

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MONTES CLAROS

Cláudia de Alvarenga Diniz Fonseca

Câncer no aparelho reprodutor feminino: avaliação da razão digital 2D:4D,
agenesia dentária e história familiar de fissura labial e/ou palatina não
sindrômica

Montes Claros – Minas Gerais – Brasil
Novembro de 2020

Cláudia de Alvarenga Diniz Fonseca

Câncer no aparelho reprodutor feminino: avaliação da razão digital 2D:4D, agenesia dentária e história familiar de fissura labial e/ou palatina não sindrômica

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde da Universidade Estadual de Montes Claros – Unimontes, como parte das exigências para a obtenção do título de Doutor em Ciências da Saúde.

Área de Concentração: Mecanismos e Aspectos clínicos das doenças.

Orientador: Prof. Dr. Hercílio Martelli Júnior.

Coorientadora: Prof^a Dr^a Daniella Reis Barbosa Martelli.

Montes Claros – Minas Gerais – Brasil
Novembro de 2020

F676c

Fonseca, Cláudia de Alvarenga Diniz.

Câncer no aparelho reprodutor feminino [manuscrito] : avaliação da razão digital 2D:4D, agenesia dentária e história familiar de fissura labial e/ou palatina não sindrômica / Cláudia de Alvarenga Diniz Fonseca. – Montes Claros, 2020.

145 f. : il.

Inclui Bibliografia.

Tese (Doutorado) - Universidade Estadual de Montes Claros - Unimontes, Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde /PPGCS, 2020.

Orientador: Prof. Dr. Hercílio Martelli Júnior.

Coorientadora: Profa. Dra. Daniella Reis Barbosa Martelli.

1. Câncer uterino. 2. Câncer de ovário. 3. Razão de dígitos. 4. Agenesia dentária. 5. Fenda labial. 6. Fissura palatina. 7. Revisão sistemática. I. Martelli Júnior, Hercílio. II. Martelli, Daniella Reis Barbosa. III. Universidade Estadual de Montes Claros. IV. Título. V. Título: Avaliação da razão digital 2D:4D, agenesia dentária e história familiar de fissura labial e/ou palatina não sindrômica.

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MONTES CLAROS-UNIMONTES

Reitor: Professor Antônio Alvimar Souza

Vice-reitor: Professora Ilva Ruas de Abreu

Pró-reitor de Pesquisa: Professora Clarice Diniz Alvarenga Corsato

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

Coordenadoria de Acompanhamento de Projetos: Professor Virgílio Mesquita Gomes

Coordenadoria de Iniciação Científica: Professora Sônia Ribeiro Arruda

Coordenadoria de Inovação Tecnológica: Professora Sara Gonçalves Antunes de Souza

Coordenadoria de Pós-graduação *Stricto sensu*: Professor Marcos Flávio Silveira Vasconcelos
D Ângelo

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE

Coordenador: Professor Alfredo Mauricio Batista de Paula

Subcoordenador: Professor Renato Sobral Monteiro Júnior



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MONTES CLAROS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE



DOUTORANDA: CLÁUDIA ALVARENGA DINIZ FONSECA

TÍTULO DO TRABALHO: “Câncer do aparelho reprodutor feminino: avaliação da razão digital 2D:4I agenesia dentária e história familiar de fissura labial e/ou palatina”

ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: Mecanismos e Aspectos clínicos das doenças

LINHA DE PESQUISA: Etiopatogenia e Fisiopatologia das Doenças,

BANCA (TITULARES)

ASSINATURAS

PROF. DR. HERCÍLIO MARTELLI JÚNIOR - ORIENTADOR

PROFª DRª DANIELLA REIS BARBOSA MARTELLI - COORIENTADORA

PROF DR. ANTÔNIO PRATES CALDEIRA

PROF DR DANYEL ELIAS DA CRUZ PEREZ

PROF DR MÁRCIO VINÍCIUS LINS DE BARROS

PROF DR MARCOS JOSÉ BURLE DE AGUIARE

BANCA (SUPLENTES)

ASSINATURAS

PROF. DR. FRANCIS BALDUINO GUIMARAES SANTOS

PROFª DRª LUCYANA CONCEIÇÃO FARIAS

PROF DR. MARCELO EUSTÁQUIO SIQUEIRA ROCHA

PROF. DR. RICARDO MARTINEZ PEDRAZA

APROVADA

REPROVADA

Hospital Universitário Clemente Farias – HUCF

<http://www.unimontes.br> / ppgcs@unimontes.br

Telefone: (0xx38) 3224-8372 / Fax: (0xx38) 3224-8372

Av. Cula Mangabeira, 562, Santo Expedito, Montes Claros – MG, Brasil – Cep: 39401-001

Aos profissionais de saúde que se dedicam a cuidar
das vítimas da Covid-19
em meio a tantas adversidades,
dedico este trabalho.

AGRADECIMENTOS

Àquele que foi o meu orientador neste processo de formação acadêmica, Prof. Dr. Hercílio Martelli Júnior, por sua peculiar gentileza no jeito de conduzir erros e acertos e por compartilhar sua ampla experiência no campo da pesquisa.

Àquela que foi minha co-orientadora nesta pesquisa, Prof^a Dra. Daniella Martelli, por apoiar com alegria e solicitude.

Aos professores da banca de defesa da tese, Dr. Antônio, Dr. Danyel, Dr. Márcio, Dr. Marcos, Dr. Francis, Dr^a Luciana, Dr. Marcelo e Dr. Ricardo, por me darem a oportunidade de ter uma banca de excelência, enriquecendo ainda mais essa conquista.

Aos professores da banca de qualificação, Dra. Desirée, Dra. Marileia, Dr. Mário Sérgio e Dr. Paulo Bonan, por enobrecerem o momento e pela generosidade das valiosas contribuições. O aceite carinhoso das amigas Desirée e Mariléia trouxe-me ainda mais alegria e conforto.

Aos professores do PPGCS da Unimontes, pela excelência no trabalho desenvolvido no árido terreno da ciência/pesquisa no Brasil, fortalecendo nossa região e universidade.

Aos servidores administrativos do PPGCS, em especial a Ducarmo e Tereza, pela presteza em atender aos pedidos com solicitude.

Aos colegas da pós-graduação, pelos bons momentos de comunhão durante nossas atividades acadêmicas.

Às instituições às quais devo gratidão, Unimontes e Santa Casa de Montes Claros, por me oportunizarem trilhar a nobre missão da medicina, favorecendo minha evolução pessoal e profissional.

Ao superintendente da Santa Casa de Montes Claros, Maurício Sérgio, por apoiar-me sem cobranças e por tornar suave o peso da minha ausência.

À equipe do serviço de oncologia da Santa Casa de Montes Claros pela terna acolhida e disposição em amparar-me na execução deste trabalho.

Aos colegas de trabalho da Unimontes (professores da construção) e Santa Casa, em especial às gerentes Aninha e Samoca, por suprirem minha ausência e conduzirem as tarefas com responsabilidade e dedicação, reduzindo meu desconforto.

Às acadêmicas Ianná, Renata e Letícia que gentilmente contribuíram na coleta de dados da pesquisa.

À querida Vivilaine (Vivi), por sua forma meiga em querer resolver todas as minhas dificuldades, tornando tudo mais fácil.

Aos pacientes que, em meio à vulnerabilidade da doença tanto nos ensinam por meio de seus sorrisos, medos, histórias de vida, exemplos de fé e confiança.

Ao professor e amigo Luiz Alves, extensivo à sua família, por sua peculiar paciência e delicadeza, traduzindo os desafios da língua estrangeira em momentos de prazer e alegria.

Aos meus irmãos, cunhados, sobrinhos (em especial Dan), familiares e tantos amigos que fazem parte da minha história de vida, Tetê Penido, Beta, Lilica, Carminha, Sil, Josi, Michel, Gabi, Ric, amigas do vôlei, por trazerem leveza ao dia a dia. Ao partilharem alegrias e dividirem tristezas, vocês tornam a vida mais colorida.

À minha mãe, Maria Lavínia, que trouxe o sopro da vida, partilhou os mais nobres ensinamentos e, na fragilidade da idade, demonstra o verdadeiro valor da gratidão. Seu senso de humor e sua alegria de viver, em meio à sua completa discricção, serão exemplos para a vida inteira.

Ao meu companheiro de caminhada sacramental, Eugênio Lins, por incentivar a busca do caminho da pesquisa. Gratidão por cuidar de mim, frear meus destemperos e ser o contrapeso para o equilíbrio da balança. Estarei sempre ao seu lado.

Ao meu pai Cincinato França que, apesar da sua ausência física desde minha tenra infância, sempre foi presença viva em minha vida, pois sua história de vida foi semeada na eternidade e muito me ensinou.

Àquele que foi Luz para a vida de muitos, Padre Henrique, que soube transvestir vaidade em humildade e, através do exemplo do verdadeiro amor cristão, catalisou em mim e em tantos outros o forte desejo de estarmos mais próximos a Deus.

A Deus por proporcionar-me tantas graças, incluindo os amores que vislumbrei.

“... é necessário, pois, a propósito disso, fazer uma das coisas seguintes: não perder a ocasião de instruir-se, ou procurar aprender por si mesmo, ou então, se não for capaz nem de uma nem de outra dessas ações, ir buscar em nossas antigas tradições humanas o que houver de melhor e menos contestável, deixando-se assim levar como sobre uma jangada, na qual nos arriscaremos a fazer a travessia da vida, uma vez que não a podemos percorrer, com mais segurança e com menos riscos, sobre um transporte mais sólido: quero dizer, uma revelação divina.”

Platão, Fédon, 85 c-d.

RESUMO

A razão digital (2D:4D), razão entre o segundo e quarto dígitos das mãos, tem sido sugerida como um biomarcador padrão para a atividade de andrógenos pré-natais e reconhecida como um marcador ligado a eventos carcinogênicos. Cânceres e malformações congênitas também têm sido relacionados, por partilharem etiologia comum. Este estudo avaliou a associação da 2D:4D, da ocorrência de agenesia dentária e da história familiar de fissura labial e/ou palatina não síndrômica (FL/PNS) entre mulheres com e sem câncer no aparelho reprodutor feminino. Foram realizados três estudos, dois do tipo caso-controle e uma revisão sistemática da literatura sobre a associação entre câncer e 2D:4D. Os dois estudos caso-controle envolveram 105 pacientes com câncer de útero ou ovário (grupo caso) e 210 mulheres clinicamente saudáveis (grupo controle), pareadas por idade. No primeiro estudo, o teste *t* de *Student* para amostras independentes com um nível de significância de 5% ($p < 0,05$) foi realizado para comparar as médias das variáveis contínuas – idade e razões digitais direita (2D:4D_D) e esquerda (2D:4D_E) – entre os grupos caso e controle. Neste estudo, as mulheres com câncer apresentaram a 2D:4D_D discretamente maior do que as mulheres do grupo controle ($p = 0,062$). A 2D:4D_E não apresentou diferença estatisticamente significativa ($p = 0,222$). Essa associação estatística limítrofe da 2D:4D_D com o câncer no aparelho reprodutor feminino (útero ou ovário) sugere que mulheres com esse tipo de câncer provavelmente tiveram maior exposição ao estrogênio intrauterino e menor exposição à testosterona durante a vida fetal. No segundo estudo, análises estatísticas descritivas e comparativas foram realizadas com as características basais dos grupos, tais como idade, cor da pele, consanguinidade paterna, agenesia dentária e história familiar de FL/PNS em parentes de primeiro grau. Os testes qui-quadrado de *Pearson* e exato de *Fischer* e *Odds Ratio* (OR) com intervalos de confiança (IC's) de 95% foram realizados para avaliar a associação da agenesia dentária e da história familiar de FL/PNS entre os casos e controles. Foi adotado um nível de significância de 5% ($p < 0,05$). Observou-se que 2% das mulheres do grupo caso e 0,98% do controle relataram a ausência congênita de pelo menos um dente (*1df chi-square*, $p = 0,464$; *Fisher's exact test*, $p = 0,600$). No grupo caso, o relato de história familiar de FL/PNS ocorreu em duas pacientes e, no grupo controle, em cinco mulheres (*1df chi-square*, $p = 0,787$; *Fisher's exact test*, $p = 1,000$). A ocorrência da agenesia dentária em pacientes com câncer no aparelho reprodutor feminino e o relato de história familiar de FL/PNS não foram significativamente aumentados. O terceiro estudo realizou uma revisão sistemática e elegeu 21 estudos que abordam a associação entre câncer e 2D:4D. Dezesesseis deles (76,19%) reforçam a evidência da 2D:4D como importante

biomarcador associado a vários tipos de câncer. Embora a maioria dos estudos mostre uma associação significativa entre 2D:4D e câncer, as diferenças metodológicas das publicações científicas envolvendo essa relação entre 2D:4D e determinados tipos de câncer limitaram a elucidação por meio de metanálise. Apesar dessas limitações, 2D:4D permanece um biomarcador de exposição pré-natal a andrógenos que pode ter um valor preditivo no risco de alguns tipos de câncer.

Palavras-chave: Razão de dígitos. Agenesia dentária. Fenda labial. Fissura Palatina. Câncer uterino. Câncer de ovário. Revisão sistemática.

