Júnior, do Programa de Pós Graduação em Ciências da Saúde da UNIMONTES. Quem está lhe apresentando esta pesquisa é Patrícia Helena Costa Mendes, a qual também recolherá o seu consentimento, aplicará o questionário e fará as medições de suas mãos direita e esquerda.

**Justificativa e objetivos:** Esta pesquisa visa investigar a relação entre os dedos anelar e indicador, os quais sofrem ação dos hormônios sexuais durante a vida intra-uterina, e a ocorrência de cânceres de boca, próstata, mama, colorretal, esôfago, pulmão e estômago. A realização desta pesquisa pode nos fornecer um fator diagnóstico/preventivo adicional na detecção precoce destes tipos de câncer.

**Informações:** Procedimentos: Você responderá a um questionário com cerca de 10 perguntas feito pelo pesquisador, que, após este procedimento fará medições de suas mãos. Essa pesquisa não envolve riscos previsíveis a você. Não existe grupo placebo nesta pesquisa.

**Desconfortos, riscos previsíveis e benefícios esperados:** Não há desconfortos ou riscos associados à participação na pesquisa. Não há benefício direto pela participação na pesquisa, mas existe a possibilidade da mesma contribuir como método adicional de diagnóstico precoce dos cânceres de boca e próstata.

**Forma de acompanhamento e assistência:** Os pesquisadores estarão à disposição para quaisquer esclarecimentos adicionais pessoalmente, por fone ou e-mail (modo de contato acima).

**Garantias:** Garantias de esclarecimentos: Os pesquisadores esclarecerão os voluntários quanto a todos os aspectos da pesquisa, antes, durante e após a mesma. Liberdade de recusa à participação ou de retirar o seu consentimento: Você pode escolher não participar de nossa pesquisa, ou desistir da participação, se achar necessário, em qualquer fase da pesquisa, sem qualquer penalização ou prejuízo, inclusive para o seu atendimento.

**Sigilo:** Sua identidade será mantida em sigilo. **Ressarcimento e indenização:** Não há gastos previstos pela participação na pesquisa e, portanto, não há previsão de ressarcimento. Não há riscos previsíveis pela participação na pesquisa e, portanto, não há previsão de indenização.

Eu \_\_\_\_\_, RG \_\_\_\_\_,

CPF \_\_\_\_\_, concordo em participar da pesquisa intitulada "**Análise da proporção 2d:4d em pacientes com neoplasias malignas**". Nome e assinatura: \_\_\_\_\_

Data / /

*Hercilio Martelli Jr.*

Pesquisador responsável

*[Assinatura]*  
Ass. pesquisador responsável

Data 19/2/2013

Data / /

Testemunha

Ass. da testemunha

**ANEXOS**

ANEXO A - Parecer favorável do Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Estadual de Montes Claros - Projeto: Análise da proporção 2D:4D em pacientes com neoplasias malignas.

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE  
MONTES CLAROS -  
UNIMONTES



**PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP**

**DADOS DO PROJETO DE PESQUISA**

**Título da Pesquisa:** ANÁLISE DA PROPORÇÃO 2D:4D EM PACIENTES COM NEOPLASIAS MALIGNAS

**Pesquisador:** Patrícia Helena Costa Mendes

**Área Temática:**

**Versão:** 2

**CAAE:** 14481513.3.0000.5146

**Instituição Proponente:** Universidade Estadual de Montes Claros - UNIMONTES

**Patrocinador Principal:** Financiamento Próprio

**DADOS DO PARECER**

**Número do Parecer:** 311.756

**Data da Relatoria:** 21/06/2013

**Apresentação do Projeto:**

Um novo marcador tem sido adotado para estudar o comportamento e as características e doenças influenciadas pelo sexo: a relação entre o dedo indicador e o dedo anular, chamada 2D:4D. A diferença entre o segundo e o quarto dedo é estabelecida ainda no útero, e parece não ser afetada pela puberdade e reflete um fator importante a exposição intra-uterina a hormônios sexuais.

**Objetivo da Pesquisa:**

Avaliar a possível associação entre a relação 2D:4D com a prevalência de casos de câncer de boca, câncer de próstata, câncer de mama, câncer colorretal, câncer de esôfago, câncer de pulmão e câncer de estômago.

**Avaliação dos Riscos e Benefícios:**

Leve desconforto poderá acontecer durante a medição dos dedos. Como benefícios existe a possibilidade da pesquisa contribuir como método adicional de diagnóstico precoce de neoplasias malignas.

**Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:**

A pesquisa é relevante e poderá contribuir para o maior conhecimento no diagnóstico precoce do câncer.

Endereço: Av. Dr Rui Braga s/n-Camp. Univers. Profª Darcy Rib  
Bairro: Vila Maurício CEP: 39.401-080  
UF: MG Município: MONTES CLAROS  
Telefone: (38)3229-8180 Fax: (38)3229-8105 E-mail: maisa.lete@unimontes.br

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE  
MONTES CLAROS -  
UNIMONTES



Continuação do Parecer: 211.756

**Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:**

Termos adequados.

**Recomendações:**

Apresentação de relatório final por meio da plataforma Brasil, em "enviar notificação".

**Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:**

Aprovado.

**Situação do Parecer:**

Aprovado

**Necessita Apreciação da CONEP:**

Não

**Considerações Finais a critério do CEP:**

O projeto respeita os preceitos éticos da pesquisa em seres humanos, sendo assim somos favoráveis à aprovação do mesmo.

MONTES CLAROS, 21 de Junho de 2013

---

Assinador por:  
**SIMONE DE MELO COSTA**  
(Coordenador)

Endereço: Av. Dr. Ruy Braga s/nº-Camp. Univers. Profª Darcy Rib  
Bairro: Vila Maurício CEP: 38.401-069  
UF: MG Município: MONTES CLAROS  
Telefone: (38)3229-8180 Fax: (38)3229-8105 E-mail: maissa.leite@unimontes.br