ABSTRACT

The digital ratio between the second and fourth digits of the hands, known as 2D:4D, has been suggested as a proxy biomarker for prenatal androgen activity and it is known as a marker associated with carcinogenic events. Cancer and congenital malformations have also been associated for they share common etiology. This study evaluated the association of the digital ratio (2D:4D), the occurrence of dental agenesis, and the family history of nonsyndromic cleft lip with or without cleft palate (NSCL±P) between women with or without cancer in the female reproductive system. Three studies were carried out, two of them case-control studies and one systematic review of the literature on the association between cancer and 2D:4D. The two case-control studies involved 105 patients with uterine or ovarian cancer (case group) and 210 clinically healthy women (control group), matched by age. On the first study, Student's *t* test for unpaired samples was used to compare the means of continuous variables – age, right 2D:4D (R2D:4D) and left 2D:4D (L2D:4D) – between case and control groups. A significance level of 5% ($p < 0.05$) was adopted. In this study, women in case group presented a R2D:4D slightly higher than women in control group ($p = 0.062$). The L2D:4D showed no statistically significant difference ($p = 0.222$). This slight trend of statistic association between the R2D:4D and cancer in the female reproductive system suggests that women with this type of cancer probably had a higher exposure to estrogen and a lower exposure to testosterone *in utero*. On the second study, descriptive and comparative statistical analyzes were performed with baseline characteristics from both groups, such as age, parental consanguinity, skin color, history of dental agenesis, and family history of NSCL±P. Pearson's chi-square and Fischer exact tests and Odds Ratio (OR) with confidence interval of 95% (CI 95%) were used in order to evaluate the association of dental agenesis and the history of NSCL±P in first-degree relatives between case and control groups. A significance level of 5% ($p < 0.05$) was adopted. It was observed that 2% of women in case group and 0.98% in control group reported congenital absence of at least one tooth (1df chi-square, $p = 0.464$; Fisher's exact test, $p = 0.600$). In the cancer group two patients reported family history of NSCL±P while in control group there were five reports of that (1df chi-square, $p = 0.787$; Fisher's exact test, $p = 1.000$). The occurrence of dental agenesis in patients with cancer in the female reproductive system and the family history of NSCL±P was not significantly increased. The third study was a systematic review with 21 studies that address the association between

cancer and 2D:4D. Among them, sixteen (76.19%) reinforced the evidence of 2D:4D as an important biomarker associated with various types of cancer. Although most studies point to a significant association between 2D:4D and cancer, the methodological differences in the studies involving this association with certain types of cancer limited the elucidation through meta-analysis. Despite these limitations, 2D:4D remains a biomarker of prenatal exposure to androgens which may have a predictive value in the risk of some types of cancer.

Keywords: Digit ratio. Tooth agenesis. Cleft lip. Cleft palate. Uterine cancer. Ovary cancer. Systematic review.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1: Distribuição proporcional dos dez tipos de câncer mais incidentes no Brasil estimados para 2020 por sexo, exceto os tumores de pele não melanoma.....	20
Figura 2: Relação entre a testosterona e estrogênio pré-natais e a 2D:4D.....	28
Figura 3: Mensuração direta do 2D e 4D da mão esquerda usando um paquímetro digital.....	31
Figura 4: Representação esquemática da odontogênese.....	39
Figura 5: Vias moleculares envolvidas na odontogênese.....	40
Quadro 1: Tipos de fissuras orofaciais segundo a classificação de Spina <i>et al.</i> (1973), modificada por Silva Filho (1992).....	46
Figura 6: Representação dos tipos mais comuns de fissuras orofaciais.....	47
Figura 7: Diagrama esquemático do desenvolvimento dos lábios e palatos em seres humanos.....	51
Tabela 1: Confiabilidade das mensurações dos dígitos medida por coeficientes de correlação intraclasses entre e intra-examinadores.....	64

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

2D	Segundo dígito
2D:4D	Razão entre o comprimento do segundo e quarto dedo da mão
2D:4D _D	2D:4D direita
2D:4D _E	2D:4D esquerda
4D	Quarto dígito
<i>AXIN2</i>	<i>Axis inhibition protein 2</i> (gene da proteína 2 de inibição <i>Axis</i>)
BMP	<i>Bone morphogenetic protein</i> (gene da proteína morfogenética do osso)
CCI's	Coefficientes de correlação intraclasse
CP	Câncer de próstata
d2D:4D	Método direto de medição da 2D:4D
E	Estrogênio
EF	Estrogênio fetal
EP	Estrogênio pré-natal
FGF	<i>Fibroblast growth factor</i> (Fator de crescimento de fibroblasto)
FGFR1	<i>Fibroblast growth factor receptor 1</i> (Receptor do Fator de Crescimento do Fibroblasto 1)
FL	Fissura labial
FL/P	Fissura labial e/ou palatina
FL/PNS	Fissura labial e/ou palatina não síndrômica
FLNS	Fissura labial não síndrômica
FLP	Fissura labiopalatina (envolvendo lábio e palato)
FLPNS	Fissura labial e palatina não síndrômica
FO	Fissuras orofaciais
FONS	Fissura oral não síndrômica
FP	Fissura palatina
FPNS	Fissura palatina não síndrômica
GWAS	<i>Genome-Wide Association Study</i> (Estudos de associação de larga escala genômica)
HAC	Hiperplasia adrenal congênita
HPV	Papilomavírus Humano

i2D:4D	Método indireto de medição da 2D:4D
IARC	<i>International Agency for Research on Cancer</i> (Agência Internacional para Pesquisa em Câncer)
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IDH	Índice de Desenvolvimento Humano
INCA	Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva
IRF6	<i>Interferon regulatory factor 6</i> (gene do fator regulador de interferon 6)
MSX1	<i>Muscle segment homeobox, homolog 1</i> (gene da homeobox do segmento muscular)
PAX 9	<i>Paired Box 9</i> gene
RA	<i>Androgen receptor</i> (gene do receptor andrógeno)
SHH	<i>Sonic hedgehog</i> (gene da família homeobox)
SNPs	<i>Single nucleotide polymorphisms</i> (polimorfismos de nucleotídeo único)
T	Testosterona
TF	Testosterona fetal
TP	Testosterona pré-natal
WNT	<i>Wnt Signaling Pathway</i> (via de sinalização <i>Wingless</i>)
$\Delta D-E$	Índice delta – 2D:4D _E subtraído da 2D:4D _D

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	19
2 OBJETIVOS.....	23
2.1 Objetivo Geral.....	23
2.2 Objetivos Específicos.....	23
3 REVISÃO DE LITERATURA.....	24
3.1 Câncer de útero e ovário.....	24
3.2 Razão digital (2D:4D).....	25
3.2.1 Métodos de medição e aspectos étnicos.....	29
3.2.2 Associação entre 2D:4D e câncer.....	32
3.3 Agenesia dentária.....	39
3.3.1 Odontogênese.....	39
3.3.2 Conceito, classificação e epidemiologia da agenesia dentária.....	40
3.3.3 Etiologia genética da agenesia dentária.....	42
3.3.4 Tumorigênese.....	43
3.4 Fissuras orofaciais.....	45
3.4.1 Conceito e classificação.....	45
3.4.2 Epidemiologia das fissuras orofaciais.....	48
3.4.3 Embriogênese do lábio e palato.....	49
3.4.4 Etiologia das fissuras orofaciais.....	52
3.4.5 Associação entre fissuras orofaciais e câncer.....	56
4 METODOLOGIA.....	61
4.1 Delineamento do estudo.....	61
4.2 População.....	61
4.2.1 Cálculo amostral.....	62
4.3 Coleta de dados e aspectos éticos.....	63
4.3.1 Calibração dos examinadores.....	63
4.3.2 Variáveis.....	64
4.4 Análise estatística.....	65
5 PRODUTOS.....	67
5.1 Artigo científico 1 – <i>Assessment of the association between 2d:4d and cancer in</i>	

<i>the female reproductive system</i>	68
5.2 Artigo científico 2 – <i>Dental agenesis and oral clefts in patients with cancer in the female reproductive system</i>	82
5.3 Artigo científico 3 – <i>Digital biomarker 2D:4D as a predictor of cancer: a systematic review</i>	97
6 CONCLUSÕES.....	119
7 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	120
REFERÊNCIAS.....	121
APÊNDICES.....	138
APÊNDICE A – Termo de consentimento livre e esclarecido.....	138
APÊNDICE B – Instrumento de coleta de dados na entrevista.....	140
ANEXOS.....	142
ANEXO A – Parecer do comitê de ética e pesquisa do projeto.....	142
ANEXO B – Figura padrão ilustrativa das fissuras orais.....	145

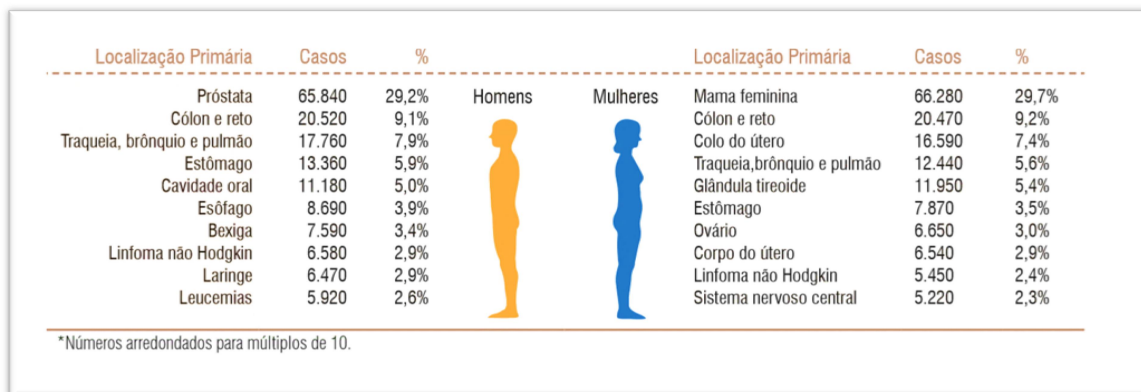
1 INTRODUÇÃO

Câncer é um dos principais problemas de saúde pública com impacto econômico em nível mundial e incidência em contínua ascensão, impulsionada pelo envelhecimento das sociedades, interesses comerciais e estilos de vida pouco saudáveis (1). Embasados em dados de 185 países, a *International Agency for Research on Cancer* – IARC estimou em 18,1 milhões os novos casos de câncer e em 9,6 milhões os óbitos por câncer para o mundo, em 2018, e um aumento acima de 60% de casos para 2040 (2). Atualmente, estima-se que um em cada quatro homens e uma em cada cinco mulheres serão diagnosticados com câncer, e um em cada oito homens e uma em cada onze mulheres morrerão por causa da doença (3).

No Brasil, o Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva (INCA) previu para o triênio 2020-2022 a ocorrência de 625.000 casos novos para cada ano, com predomínio nos homens. As taxas de incidência ajustadas por idade, à exceção do câncer de pele não melanoma, tanto em homens (215,86/100 mil) quanto para mulheres (145,00/100 mil) são consideradas intermediárias e compatíveis com as apresentadas para países em desenvolvimento (4). O perfil epidemiológico assemelha-se ao geral da América Latina e do Caribe, onde os cânceres de próstata em homens e mama em mulheres serão os mais frequentes (5).

As topografias mais incidentes por sexo estão ilustradas na Figura 1. Entretanto, ocorre grande variação na magnitude e nos tipos de câncer entre as diferentes regiões do Brasil, sendo que a região Sudeste concentra mais de 60% da incidência seguida pelas regiões Nordeste (27,8%) e Sul (23,4%). Na região Norte, por exemplo, as taxas dos cânceres de mama e de colo do útero se equivalem (4, 5).

Figura 1 – Distribuição proporcional dos dez tipos de câncer mais incidentes no Brasil estimados para 2020 por sexo, exceto os tumores de pele não melanoma*



Fonte: INCA, 2019 (4).

Pacientes, clínicos e pesquisadores esperam exames médicos que possam diagnosticar o câncer mais cedo, melhorar o prognóstico e, assim, permitir taxas de cura aumentadas. A triagem em populações saudáveis e de alto risco oferece a oportunidade de detectar o câncer precocemente, oportunizar o tratamento e otimizar a possibilidade de cura. Atualmente, há um papel definido para a triagem em alguns tipos de câncer, sendo que cada teste de triagem tem suas limitações e os métodos de triagem aprimorados são necessários. Infelizmente, muitos tipos de câncer ainda carecem de recomendações eficazes para a triagem ou, em alguns casos, os benefícios da triagem são marginais quando comparados aos potenciais danos (6).

A razão digital (2D:4D), razão entre o segundo e quarto dígitos das mãos, tem sido sugerida como um biomarcador padrão retrospectivo e não invasivo para a atividade de andrógenos pré-natais, com baixa 2D:4D refletindo maior exposição à testosterona (T) intrauterina e menor exposição a estrógenos fetais (7). É estabelecido que 2D:4D pode ser preditor de cânceres que mostram diferenças entre os sexos na sua ocorrência. Alguns genes foram correlacionados com a formação e diferenciação da razão de dígitos (8) e alguns deles foram correlacionados à carcinogênese (9). Assim, a 2D:4D tem sido um marcador ligado a eventos carcinogênicos e associada a várias neoplasias (10).

Câncer e malformações congênitas podem ocasionalmente ter uma etiologia comum (11, 12). Tal etiologia pode ser de origem ambiental, como observado em tratamentos maternos com fenitoína resultando na síndrome da hidantoína fetal e neuroblastoma nos descendentes, como também pode ser de origem genética (13, 14).

Uma das anomalias craniofaciais congênitas mais frequentes em humanos – agenesia dentária – tem compartilhado probabilidade de origem genética comum com o câncer, como observado no aumento da ocorrência de câncer em geral em famílias de indivíduos com essa condição (15). O aumento na prevalência da agenesia dentária congênita em mulheres com câncer ovariano epitelial também sugeriu que pode haver fatores genéticos comuns afetando tanto o desenvolvimento dental quanto a susceptibilidade para a formação de tumor epitelial ou cistos de ovário (16).

Outra malformação congênita bastante comum – fissura oral – também tem sido associada com câncer (17). As fissuras orofaciais (FO), especificamente as fissuras labiais (FL) e palatinas (FP), são as anomalias craniofaciais mais comuns ao nascimento e representam um importante problema para as pessoas e para a sociedade, com um custo de tratamento ao longo da vida estimado em 100.000 dólares (18, 19). Além das sequelas funcionais, psicológicas e sociais, essa condição impõe uma carga econômica para a família e para os sistemas de saúde: o tratamento requer uma equipe multidisciplinar e intervenções cirúrgicas e não cirúrgicas por longo período (18-20). Sua ocorrência varia consideravelmente de acordo com a área geográfica e os grupos étnicos e raciais (21, 22).

A etiologia de FO é complexa e relacionada tanto a fatores genéticos quanto ambientais. O componente ambiental foi reconhecido quando Warkany *et al.*, em 1943, associaram deficiências nutricionais com FP (23). Teratógenos reconhecidos que causam essas fissuras incluem fenitoínas, ácido valproico e talidomida e também exposições ambientais comuns, tais como uso de álcool e o tabagismo materno (24). Tem havido avanços na identificação das causas de mutações genéticas subjacentes nas formas sindrômicas de FO. Uma metanálise sobre estudos que avaliam a associação de genomas identificou e confirmou vários *loci* que estão implicados na etiologia dessa condição, mas as variantes causais específicas nesses *loci* ainda devem ser identificadas (25). Além disso, estudos epidemiológicos relacionam FO a um maior risco para vários tipos de câncer, tanto em indivíduo com a fissura quanto em membros de suas famílias (26-28). Embora essas associações tenham sido publicadas, os resultados ainda são conflitantes (29, 30).

A literatura científica vem estudando a associação do câncer com outras doenças, analisando fatores de risco e etiológicos comuns e buscando identificar biomarcadores que possam auxiliar na triagem de populações de risco para identificação precoce de potenciais portadores de câncer. Ao se considerar a importância dos temas e a escassez de estudos que analisam a

associação entre a 2D:4D, a ocorrência de agenesia dentária e história familiar de FO com o câncer, bem como seus resultados ainda conflitantes, reforça-se a necessidade de corroborar com esse tipo de análise.

Analisou-se a associação da razão digital 2D:4D, da ocorrência de agenesia dentária e da história familiar de fissura labial e/ou palatina não sindrômica (FL/PNS) entre pacientes com e sem câncer no aparelho reprodutor feminino em uma amostra da população brasileira. Este estudo buscou ampliar o conhecimento de possíveis biomarcadores preditores para essa doença de impacto na saúde pública mundial.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Avaliar a relação da razão digital 2D:4D, da agenesia dentária e a história familiar de fissuras orofaciais em pacientes com câncer no aparelho reprodutor feminino.

2.2 Objetivos específicos

- 1) Avaliar a relação da razão digital 2D:4D entre mulheres com e sem câncer de útero ou de ovário.
- 2) Avaliar a frequência de agenesia dentária em mulheres com e sem câncer de útero ou de ovário e a história de fissura labial e/ou palatina não sindrômica em seus parentes de primeiro de grau.
- 3) Realizar uma revisão sistemática de literatura da associação entre a razão digital 2D:4D e câncer.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Câncer de útero e ovário

Entre os cânceres que ocorrem em mulheres, o câncer de colo do útero ocupa o quarto (570 mil casos novos em 2018) e terceiro lugar nas estatísticas mundial e nacional, respectivamente (2, 4). As taxas de incidência mais elevadas foram estimadas para os países do Continente Africano (2). No Brasil, o número de casos novos do câncer de colo do útero esperados para cada ano do triênio 2020-2022, será de 16.590, com um risco estimado de 15,43/100 mil mulheres. Sua taxa de incidência varia amplamente de acordo com as regiões, de 21,20/100 mil mulheres (região Norte) a 12,01/100 mil (região Sudeste). Nesta região, sua taxa de incidência ocupa a quinta posição na população feminina (4). Em termos globais, a maioria dos casos ocorre em áreas com menores níveis de Índice de Desenvolvimento Humano – IDH (5).

Diferentemente do câncer de colo do útero, a maioria dos casos de câncer do corpo do útero ocorre em países com IDH elevado, com maior incidência na América do Norte e parte da Europa (central e oriental). A estimativa mundial aponta esse câncer como o sexto tipo mais frequente entre as neoplasias malignas do sexo feminino, sendo estimados 382 mil casos novos para o ano de 2018 (31). No Brasil, o número de casos novos desse câncer para cada ano do triênio 2020-2022, será de 6.540 casos novos em mulheres, correspondendo a um risco estimado de 6,07/100 mil mulheres (4).

O câncer de ovário representa o sétimo câncer mais comum e a oitava causa de morte relacionada ao câncer no mundo entre mulheres. Sua taxa de letalidade tende a ser maior em relação aos demais cânceres no aparelho reprodutor feminino (32). Nos países desenvolvidos, esse é tão frequente quanto o câncer do corpo do útero (35%) e colo do útero invasivo (27%). A incidência varia entre menos de 2/100 mil casos novos no sudeste da Ásia e na África a 15/100 mil casos novos no norte e leste Europeu (33). A estimativa mundial para 2018 é de cerca de 300 mil casos novos de câncer de ovário, apresentando um risco estimado de 6,6 casos/100 mil mulheres (31).

A incidência, a distribuição geográfica e o comportamento de tipos específicos de câncer estão relacionados a múltiplos fatores, incluindo sexo, idade, raça, predisposição genética e

exposição a carcinógenos ambientais. A carcinogênese pode iniciar-se de forma espontânea ou provocada pela ação de agentes carcinogênicos químicos, físicos e/ou biológicos (34).

No câncer de colo do útero, as infecções persistentes pelo papilomavírus humano (HPV) são os principais fatores envolvidos na sua etiologia. Vários fatores são conhecidos por aumentar o risco de ambos, infecção persistente pelo HPV e progressão do câncer, incluindo imunossupressão, multiparidade, tabagismo (a doença está diretamente relacionada à quantidade de cigarros fumados) e o uso prolongado de contraceptivos orais (5, 35).

O tipo mais comum de câncer do corpo uterino se origina no endométrio (>90%) e é frequentemente referido como câncer endometrial (35). A *American Cancer Society*, em recente estudo (2019), estima que 70% dos casos de câncer do corpo uterino são associados ao excesso do peso corporal e à falta de atividade física (35), corroborado pela publicação da IARC, que concluiu que o excesso de gordura corporal estava associado ao aumento do risco de 13 tipos de câncer, entre eles, o câncer do corpo uterino (36). A obesidade e a gordura abdominal aumentam substancialmente esse risco, em parte aumentando a quantidade de estrogênio (E) circulante, que é um forte fator de risco. Além da obesidade, outros fatores de risco associados são predisposição genética, *diabetes mellitus*, hiperplasia endometrial, anovulação crônica, exposição à radiação, uso de E na menopausa, menarca precoce, menopausa tardia, nuliparidade, síndrome do ovário policístico e síndrome de Lynch (5, 35).

Histórico familiar de câncer de mama ou de ovário é um importante fator de risco para o câncer ovariano (32). Associada à predisposição genética conhecida, observa-se que 31% dos carcinomas ovarianos apresentam mutações germinativas e/ou somáticas em um ou mais de 13 genes de recombinação homóloga, dentre eles os genes *BRCA1* ou *BRCA2* (37). Os cânceres ovarianos compartilham fatores de risco com aqueles do corpo uterino, tais como o uso de terapia de reposição hormonal e o excesso de peso corporal (32).

3.2 Razão digital (2D:4D)

A razão digital, conhecida como 2D:4D, se refere à razão entre os comprimentos do segundo dígito (indicador) e o quarto dígito (anelar) das mãos e é sexualmente dimórfica. Os homens tendem a ter o quarto dígito (4D) mais longo em relação ao segundo dígito (2D), o que produz uma baixa 2D:4D em relação às mulheres que apresentam uma alta 2D:4D (38).

A 2D:4D atraiu pouca atenção até 1998, quando foi sugerido que a testosterona fetal (TF) e o estrogênio fetal (EF) influenciavam a formação dessa razão digital, tal que uma baixa 2D:4D estaria indicando elevada exposição à testosterona pré-natal (TP) e uma baixa exposição ao estrogênio pré-natal (EP), e uma alta 2D:4D indicaria o inverso, ou seja, uma baixa exposição à T e alta exposição ao E intrauterino (7). Essa afirmação de que a 2D:4D seja um correlato morfológico de TF e EF foi derivada de dois conjuntos de dados do estudo de Manning *et al.* (1998): (i) efeitos da idade, onde uma amostra longitudinal de crianças e adultos com idade entre 2 e 25 anos mostrou diferença entre os sexos na 2D:4D; os homens tendiam a ter menores 2D:4D do que as mulheres, sem nenhuma mudança significativa da média da 2D:4D com o avançar da idade, sugerindo que o dimorfismo sexual fosse determinado precocemente na ontogenia, provavelmente no útero; e (ii) efeitos hormonais e de fertilidade, através de dados de 131 participantes (69 homens) com uma alta 2D:4D associada à insuficiência de células germinativas, ao baixo número de espermatozoides e a altos níveis de E, enquanto a baixa 2D:4D estava relacionada ao alto nível de T e dos números de espermatozoides. Esse estudo concluiu que há diferença de sexo na 2D:4D determinada por um equilíbrio de T e E, provavelmente intrauterino, e que os níveis desses hormônios nos adultos refletem concentrações pré-natais dos esteroides sexuais (7).

Posteriormente ao estudo de Manning, a evidência mais convincente e direta de que a 2D:4D seja um marcador que reflete os níveis de TP veio de três tipos de estudos que associam níveis efetivos de TP diretamente à 2D:4D na vida mais tardia. O primeiro estudo de Lutchmaya *et al.* (2004) obteve níveis de estradiol e T por amniocentese no segundo trimestre de gestação de 29 fetos e os relacionou à 2D:4D mensurada dois anos após nascimento. Nenhuma relação foi observada entre a 2D:4D esquerda ($2D:4D_E$) e a T, mas a 2D:4D direita ($2D:4D_D$) foi correlacionada negativamente tanto com a T quanto com a T/estradiol. No entanto, o pequeno tamanho da amostra resultou em poder estatístico baixo e amplo intervalo de confiança (IC) (39).

O segundo tipo de estudo compara a 2D:4D entre pessoas clinicamente saudáveis e afetadas pela hiperplasia adrenal congênita (HAC), um distúrbio que causa excessiva produção de andrógenos durante a gestação. Os níveis hormonais são geralmente normalizados ao nascimento, de modo que as diferenças físicas e comportamentais entre indivíduos com HAC e sem HAC podem ser atribuídas, principalmente, aos efeitos de andrógenos pré-natais anormais. Esse estudo sugere ainda que a diferença sexual humana na 2D:4D reflita um efeito da organização de andrógenos atuando no período pré-natal para alterar permanentemente os

padrões de comprimento dos dedos (40-43). Uma metanálise englobando esse modelo de estudo envolveu as quatro combinações de sexo, mão e a 2D:4D e demonstrou um desvio padrão (DP) de 0,8, ou seja, uma 2D:4D mais masculina em pessoas com HAC do que em controles pareados por sexo, sustentando a ideia de que uma baixa 2D:4D reflita altos níveis TP (44). Por fim, o terceiro tipo de estudo se refere a homens que não possuem efetivamente a exposição à TP devido à insensibilidade androgênica completa e demonstra razões digitais tipicamente femininas (45).

Existem também estudos que demonstram o mesmo dimorfismo sexual relatado em humanos nos padrões de comprimentos digitais de camundongos. Em um estudo nesse modelo, as fêmeas apresentaram uma proporção significativamente maior de 2D:4D na pata traseira direita em relação aos machos. Essa descoberta é consistente com os dados humanos, tanto na direção da diferença de sexo, quanto na lateralidade da diferença de sexo (mais pronunciada à direita do que à esquerda) (46).

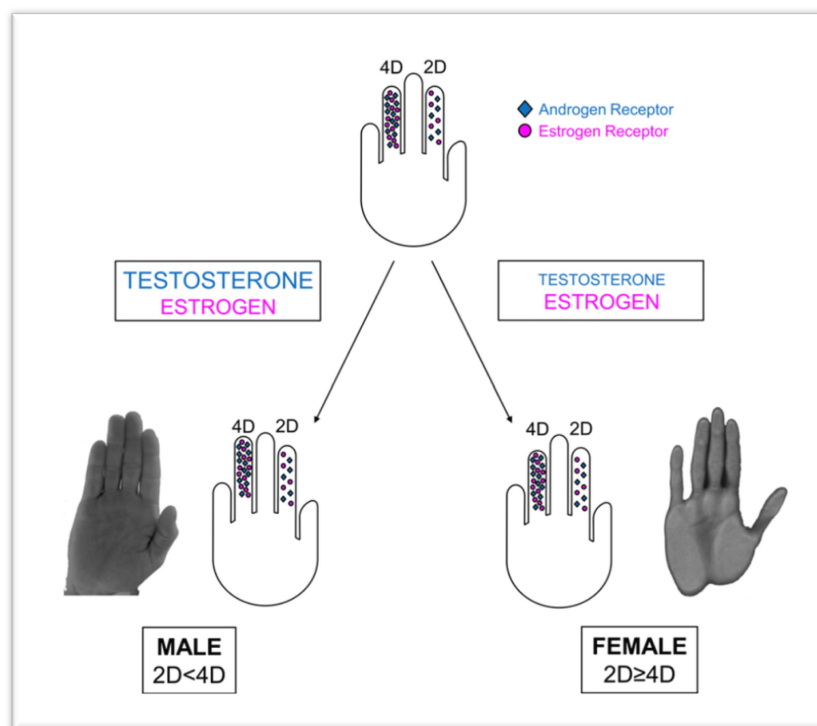
O emprego da 2D:4D como marcador dos efeitos da TP é corroborado pelo fato de que a 2D:4D parece não estar relacionada a níveis circulantes de hormônios sexuais, o que sugere que quaisquer relações entre a 2D:4D e as variáveis de interesse dos estudos reflitam os efeitos pré-natais e não os efeitos da T circulante (44, 47). Entretanto, os resultados que abordam essas questões foram conflitantes em outros estudos *a posteriori*, pois parte desses não sustenta essa afirmação. Enquanto alguns declaram que os níveis atuais de T circulante são negativamente correlacionados à 2D:4D (48, 49), outros mostram que são positivamente correlacionados (50, 51).

Um trabalho científico recente, no entanto, reexaminou por meio da replicação de estudos e de uma metanálise a relação entre o comprimento CAG no *exon 1* do gene receptor andrógeno (*RA*), os níveis atuais de T circulantes e a 2D:4D. Esse estudo não demonstrou associação significativa nesse tipo de relação (52). Essas descobertas reforçam não somente a falta de associação da 2D:4D com os níveis de T circulante na atualidade, mas também que a 2D:4D poderia ser usada como um indicador para as diferenças individuais da exposição aos andrógenos pré-natais, desconsiderando os níveis atuais de T (52).

Zheng e Cohn (2011) fornecem evidências experimentais de que a razão de dígitos é uma assinatura vitalícia da exposição hormonal pré-natal e sugere que a 2D:4D possa servir como um indicador de sinalização endócrina desequilibrada durante o desenvolvimento inicial, o que pode auxiliar na identificação das origens fetais de doenças em adultos. Demonstram

também que a 2D:4D é determinada não apenas pela TP, mas pelo equilíbrio da sinalização de TP para o EP, em uma estreita janela de tempo no desenvolvimento dos dígitos fetais. Usando um marcador molecular precoce (*SOX9*) para determinação da cartilagem nos dígitos, encontraram que as diferenças sexuais da 2D:4D em ratos são estabelecidas entre o 12,5º dia e 17º dia da embriogênese. Por meio de evidências diretas, demonstraram que as razões digitais sexualmente dimórficas são causadas pela sinalização de andrógenos e estrógenos e que o 4D é mais rico em RA e E do que o 2D, conforme ilustrado na Figura 2 (53). A atividade desses receptores influenciaria a proporção da 2D:4D por modulação dos níveis de expressão gênica esquelética e proliferação celular digital específica. Por fim, fornecem uma lista de pelo menos 19 genes esqueléticos sensíveis à TP ou EP e envolvidos na formação das falanges do 4D (8).

Figura 2 – Relação entre a testosterona e estrogênio pré-natais e a 2D:4D



Como descrito por Zheng e Cohn (2011), receptores para andrógenos e estrogênios estão presentes no 2º (2D) e 4º (4D) dígito de ratos, contudo são mais abundantes no 4D. A proliferação de condrócitos é estimulada por testosterona pré-natal (TP), mas interrompida pelo estrogênio pré-natal (EP). Comparados com as fêmeas, os machos têm maiores níveis de TP em relação ao EP, sendo o 4D mais longo que o 2D. Assim, a diferença sexual em 2D:4D é dependente de alterações pré-natais no 4D causadas por diferenças dependentes do sexo na razão TP/EP. Exemplos de mãos humanas, masculina e feminina, são mostrados para comparação.

Fonte: Manning, 2011 (53).

O estudo de Honekopp e Watson revela que a $2D:4D_D$ pode ser um melhor indicador de androgenização pré-natal do que a $2D:4D_E$. Essa metanálise demonstra que a magnitude do dimorfismo sexual depende da mão, com maior diferença de sexo na mão direita, e da forma como os comprimentos dos dedos são medidos, em que medidas indiretas (fotocópias, digitalizações ou fotografias) resultam em uma diferença de sexo maior do que medidas tiradas diretamente das mãos (44).

3.2.1 Métodos de medição e aspectos étnicos

Vários métodos têm sido usados para avaliar a $2D:4D$, incluindo medidas físicas com paquímetros (7), medidas indiretas por fotocópias (54), imagens digitalizadas (55), fotografias digitais (56), radiografias (57), impressões das mãos com tinta (58) e auto mensurações por aproximação com figuras (59). Cada um desses métodos possui limitações relacionadas à viabilidade e custos, mas, em geral, medições físicas, fotocópias e imagens digitalizadas são as técnicas mais usadas (60).

Diferenças nos comprimentos dos dedos entre a medição física direta e as fotocópias podem ser resultantes das formas dos coxins de gordura nas pontas dos dedos (54). Um aumento do tamanho do coxim gorduroso pode favorecer um aumento da curvatura e do comprimento aparente dos dedos na fotocópia (54). Portanto, para medir o comprimento dos dígitos, é recomendável medir o comprimento total dos ossos ou falanges, mas, na prática, as medições geralmente envolvem os tecidos moles dos dedos (61).

Em 1998, Manning *et al.* relataram comprimentos de dígitos medidos de maneira direta a partir da superfície ventral dos dedos, utilizando-se paquímetro digital. Os pontos de referência da medição desse método consistem da ligação linear entre um ponto médio da ponta distal do dedo até o sulco mais proximal à palma da mão, conforme ilustrado na Figura 3. Esse método direto de medição da $2D:4D$ ($d2D:4D$) apresenta limitações, pois exige maior tempo do participante, pode ser afetado por movimento dos dedos, exigindo que sejam mantidos firmes e retos durante a mensuração em todas as condições experimentais, e também necessita de mais de uma mensuração para avaliar a acurácia (7).

As dificuldades do método direto levaram Robinson e Manning a usar um método indireto de medição ($i2D:4D$) dos dedos, utilizando-se fotocópias das mãos. O estudo comparou os

métodos de medição (d2D:4D e i2D:4D) e relatou elevados coeficientes de correlação intraclasse (CCI's) para d2D:4D *versus* i2D:4D. No entanto, valores de CCI's não são sensíveis a efeitos direcionais nem indicam diferenças de escala, isto é, se a d2D:4D e a i2D:4D diferem em magnitude (61, 62).

Preocupações com questões de diferença de escala em 2D:4D baseada em imagens surgiram quando pesquisadores apresentaram evidências de que os comprimentos de 2D e 4D medidos indiretamente podem fornecer valores médios de 2D:4D que mostram efeitos direcionais tais que $d2D:4D > i2D:4D$ (54). Essa preocupação aumentou principalmente quando um grupo de pesquisadores austríacos publicou três estudos (63-65) cujos resultados não replicaram o efeito direcional citado anteriormente.

Outros oito estudos em seis países (Inglaterra, Canadá, Arábia Saudita, Espanha, Coreia, EUA) também produziram o mesmo efeito direcional da i2D:4D visto por Manning *et al.*, sendo seis por medições relatadas pelo pesquisador (60, 66-70) e duas por medições autorreferidas (71, 72). Além disso, uma metanálise de estudos chineses também mostrou um efeito direcional significativo ($d2D:4D > i2D:4D$) (38).

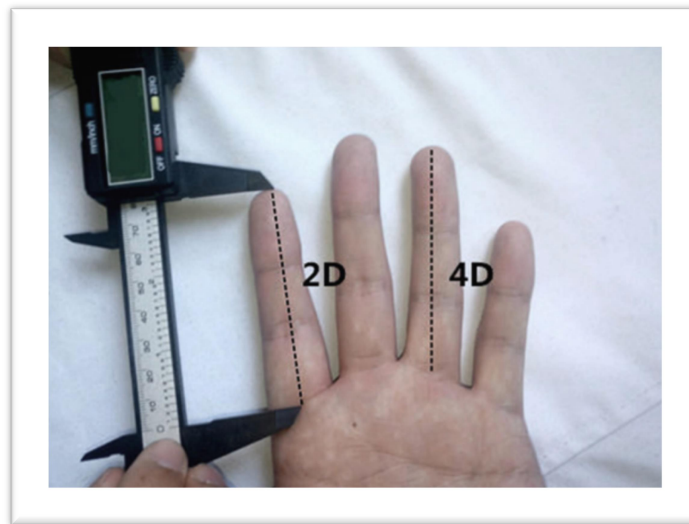
Destaca-se, contudo, que os pontos de medição para d2D:4D e i2D:4D são idênticos, mas as médias da 2D:4D são significativamente diferentes entre esses dois métodos (61). A comparação das médias da 2D:4D é importante na literatura da razão de dígitos, considerando que vários estudos utilizam a média da 2D:4D como referência nas suas comparações (61). Portanto, se as médias da d2D:4D e i2D:4D mostram diferenças direcionais, é essencial que nessas comparações o protocolo de medição de dígitos (direta ou indireta) seja o mesmo (61).

Recentemente, ao se considerarem essas informações, foi avaliado se haveria efeitos nação-específicos entre a população de austríacos na comparação dos métodos de medição, d2D:4D e i2D:4D. Os resultados ($d2D:4D > i2D:4D$) foram distintos aos três estudos publicados por Voracek *et al.*, reforçando que os resultados desses autores podem estar associados à falta de clareza dos relatos (63, 65) ou a um reduzido poder do estudo pelo tamanho limitado da amostra (61, 64).

Revisão crítica, publicada em 2016, aponta que o melhor método de medição dependerá do tamanho da amostra e do tempo para realização da pesquisa. Quando um número reduzido de participantes estiver envolvido e houver tempo suficiente para a medição, são indicadas medidas diretas. Para amostras mais robustas e/ou amostras que requeiram medição rápida, a

medição indireta pode ser apropriada. No entanto, para este último, pode ser prudente garantir que os participantes sejam instruídos a colocar levemente a mão na placa de vidro da fotocopiadora/scanner (70).

Figura 3 – Mensuração direta do segundo dígito (2D) e quarto dígito (4D) da mão esquerda usando um paquímetro digital



Fonte: Li *et al.*, 2017 (73).

Variações na 2D:4D também têm sido relatadas entre diferentes grupos étnicos e geográficos. Manning *et al.* demonstraram medidas de 2D:4D entre vários grupos étnicos com proporções médias variando entre populações de etnias europeia, asiática e africana (74-76). Um estudo envolvendo crianças aponta proporções mais altas entre os caucasianos quando comparados aos negros em relação à etnia oriental Han, da China (74).

Diferentes populações caucasianas também mostram diferenças entre si nas proporções da 2D:4D. Por exemplo, os ingleses têm taxas de 2D:4D relativamente altas, enquanto os finlandeses têm taxas relativamente baixas; homens heterossexuais americanos tendem a ter menores 2D:4D do que britânicos e australianos com histórico de descendência britânica (77, 78).

Há evidências de que a média da 2D:4D apresenta maiores proporções para brancos, asiáticos não chineses e do Oriente Médio e menores proporções em amostras chinesas e negras (79). Na metanálise chinesa, a 2D:4D em indivíduos chineses (etnia Han) foi maior do que nas

populações negras, contudo menor nos caucasianos e hispânicos quando utilizando a medida indireta dos dígitos. Essas diferenças étnicas em 2D:4D indicam ainda que fatores genéticos provavelmente afetam a 2D:4D (38).

3.2.2 Associação entre 2D:4D e câncer

Ao se considerar que os esteroides sexuais pré-natais têm sido frequentemente implicados na etiologia de comportamentos e doenças, a literatura científica sugere que níveis relativos à TP e EP podem ter efeitos sobre a fertilidade, rapidez, força, agressividade, autismo, cânceres e cardiopatias. No entanto, a dificuldade de avaliá-los dificultou o estabelecimento de vínculos convincentes (53). Uma revisão desenvolvida em 2014 destaca três frentes de estudos com a 2D:4D envolvendo traços psicológicos, desempenho corporal e susceptibilidade às doenças da vida adulta. Foi estabelecido que a 2D:4D pode ser preditiva de susceptibilidade a câncer e isso pode ser particularmente verdadeiro em cânceres que mostram diferenças entre os sexos em sua ocorrência, progressão e/ou prognóstico (10).

Vários estudos científicos buscam analisar a associação entre a 2D:4D e câncer (10, 80-82). Aqueles que avaliam essa associação envolveram amostras populacionais de diversos países como China (83-85), Austrália (86, 87), Espanha (88), Inglaterra (89), Coreia do Sul (90), França (91), Lituânia (92), Reino Unido (59, 93), EUA (94) e Brasil (9, 80, 82, 95-100).

Publicações das duas últimas décadas fornecem evidências que fortalecem a perspectiva da 2D:4D como um possível biomarcador associado a tipos distintos de câncer, como o de mama, gástrico, próstata, cerebral, oral, colorretal e cervical (9, 59, 82-85, 87-90, 92, 93, 95-98, 100). Outras não confirmam esse tipo de associação e envolvem também tipos distintos de câncer, como leucemia linfoblástica aguda e o câncer de testículo (80, 86, 91, 94, 99).

Câncer de próstata

O câncer de próstata (CP) está entre os tipos mais investigados na associação com a 2D:4D. Estudos realizados na República da Coreia do Sul, Reino Unido e Brasil demonstram uma baixa 2D:4D como preditora para o risco de CP (59, 82, 90, 100).

O estudo coreano envolvendo homens com sintomas do trato urinário baixo revela que indivíduos com menor 2D:4D na lateralidade direita têm maior taxa de detecção do CP, uma alta porcentagem de volume do câncer na biópsia e um alto escore de *Gleason* (90). O maior estudo já realizado sobre a 2D:4D, uma coorte inglesa envolvendo 1.524 pacientes com CP e 3.044 controles saudáveis, também observa o efeito protetor da alta razão digital na lateralidade direita (59). No entanto, esse estudo utilizou a mensuração digital por questionários e auto-identificação, podendo apresentar menor acurácia. A confiabilidade da 2D:4D por automensuração desse estudo é cerca de 46% em relação à mensuração direta executada por especialistas (44).

O primeiro estudo conduzido por um grupo brasileiro, em 2012, também demonstra que homens com CP apresentam a 2D:4D significativamente menor do que homens sem lesões prostáticas (100). Outro estudo nessa população, publicado em 2016, corrobora com a predição de risco da baixa 2D:4D, tanto na lateralidade direita quanto na esquerda. Esse estudo demonstra também que a 2D:4D parece não estar relacionada com a severidade da doença medida através do escore de *Gleason* (82). Na população brasileira, somente o estudo realizado por Salomão *et al.* demonstra que a 2D:4D não desempenha o papel preditor para o risco de CP (99).

Em oposição aos estudos já mencionados, uma pesquisa espanhola foi a única publicação até o presente que demonstrou um efeito protetor da baixa razão digital para o CP na lateralidade esquerda (88). Os autores optaram por estudar a lateralidade esquerda e não consideraram que a 2D:4D_D possa ser um melhor indicador de androgenização pré-natal comparado à 2D:4D_E (44).

Foi sugerido que a 2D:4D_D prevê a atividade do gene *RA*. É bem conhecido que a *T* e o *RA* desempenham papéis cruciais no crescimento da próstata e no desenvolvimento do câncer prostático. Apesar da controvérsia e da crítica (101), postulou-se que a 2D:4D_D esteja correlacionada positivamente ao número de repetições do CAG do gene do *RA* e que indivíduos com baixa 2D:4D possuam alelos com baixo número de repetições do CAG (102, 103). As curtas repetições do CAG do *RA* foram relatadas como estando associadas à patogênese do CP (104, 105).

Na pesquisa do grupo australiano, *the Melbourne Collaborative Cohort Study*, nenhuma associação foi encontrada entre a 2D:4D e o risco de CP no geral. Entretanto, houve uma fraca associação inversa entre a razão digital e o início mais precoce do câncer (86). Os

diferentes métodos e aspectos étnicos das amostras populacionais envolvidas podem explicar parcialmente os resultados contraditórios (73, 82, 86).

O CP é um tipo de doença multifatorial influenciado por questões étnicas, ambientais e genéticas (73). Os genes *HOX* regulam a embriogênese, a morfogênese e a diferenciação celular de humanos, incluindo os genitais e dígitos, e tem sido sugerido que tais genes estejam desregulados em tumores malignos (106, 107). Em células primárias de CP, as expressões gênicas *HOX8* ou *MSX2* são bastante reduzidas, seguidas por um aumento gradual nas linhas celulares mais agressivas do CP (108).

Câncer de testículo

Há poucos fatores de risco estabelecidos para o câncer testicular além de idade, raça/etnia, altura na idade adulta, história de criptorquidia e de câncer na família (109). É sugerido que as exposições *in utero* sejam importantes na etiologia do câncer testicular, pois dados histopatológicos demonstram que esse tipo de câncer surge das células germinativas primordiais do feto (gonócitos) e se desenvolve através do precursor, o carcinoma *in situ* (110).

Os dois estudos sobre o tema, no entanto, não encontraram associação entre o câncer testicular e a 2D:4D_D (91, 94) e a 2D:4D_E (94). Esses estudos utilizaram métodos distintos de mensuração digital, sendo que um deles aferiu por meio do autorrelato (94) e o outro através de paquímetro (91). Trabert *et al.* reconheceram limitações do estudo, tais como o reduzido tamanho da amostra e a baixa proporção de respostas ao questionário aplicado (94).

Câncer de Mama

Até a presente data, quatro estudos avaliaram a associação da 2D:4D e o risco do câncer de mama (83, 87, 89, 95). Em todos os estudos há significância estatística na associação entre a 2D:4D_E e o risco de câncer de mama, sendo que na lateralidade direita a associação deixa de ocorrer em uma das pesquisas (87).

Há evidências de pesquisa experimental envolvendo camundongos de que os hormônios sexuais e os genes envolvidos na diferenciação fetal da 2D:4D também possam estar envolvidos na iniciação de glândulas mamárias. Durante o desenvolvimento dos dígitos, há

pelo menos 19 genes esqueléticos ativados ou desativados pela TP e EP (8). Entre esses, existem três genes – via de sinalização *Wingless (WNT)*, fator de crescimento de fibroblasto (*FGF*) e receptor do fator de crescimento do fibroblasto 1 (*FGFR1*) – que influenciam os genes *TBX* que, por sua vez, iniciam a formação da glândula mamária (111). Dessa forma, se o desenvolvimento fetal das glândulas mamárias está ligado à predisposição ao câncer de mama em adultos, então, a 2D:4D pode ser um indicador dessa predisposição à doença. Além disso, há algumas evidências de que o gene *SOX9*, que é também ativado ou desativado por EP e TP durante o desenvolvimento da 2D:4D (8), possa ser importante para o início e metástase do tumor mamário (112).

O estudo brasileiro e o chinês (83, 95) demonstram que mulheres com alta 2D:4D_E apresentam câncer de mama em idade mais precoce do que mulheres com menores 2D:4D. Esses resultados são consistentes com a pesquisa de Manning e Leinster (89). Um estudo australiano sobre esse mesmo tipo de câncer, no entanto, destaca uma aparente contradição em seus resultados, ou seja, uma associação direta entre o risco e a 2D:4D_E e uma associação inversa com o $\Delta D-E$ (índice delta – 2D:4D_E subtraído da 2D:4D_D), além de nenhuma associação entre a 2D:4D_D e esse risco (87).

Evidências até o momento sugerem que tanto a 2D:4D_D quanto o $\Delta D-E$ estejam inversamente associados à exposição pré-natal e à sensibilidade à T, enquanto que há apenas evidências relativamente fracas de alguma associação com a 2D:4D_E (44, 113). Não obstante, alguns estudos indicam que o $\Delta D-E$ é um correlato mais forte de exposição ou sensibilidade à TP do que a 2D:4D_D (103, 114).

Ao considerarem o papel incerto dos andrógenos como risco para o câncer de mama, os autores australianos especulam como a exposição à TP aumentaria esse risco em mulheres na vida adulta e presumem que essa exposição à T exerceria efeitos diretos e indiretos (conversão da T em E pela enzima aromatase), refletindo uma exposição cumulativa ou crítica ao E intrauterino, assim como na vida adulta (87).

Os resultados conflitantes reforçam a importância da avaliação de ambas as mãos nesse tipo de estudo, além do controle da variação étnica na metodologia, uma vez que ambos influenciam os resultados. Nesse contexto, percebe-se que o estudo baseado na população brasileira envolveu uma extensiva mistura de três diferentes raízes ancestrais: ameríndios, europeus e africanos (95).

Câncer gástrico

O câncer gástrico é mais frequente em homens e, geralmente, é considerado uma doença causada por hormônios (115, 116). Alguns estudos demonstram que os hormônios sexuais podem desempenhar um papel importante na regulação do crescimento e na função do tecido epitelial gástrico (115, 117).

Os estudos que analisam a associação do câncer gástrico e a 2D:4D buscam elucidar se pacientes com câncer gástrico podem ter tido exposição relativamente maior à T ou menor exposição ao E durante o desenvolvimento fetal (85). Estudos relatam que a T está relacionada a infecções por *Helicobacter pylori*, um dos principais fatores etiológicos na carcinogênese gástrica, enquanto o E possui efeito protetor sobre essas infecções em modelos animais (116, 118).

Até o presente momento, somente quatro estudos avaliaram a associação entre o risco do câncer gástrico e a 2D:4D, sendo dois brasileiros e dois chineses (9, 84, 85, 98). O primeiro estudo brasileiro envolveu amostra de ambos os sexos e demonstra ausência de associação entre os grupos com ou sem câncer quando comparou a 2D:4D_D. Entretanto, na lateralidade esquerda, houve associação estatisticamente significativa da alta 2D:4D e do baixo $\Delta D-E$ no grupo de pacientes com câncer gástrico, particularmente em homens (9).

Sabe-se que o alto nível de TF resulta em uma baixa razão digital (102). Observa-se semelhança no padrão de resultados do estudo brasileiro (9) com o resultado do estudo envolvendo a avaliação de risco em pacientes com câncer de mama (87) em que a influência da TP se evidencia pelo menor $\Delta D-E$ no grupo com câncer em relação ao controle.

De modo discordante, os dois estudos envolvendo amostra de população chinesa (84, 85) – um com amostra exclusivamente masculina e o outro, exclusivamente feminina – demonstram associação estatisticamente significativa da baixa 2D:4D em ambas as mãos no grupo de pacientes com câncer gástrico. Entretanto, o $\Delta D-E$ não apresenta diferença estatística entre os grupos.

Os autores dos estudos chineses justificam as diferenças de seus resultados em relação a um dos estudos brasileiros (9), destacando que o câncer gástrico é muito mais comum na população do oeste asiático, além das diferenças no tamanho da amostra e no método de seleção (84, 85). Wang *et al.* sugerem que não apenas a 2D:4D_D mas também a 2D:4D_E

possam ser preditoras dos níveis de TP/EP e produzem informações consideradas importantes sobre esse risco em mulheres (84).

Câncer Oral

O único estudo envolvendo essa topografia de câncer foi realizado com amostra de população brasileira e demonstra significância estatística entre os grupos com alta 2D:4D_D associada ao risco de câncer oral. Os autores selecionaram somente indivíduos tabagistas para reduzir a influência de um dos fatores etiológicos do câncer (96).

O tabagismo e o consumo de álcool são os principais fatores etiológicos do carcinoma epidermoide de boca que também tem sido correlacionado com o HPV, nutrição, higiene bucal e desregulação dos genes *p53*, *HOX* e *RA* (119, 120). Os genes *HOX a*, *b* e *d* estão superexpressos em cânceres de cabeça e pescoço (121). A carcinogênese pode residir em outros fatores genéticos, como na ação do gene *RA* (120) ou de variantes no gene *LIN28b*, que também foram correlacionadas com a razão digital (122).

Tumor cerebral

A pesquisa envolvendo tumores cerebrais demonstra que tanto a 2D:4D_D quanto a 2D:4D_E são significativamente menores no grupo de pessoas com tumor cerebral em relação aos controles saudáveis. Essa aponta uma maior idade na apresentação do meningioma e glioma associada a um maior $\Delta D-E$ e a uma menor 2D:4D_E (92).

Existem evidências sugerindo que os esteroides sexuais estejam associados ao desenvolvimento e à progressão de gliomas e meningiomas (123). Considera-se que os mesmos genes envolvidos na diferenciação digital estejam relacionados ao desenvolvimento e à agressividade do câncer do sistema nervoso central, sugerindo que a 2D:4D possa refletir a programação fetal dependente de esteroides sexuais para determinados tumores cerebrais (10). No entanto, há também relato de que a evidência da associação da 2D:4D com genes *HOX* foi bastante fraca (8).

Câncer de colo do útero

Até o presente, há somente um estudo que aborda a associação entre a 2D:4D e um dos cânceres uterinos. Esse estudo, publicado em 2008, demonstra que mulheres que desenvolvem algum tipo de displasia cervical apresentam uma maior 2D:4D do que mulheres sem essa displasia (93). Desde então, nenhum outro estudo buscou avaliar esse tipo de associação.

Os autores hipotetizaram que uma menor exposição a andrógenos na vida fetal inicial poderia predispor a uma infecção persistente pelo HPV. Uma diferença de exposição à TF refletiria na resposta imune ao HPV entre mulheres na vida adulta e, por sua vez, a um risco aumentado de câncer cervical (93). A infecção persistente pelo HPV tem sido considerada responsável por 70% das causas de câncer cervical (32). No entanto, o tamanho da amostra do estudo não foi suficiente para esclarecer a associação entre a 2D:4D e a persistência de infecção pelo HPV após um ano de acompanhamento dessas mulheres (93).

Câncer colorretal

Um estudo brasileiro sugere que o EP esteja correlacionado ao câncer colorretal em homens e mulheres, como evidenciado pela alta 2D:4D em ambas as lateralidades. A alta 2D:4D_E, particularmente no câncer retal, pode indicar uma influência ainda maior do E nesse subtipo de câncer (97).

Considera-se que os esteroides sexuais desempenham um papel importante na incidência e progressão do câncer colorretal (97). No entanto, os autores justificam que parece haver um efeito em forma de U na carcinogênese e no prognóstico desse tipo de câncer em que uma baixa T é cogitada desempenhar um papel importante na transformação e diferenciação malignas (124) e o estrógeno parece estar negativamente correlacionado à progressão do tumor (125).

A influência genética no câncer colorretal parece estar especialmente correlacionada à incidência, progressão e metástase influenciadas por genes que também estão correlacionados no estabelecimento da razão digital (8). Tais genes podem estar positivamente correlacionados à TP e, portanto, correlacionados negativamente ao EP ou vice-versa (97).

Leucemia linfoblástica aguda

Em uma pesquisa envolvendo pacientes com leucemia linfoblástica aguda e a 2D:4D observa-se, na análise geral e estratificada por sexo, que nenhuma diferença significativa foi

encontrada nas razões digitais direita e esquerda em crianças com esse câncer e os controles. Os autores cogitam que a exposição aos hormônios sexuais pré-natais seja semelhante entre os grupos (80).

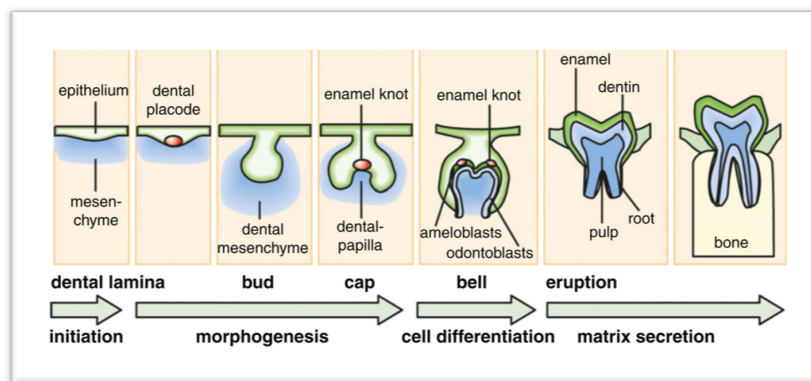
3.3 Agenesia dentária

3.3.1 Odontogênese

A odontogênese é um processo altamente coordenado e complexo que envolve interações mútuas entre o ectoderma oral e ectomesênquima derivado da crista neural (126) que pode ser dividido em vários estágios distintos de desenvolvimento – iniciação, botão, capuz, campânula e rizogênese – conforme esquematizado na Figura 4 (127).

As lâminas dentárias da mandíbula e maxila são formadas por volta da sexta semana intrauterina e o desenvolvimento dos dentes primários começa após essa fase, aproximadamente na oitava semana intrauterina (128, 129). A proliferação do ectoderma oral na lâmina dentária leva à formação dos brotos dentários. O desenvolvimento do broto dentário contém os determinantes genéticos para transcrição de proteínas responsáveis pela iniciação das vias que conseqüentemente regulam o número de dentes que serão formados (128, 129). Falha na iniciação dentro da lâmina dentária leva à agenesia dentária. O desenvolvimento dos brotos dentários de dentes permanentes ocorre entre a 10^a e 13^a semana intrauterina (129).

Figura 4 – Representação esquemática da odontogênese *

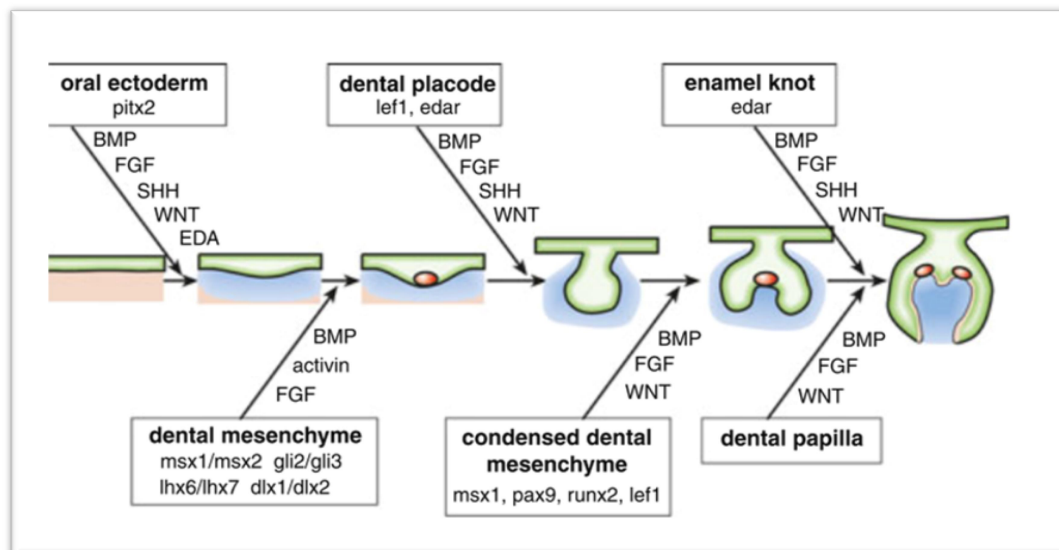


* Os nós do esmalte e plácodo dentário são centros de sinalização que regulam a morfogênese dentária.

Fonte: Thesleff, 2014 (130).

Embora haja várias vias moleculares para a odontogênese, conforme ilustrado na Figura 5 (130), as vias mais compreendidas incluem proteína morfogenética do osso (*BMP*), *FGF*, *Sonic hedgehog* (*SHH*) e vias *WNT* (131, 132).

Figura 5 – Vias moleculares envolvidas na odontogênese*



* Os dentes se formam a partir do epitélio oral (verde) e do mesênquima subjacente (azul). As interações entre esses tecidos regulam o desenvolvimento. As moléculas de sinalização mais importantes que medeiam essa comunicação são *BMP* (proteína morfogenética do osso), *WNT* (via de sinalização *Wingless*), *SHH* (*sonic hedgehog*) e *FGF* (fator de crescimento de fibroblasto). Esses genes regulam a expressão de fatores de transcrição importantes indicados nas caixas. A perda de função de muitos desses genes interrompe o processo de desenvolvimento dentário em camundongos geneticamente modificados e suas mutações causam agenesia dentária em humanos.

Fonte: Thesleff, 2014 (130).

3.3.2 Conceito, classificação e epidemiologia da agenesia dentária

A agenesia dentária é uma das anomalias mais comuns em humanos. Por definição, é a falta congênita de um ou mais dentes decíduos e/ou permanentes (133), o que indica que é causada por distúrbios durante os estágios iniciais do desenvolvimento dentário (134). A maioria dos relatos envolvendo estudos genéticos e moleculares avalia a agenesia de dentes permanentes (133), sendo considerada rara na dentição decídua (126).

A agenesia dentária pode ser classificada com base no número de dentes ausentes congenitamente. Hipodontia se refere à ausência de um a cinco dentes, sem incluir os terceiros molares (135-137); oligodontia se refere à ausência de seis ou mais dentes; e anodontia é a ausência completa de dentes. Pode também ser classificada como síndrome,

associada a várias síndromes ou condições sistêmicas, ou não sindrômica em que a ausência congênita de dente é a única descoberta clínica aparente (131, 136).

Indivíduos com agenesia dentária sindrômica podem ter outras anomalias dentárias concomitantes, tais como: microdontia (138); atraso da formação e/ou erupção dos dentes (139); hipoplasia do esmalte dentário (140); raízes dentárias curtas; e transposição dos caninos e pré-molares (141). Tal condição está relacionada a mais de 150 síndromes listadas na *Online Mendelian Inheritance in Man database* – OMIM e a 80 genes, reforçando que alguns fatores envolvidos no desenvolvimento dentário tenham um papel mais amplo no corpo humano (137). Displasia ectodérmica (142, 143), fissura labial e/ou palatina (FL/P) (144, 145), síndrome de Down e de Van der Woude são síndromes que comumente possuem a agenesia dentária como característica clínica (136).

Essa ausência congênita de dente pode ocorrer como forma esporádica ou familiar. A forma esporádica é causada por fatores ambientais e/ou genéticos anormais, com uma média de um a três dentes ausentes, exceto os terceiros molares. A forma familiar pode ocorrer isoladamente como a única anormalidade detectável nos indivíduos afetados ou apresentar-se como parte de uma síndrome (146). Pode ser autossômica dominante ou recessiva, bem como ligada ao X (135, 146). Comparado com as agenesias sindrômicas que surgem normalmente de uma única anormalidade genética, a forma isolada é mais complexa e presume-se que seja causada por herança multifatorial (146).

A prevalência da agenesia de dentes permanentes na população em geral, excluindo-se os terceiros molares, varia de 2,2 a 10%, a depender da população estudada (147). Uma metanálise envolvendo 33 estudos de vários continentes mostrou maior prevalência na Europa (5,5%) e Austrália (6,3%) do que na América do Norte (147). É predominante em mulheres e, em 60% dos indivíduos, costuma ser unilateral (148). Excluindo-se os terceiros molares, os dentes mais acometidos pela agenesia dentária são os segundos pré-molares mandibulares (2,9–3,2%), acompanhados pelos incisivos laterais superiores (1,6–1,8%) e pelos segundos pré-molares superiores (1,4–1,6%) (149). Enquanto a alta proporção de agenesia dentária tende a ser unilateral, a agenesia dos incisivos laterais superiores usualmente é bilateral (136).

A agenesia dentária é mais frequente em indivíduos portadores de FO do que em indivíduos da população em geral, sugerindo que ambas as condições possam compartilhar o mesmo antecedente genético (150). O desenvolvimento dos germes dentários e a ocorrência de FL/P têm uma estreita relação em termos de tempo e posição anatômica, sendo que alguns estudos

têm relatado a presença de anomalias dentárias associadas a várias formas de FL, FP ou ambas (145, 150-152).

3.3.3 Etiologia genética da agenesia dentária

Há mais de 300 genes que controlam a odontogênese, sendo que os mais estudados e identificados na agenesia dentária não síndrômica são os *Muscle segment homeobox, homolog 1 (MSX1)*, o *Paired Box 9 (PAX9)* e o *Axis inhibition protein 2 (AXIN2)* (129, 131, 137). O *MSX1* (153) foi o primeiro gene identificado e associado à agenesia dentária não síndrômica humana, sendo considerado fundamental nas interações epitélio-mesenquimal no início da odontogênese (131, 154). Mutações nesse gene são mais comumente relacionadas à agenesia dos segundos pré-molares e dos terceiros molares. Mutações no *MSX1* são também vistas em indivíduos com FL, FL/P, distrofia das unhas e síndrome de Wolf-Hirschhorn (131). Até o momento, as pesquisas já mostraram mais de 28 mutações heterozigóticas no *MSX1* que causam vários tipos de agenesia dentária seletiva, sugerindo que o fenótipo mutante seja devido à haploinsuficiência, em vez de um mecanismo dominante-negativo (131).

O *PAX9* é expresso no mesênquima derivado da crista neural envolvida na odontogênese, sendo que a condensação desse mesênquima ocorre ao redor do epitélio do broto do dente (155). Agenesias dentárias nos segundos molares ou a combinação de agenesia nos segundos pré-molares e incisivos mandibulares são provavelmente as manifestações das mutações do *PAX9* (154). Esse gene desempenha um papel crítico no desenvolvimento fetal e progressão do câncer e está envolvido na proliferação celular, resistência apoptótica e migração celular, tendo sido definido como um marcador prognóstico do carcinoma de células escamosas do esôfago (156). Já foram relatadas mais de 50 mutações nesse gene associadas a vários tipos de agenesia dentária e a outros defeitos ou variações dentárias herdadas (155).

O gene *AXIN2* é um regulador negativo da catenina da via de sinalização canônica *WNT* por indução da degradação da β -catenina, sendo expresso no mesênquima da papila dentária (137). Mutações no *AXIN2* levam à agenesia dentária e a diversos tipos de câncer em humanos (157, 158). O papel dessa mesma via no desenvolvimento dentário e na tumorigênese pode ser uma explicação para a relação entre agenesia dentária e câncer (137). Mutações no *AXIN2* têm sido associadas à agenesia dentária, apresentando um fenótipo com uma combinação de agenesia dentária anterior e posterior (146).

3.3.4 Tumorigênese

O processo de odontogênese pode aparentemente não estar relacionado à tumorigênese, embora vários estudos relatem uma associação entre agenesia dentária e câncer em humanos (16, 146, 159). Pesquisas em biologia celular e genética humana mostram sobreposição genética na ocorrência de agenesia dentária e de certos tipos de câncer (160, 161).

A primeira associação observada entre agenesia dentária e câncer, publicada em 2004, envolveu 17 indivíduos de quatro gerações de uma família finlandesa com câncer colorretal e agenesia dentária (162). Vários tipos de carcinoma colorretal ou lesões pré-cancerosas foram encontrados em oito membros dessa família, sendo que nenhum sinal dessa condição foi detectado nos familiares com dentição normal. A oligodontia segregou uma herança autossômica dominante demonstrada em 11 membros da família que não possuíam pelo menos oito dentes permanentes. Esse estudo fornece evidências de que o câncer colorretal familiar pode ser causado por mutações *nonsense* no gene *AXIN2*, regulador da via de sinalização *WNT*. Mutações no *AXIN2* predisõem ao câncer e causam malformação hipoplásica, com destaque para pontos comuns entre as vias de desenvolvimento e a homeostase tecidual (162).

Em 2009, um estudo envolvendo duas famílias afetadas com agenesia dentária testou a associação com o gene *AXIN2*. Foi encontrada uma associação significativa ($p=0,02$) nos casos em que pelo menos um dente incisivo estava ausente, apoiando ainda mais o papel do *AXIN2* na agenesia dentária humana (163). Posteriormente, uma linhagem mais complexa foi relatada em uma família com uma nova mutação herdada no *AXIN2*, segregando um padrão autossômico dominante com oligodontia, fenótipo leve de displasia ectodérmica (madarose, cabelos esparsos), pólipos colônicos, câncer de mama e de cólon (164).

Outro estudo que abordou a associação entre agenesia dentária e câncer colorretal foi publicado em 2014, tendo envolvido uma coorte com 1.636 casos e 2.788 controles (132). Esse estudo não fornece evidência para a existência de uma predisposição geral à agenesia dentária em pacientes com câncer colorretal ($p=0,20$). O sequenciamento do *locus* do gene *AXIN2* em dois probandos com câncer de cólon e agenesia dentária e tendo parentes com essa agenesia demonstrou uma variante *missense* comum em um dos probandos e em cinco dos seus irmãos, incluindo uma irmã não afetada pela agenesia dentária (132).

Pesquisa realizada na Índia, em 2018, fornece evidências de que os genes envolvidos no câncer colorretal também podem estar envolvidos no desenvolvimento dentário, proporcionando informações adicionais para decifrar a etiologia complexa dessa condição (159). Um estudo australiano, de 2019, também contribui para a compreensão dos fenótipos variados de portadores de mutação no gene *AXIN2*, favorecendo a hipótese de que mutações truncadas no *AXIN2* causam oligodontia síndrômica e polipose adenomatosa/câncer colorretal quando comparadas com mutações em outras regiões do gene *AXIN2* (160).

O câncer de ovário epitelial também foi relatado estar associado à hipodontia. Em 2008, um estudo de Chalothorn *et al.* descreveu que tanto as pacientes com câncer quanto seus familiares relataram maior ocorrência de agenesia dentária em relação ao grupo de pacientes saudáveis (157). No entanto, um estudo publicado posteriormente utilizando a amostra original dos pacientes do estudo de Chalothorn *et al.* investigou as evidências de envolvimento desse tipo de associação por meio de análise sequencial completa dos cinco genes candidatos (*WNT10A*, *EDA*, *PAX9*, *MSX1* e *AXIN2*), e dos genes *BARX1*, 2 e *BRCA1* (16). Os resultados, em conjunto, sugerem que pelo menos metade das amostras combinadas de pacientes com câncer de ovário e agenesia dentária fornece evidência de causa independente das duas condições (16).

No Brasil, um estudo realizado entre 2009 e 2011 apresentou, no resultado geral, risco aumentado de história familiar de câncer no grupo de indivíduos com agenesia dentária ($p=0,00006$; OR=2,7; IC de 95%, 1,6–4,4). O maior risco foi observado principalmente em pacientes com câncer no cérebro/sistema nervoso, próstata e mama. Resultados limítrofes foram observados para câncer de pulmão e intestino/cólon. Em câncer que afeta mulheres (câncer de mama, ovário e cervical), o risco foi aumentado em três vezes nas famílias de pessoas com agenesia dentária. No entanto, o câncer de ovário foi um achado incomum nesse estudo (15).

O estudo dos pesquisadores eslovenos corrobora positivamente a associação entre agenesia dentária e câncer epitelial de ovário. O estudo do tipo caso-controle demonstra diferença estatisticamente significativa ($p=0,004$), apontando 2,87 vezes mais chances de hipodontia em mulheres com esse tipo de câncer do que em mulheres saudáveis (135). Os tumores em pacientes com hipodontia eram, em sua maior parte, pouco diferenciados e a ocorrência bilateral de câncer ovariano em mulheres com hipodontia (56,5%) em relação às pacientes

com câncer e sem hipodontia foi estatisticamente significativa (30,9%) ($p=0,021$; OR=2.9; IC, 1,15–7,36) (165).

Uma recente revisão sistemática buscou elucidar a coexistência de câncer ovariano e agenesia dentária (166). Dentre os três estudos eleitos, dois são do mesmo grupo de pesquisadores e, no nosso entendimento, trata-se da mesma amostra (135, 165). O terceiro estudo se refere à pesquisa de Bonds *et al.*, citada anteriormente (16).

O câncer gástrico foi outro tipo de câncer investigado na sua relação com a agenesia dentária. Em 2018, um estudo caso-controle realizado com amostra de população brasileira não encontrou aumento da frequência de agenesia dentária no grupo de pacientes com esse tipo de câncer (151).

Uma revisão da literatura sobre as mutações no gene *AXIN2* como fator de risco para agenesia dentária e câncer sustenta a hipótese de que a agenesia dentária pode ser um marcador significativo de predisposição ao câncer (158). Os estudos relacionados nessa revisão demonstram que vários polimorfismos de nucleotídeo único (*SNPs*) e mutações que influenciam a função do *AXIN2* foram associados não apenas à agenesia dentária, mas também a cânceres em diferentes órgãos como próstata, ovário e pulmão e o carcinoma colorretal e hepatocelular (158).

A compreensão da relação entre agenesia dentária e o desenvolvimento de neoplasias na idade adulta é baseada em estudos de biologia molecular e genética da odontogênese, além de relatos clínicos. Esses estudos têm limitações tais como tamanhos de amostras, falta de controle da etnia dos indivíduos estudados e o uso de marcadores genéticos ou de processos moleculares incompletamente identificados. Estudos clínicos e genéticos prospectivos são necessários para determinar se a hipodontia é ou não um marcador inequívoco para neoplasias de adultos (154).

3.4 Fissuras orofaciais

3.4.1 Conceito e classificação

Sabe-se que FO resultam da falha da fusão entre os processos maxilares e/ou dos compartimentos palatinos que ocorre entre a 4ª e 12ª semana de embriogênese (167). Essa

condição é tão antiga quanto à própria humanidade e foi descrita de forma diferente por pessoas de várias épocas, o que dificulta o rastreamento da sua história etimológica. O termo utilizado nas primeiras publicações, lábio leporino (*labium leporinum*), do inglês *harelip*, foi devido a comparações e semelhança com a boca da lebre (gênero *Lepus*). Somente em 1922, durante a reunião da Associação Médica Americana, foi solicitada a mudança do termo para fissuras congênicas dos lábios, *congenital cleft of the lip*, por Davis e Ritchie (1922). Desde então, várias classificações para as FL e FP têm sido apresentadas (1922-1970).

A classificação publicada por Spina (1973) e modificada por Silva Filho *et al.* (1992) usa o forame incisivo como referência anatômica, já que simboliza o único vestígio do que separava, na fase intrauterina, o palato primário do palato secundário e divide essas malformações congênicas da face em quatro (I, II, III e IV) (1973, 1992). Nesse caso, os vários grupos se referem ao tipo de fissura, a saber: grupo I, pré-forame; grupo II, transforame; grupo III, pós-forame e grupo IV, associado a fissuras raras na face que não estão relacionadas ao forame incisivo (1973, 1992), conforme descrito no Quadro 1.

Quadro 1 – Tipos de fissuras orofaciais segundo a classificação de Spina *et al.* (1973), modificada por Silva Filho (1992).

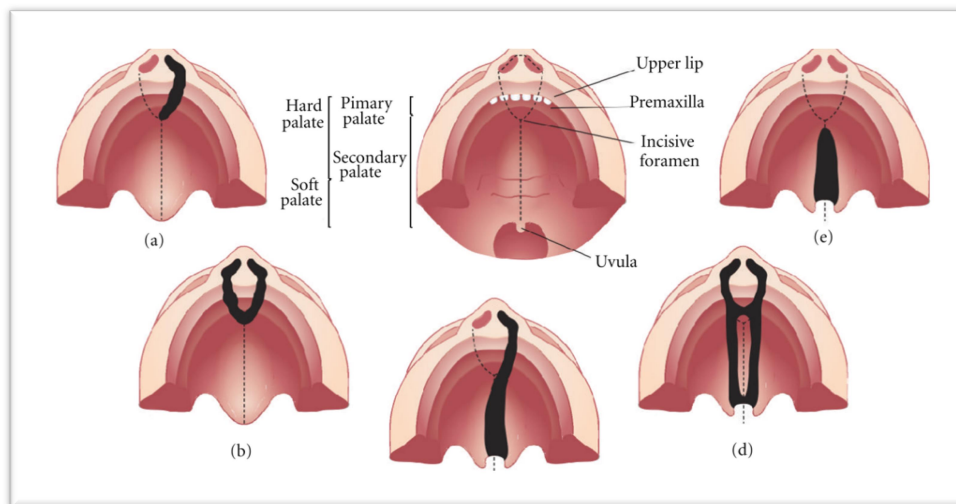
	Unilateral	Direita completa Esquerda completa	Direita incompleta Esquerda incompleta
Grupo I Fissuras pré-forame incisivo	Bilateral	Completa Incompleta	
	Mediana	Completa Incompleta	
Grupo II Fissuras transforame incisivo	Unilateral Bilateral Mediana	Completa Incompleta	
Grupo III Fissuras pós-forame incisivo		Completa Incompleta	
Grupo IV Fissuras raras da face			

Fonte: Spina *et al.*, 1973 (1973) e Silva Filho, 1992 (1992)

Os prefixos pré, trans e pós-forame incisivo, utilizados em sinonímia referem-se, respectivamente, às FL que comprometem ou não o rebordo alveolar; às FLP que comprometem a maxila em toda a sua extensão, o palato primário e o palato secundário; e às fissuras do palato secundário. As fissuras são subclassificadas em relação à extensão em completa e incompleta, quando alcançam ou não o forame incisivo; e quanto à lateralidade em

unilateral, bilateral e mediana, essa última incluída por Silva Filho *et al.*, conforme ilustrado na Figura 6 (169, 171).

Figura 6 – Representação dos tipos mais comuns de fissuras orofaciais



(a) Fissura labial unilateral com envolvimento alveolar; (b) fissura labial bilateral com envolvimento alveolar; (c) fissura labial unilateral associada com fissura palatina; (d) fissura labial e palatina bilateral; e (e) fissura palatina isolada.

Fonte: Brito *et al.*, 2012 (172).

Ao se considerar que FO manifestam subfenótipos muito heterogêneos, uma linha de estudo mais recente fez outra classificação das fissuras em três categorias – fissura labial/alveolar, fissura labial/alveolar com FP e FP isolada – e divisão em três subgrupos de acordo com os tipos de defeitos: aqueles de fusão, de diferenciação e de fusão associados a defeitos de diferenciação (173).

A classificação das FO pode ocorrer também com base na sua associação com outras anomalias congênitas de duas formas: não síndrômicas (anomalia isolada) e síndrômicas (como característica fenotípica de uma síndrome genética subjacente) (174). Já foram relatadas mais de 500 síndromes em associação com FO, incluindo anomalias cromossômicas (175).

Com base na morfologia anatômica, a fissura oral não síndrômica (FONS) é classificada em fissura labial e palatina não síndrômica (FLPNS), fissura labial não síndrômica (FLNS) e fissura palatina não síndrômica (FPNS) (176). Tendo em vista que as duas primeiras condições (FLPNS e FLNS) compartilham padrões epidemiológicos comuns e ocorrem durante o mesmo período embriológico, diferindo somente em severidade, frequentemente

essas são reunidas e formam o grupo de FL/PNS (177). No entanto, existem evidências que mostram que FLPNS e FLNS podem abrigar diferentes etiologias genéticas (178). Ao passo que a incidência de FL/PNS constitui aproximadamente 70% dos casos, dos quais 20% são familiares e 80% esporádicos (22), a incidência dos casos síndromicos difere entre estudos e entre populações e tem sido relatada em cerca de 30% (179). Em contraste, 50% da incidência de FP isolada pode ser síndromica ou não síndromica (180).

3.4.2 Epidemiologia das fissuras orofaciais

As FO, especificamente a FL e a FP, são as anomalias craniofaciais mais comuns ao nascimento e a sua prevalência mundial é frequentemente citada como 1 para 700 nativos (1/700), podendo variar de 1/500 a 1/2.500, a depender da raça/etnia, localização geográfica residencial, idade materna e exposições pré-natais, além do *status* socioeconômico (19, 172).

Membros do *International Clearinghouse for Birth Defect Monitoring Systems* (ICBDMS) e do *Surveillance of Congenital Anomalies in Europe* (EUROCAT) fizeram um levantamento das ocorrências de FL/P e de FP em 57 locais distribuídos no mundo (14 nas Américas; 5 na Ásia; 2 na Oceania e 36 na Europa). Esse estudo demonstra variação de sete vezes na prevalência de FL/P ao nascimento, variando de 3,4 a 22,9 a cada 10.000 nativos, e uma ampla variação nos casos de FP (1,3 a 25,3/10.000 nativos) (181). Essa pesquisa revela maiores taxas de FL/P em países da Ásia (China e Japão) e América do Sul (Bolívia e Paraguai), enquanto Israel, África do Sul e o Sul da Europa mostram as menores ocorrências. Quanto à FP, suas maiores taxas ocorreram no Canadá e Finlândia e as menores, na Colômbia, Cuba e África do Sul. Em geral, a população asiática e de ameríndios tem uma alta frequência de FO; as populações caucasianas uma prevalência intermediária e as africanas têm as mais baixas taxas (22, 181).

Dados do estudo colaborativo da América Latina sobre malformações congênitas, no período de 1995 a 2008, demonstram uma prevalência no Brasil de FL/P de 13,3/10.000 nativos e para FP de 5,4/10.000 nativos (182). Contudo, a real prevalência de FO ainda é desconhecida.

Comparações entre grupos étnicos dos Estados Unidos e Reino Unido com a inclusão de imigrantes oriundos do Japão e China indicam que os grupos migrantes possuem taxas mais

próximas da sua origem étnica do que daquelas áreas para as quais se deslocaram. Os afro-americanos possuem menores taxas para ambos os tipos de fissuras, FL/P e FP, do que os americanos brancos (21, 167, 183).

Diferenças epidemiológicas como a distribuição sexual entre a FL/PNS e FPNS são reconhecidas na atualidade. A FL/PNS quando envolve somente o lábio tende a ser unilateral (cerca de 90%), mais frequentemente à esquerda e na proporção de 2:1 (homem/mulher) (22, 180, 184); quando exclusivamente palatina, predomina no sexo feminino na razão de 1:2 (homem/mulher) (180, 185). A proporção sexual varia com a gravidade da fissura, presença de malformações adicionais, número de irmãos afetados por família, origem étnica e, possivelmente, idade paterna (167). No Brasil, um estudo realizado entre 2000 e 2005, mostrou que homens eram 2,57 vezes mais acometidos por fissura labiopalatina (FLP) do que mulheres (186). Esse estudo diverge de estudos anteriores, ao mostrar uma prevalência similar de FLP e FL, seguidas por FP (186).

As FO podem impor uma carga na saúde e no modo de vida das pessoas afetadas, tanto na qualidade de vida quanto no bem estar socioeconômico desses indivíduos e de suas famílias (19). Os indivíduos afetados podem apresentar inicialmente dificuldades na sucção, alimentação e podem desenvolver problemas na dentição, fala e audição, além de prováveis efeitos psicossociais ao longo da vida (177).

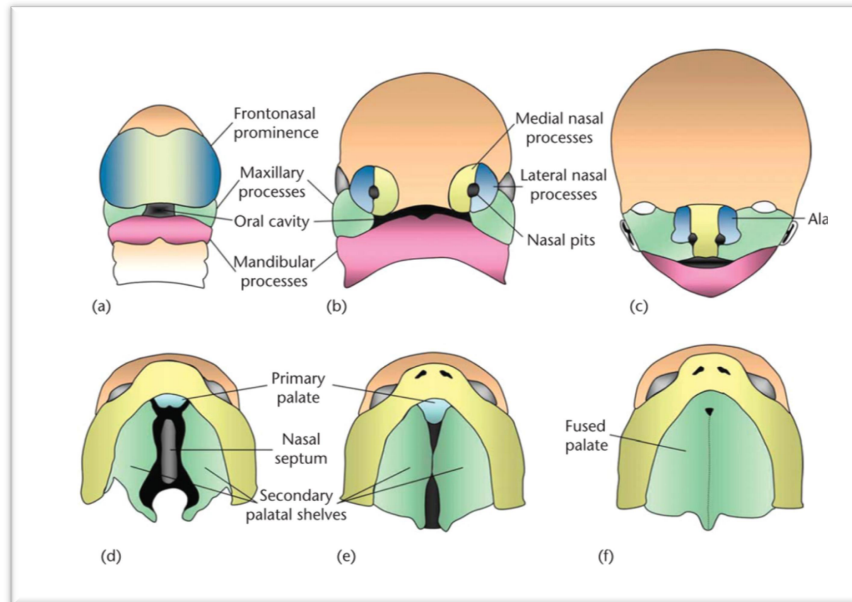
3.4.3 Embriogênese do lábio e palato

O desenvolvimento do lábio e palato envolve uma série complexa de eventos que exige uma coordenação estreita de programas para a migração celular, crescimento, diferenciação e apoptose. As células da crista neural que derivam da prega neural contribuem e migram através do tecido mesenquimal para a região craniofacial em desenvolvimento, onde, por volta da 4ª semana de desenvolvimento embrionário, participam da formação da proeminência frontonasal, dos pares de proeminências maxilares e mandibulares que se encontram emparelhados e circundam a cavidade oral primitiva. A formação dos placoides nasais (espessamentos ectodérmicos), ao final da 4ª semana de embriogênese, divide a porção inferior da proeminência frontonasal em processos nasais, mediais e laterais emparelhados. Ao final da 6ª semana de desenvolvimento, a fusão entre si dos processos nasais mediais e dos processos maxilares de cada lado leva à formação do lábio superior e do palato primário.

Imediatamente antes da conclusão desses processos, o processo nasal lateral tem um pico de divisão celular que o torna suscetível a agressões teratogênicas e qualquer distúrbio no crescimento nesse momento crítico pode levar à falha do mecanismo de fechamento (187).

O primeiro sinal de desenvolvimento manifesto do palato secundário ocorre durante a 6ª semana de embriogênese com o crescimento dos processos maxilares das proeminências palatinas emparelhadas, que inicialmente crescem verticalmente nas laterais da língua em desenvolvimento. Durante a 7ª semana de desenvolvimento, as proeminências palatinas laterais ou placas palatinas sobem para uma posição horizontal acima da língua e entram em contato e se fundem para formar a sutura epitelial da linha média que, subsequentemente, degenera para permitir a continuidade mesenquimal através do palato. Então, o mesênquima palatino se difere em elementos ósseos e musculares que se correlacionam com a posição do palato duro e mole, respectivamente. Além de se fundir na linha média, o palato secundário se funde com o palato primário e o septo nasal. Tais processos de fusão se completam até a décima semana de embriogênese, conforme ilustrado na Figura 7. Em mamíferos, o desenvolvimento do palato secundário permite a divisão do espaço oronasal em cavidades orais e nasais distintas, fazendo com que a mastigação e a respiração ocorram simultaneamente (187).

Figura 7 – Diagrama esquemático do desenvolvimento dos lábios e palatos em seres humanos



(a) Pareamento dos processos maxilares e mandibulares na 4ª semana de desenvolvimento embrionário; (b) formação das fossas nasais e divisão da proeminência frontonasal em processos nasais mediais e laterais na 5ª semana; (c) a fusão dos processos nasais mediais e maxilares forma o lábio superior e o palato primário, respectivamente, até o final da 6ª semana, enquanto os processos nasais laterais formam a aleta nasal e os mandibulares se fundem para formar o maxilar inferior; (d) na sexta semana da embriogênese, o palato secundário se desenvolve, crescendo verticalmente para baixo ao lado da língua; (e) na 7ª semana, os compartimentos palatais se elevam para uma posição horizontal acima da língua, entrando em contato um com o outro, iniciando a fusão; e (f) fusão completa dos compartimentos palatais secundários com o palato primário e septo nasal, por volta da 10ª semana de embriogênese.

Fonte: Thomason & Dixon, 2009 (188).

Todo esse complexo processo de desenvolvimento craniofacial é dependente da interação complexa de inúmeros genes que atuam em regiões e momentos diferentes do desenvolvimento embrionário. Esses genes incluem fatores de transcrição (Família *MSX*, *DLX*, *BAR*, complexo-*HOX*), fatores de crescimento e seus receptores (*TGF*, *BMP*, *GDF*, *EGF*, *FGF*, *IGF*, *PDGF*) e genes que codificam moléculas sinalizadoras, tais como *SHH* e *GLI*. Atividades indutivas e sinalizadoras desses genes coordenam o crescimento do primórdio facial a partir de proeminências mesenquimais indiferenciadas até um mosaico de estruturas ósseas e cartilaginosas que, em conjunto com músculos e outros tecidos, constituirão o arcabouço definitivo da face (189, 190).

A desregulação nessa rede sinalizadora resulta em desenvolvimento anormal dos arcos faríngeos e/ou da formação, migração e diferenciação das células da crista neural, além do desenvolvimento e fusão dos primórdios faciais, levando a anomalias craniofaciais diversas (189, 190).

Ao se considerar o período embriogênico durante o desenvolvimento do palato, percebe-se que o fechamento do compartimento palatino ocorre entre a 8ª e 12ª semana de gestação (191), enquanto a formação do lábio é concluída na 7ª semana (192), daí tem-se que a FL/P é uma entidade distinta da FP isolada.

3.4.4 Etiologia das fissuras orofaciais

Sabe-se que a FL/PNS é uma condição com etiologia multifatorial poligênica que exhibe variações geográfica, étnica e racial em sua prevalência, mas têm surgido variações com base nos sub-fenótipos, gênero e exposição a variáveis ambientais (22). Geralmente, os fatores causais podem ser agrupados em ambientais, genéticos ou associação de ambos. A maioria dos casos de FL/PNS deve-se provavelmente a um efeito combinado de fatores genéticos e ambientais durante as primeiras semanas de gravidez.

Fatores ambientais

Uma variedade de fatores ambientais que pode contribuir para a ocorrência de FL/PNS durante a gravidez inclui: exposição a medicamentos (anticonvulsivantes, corticosteroides) no primeiro trimestre, uso materno de bebida alcoólica (184, 193), deficiência da ingestão de ácido fólico (194, 195), uso de tabaco na gestação (196-199), estresse materno (199), obesidade materna (200), baixas concentrações de zinco (201) e febre durante a gravidez (202).

A explicação para o risco de FO em mães que ingerem bebida alcoólica ainda não está esclarecida. Acredita-se que o efeito teratogênico do álcool possa depender da capacidade genética da mãe ou do feto em metabolizar o álcool, entretanto pouco se conhece como a variação genética no metabolismo do álcool afeta essa associação (203). A bebida alcoólica pode inibir a produção do ácido retinoico necessário para a função das células da crista neural e desenvolvimento normal do lábio e palato. Esse afeta a homeostase do folato pela redução

de sua absorção e aumento de sua excreção. Causa ainda a inibição de enzimas essenciais para a embriogênese e para o desenvolvimento fetal inicial (184). No entanto, os estudos que avaliam o risco de uso de bebidas alcoólicas na gestação ainda mostram resultados conflitantes. Uma metanálise publicada na Espanha, em 2013, revela associação significativa entre esse fator de risco e a presença da FL/PNS (193). Contudo, há outras publicações que não revelam esse tipo de associação (204). Uma metanálise mais recente também não indicou diferença entre os grupos na análise geral dos estudos, embora tenha envolvido quatro pesquisas com o risco de FL/PNS significativamente aumentado (205).

O folato é um nutriente essencial em muitas reações biológicas vitais, tais como a biossíntese do ácido desoxirribonucleico (DNA) e do ácido ribonucleico (RNA). A descoberta de que sua suplementação no início da gravidez pode reduzir o risco de defeitos congênitos foi um importante avanço da saúde pública dos últimos anos (206). Contudo, a deficiência de ácido fólico como fator etiológico das FO continua sendo objeto de pesquisas em vários estudos (194, 207, 208). Pesquisas em animais e ensaios clínicos têm demonstrado que a deficiência do folato durante o período crítico de formação dos órgãos pode aumentar o risco da ocorrência de FO (194, 195). Por outro lado, há estudo demonstrando o risco aumentado de FL/PNS com a ingestão suplementar de ácido fólico antes e após a concepção (209).

Acredita-se ainda que o *status* do folato também seja afetado por polimorfismos genéticos relacionados à absorção, ao transporte e ao metabolismo do folato, aumentando a predisposição à FL/PNS (208). Observam-se interações gene-ambiente entre polimorfismos genéticos relacionados à falta de ácido fólico durante os primeiros três meses de gestação associadas à etiologia da FL/PNS (210).

Concordantes com uma metanálise publicada em 2004 (211), estudos sobre a associação do risco de FO em filhos de mães tabagistas demonstram significativo aumento do risco (193), embora tais metanálises apresentem distinção quanto à época e metodologias adotadas. Em relação ao tabagismo materno passivo, há estudos que sustentam a associação positiva desse risco (196) ou que não revelam associação significativa (199).

Fatores genéticos

A etiologia patogênica por trás da FL/PNS parece seguir um modo de herança complexo, multifatorial e imprevisível com mais frequência do que com o modo de herança mendeliana,

levando a um grupo de desordens clinicamente diverso e geneticamente heterogêneo. Os componentes genéticos envolvem variantes genéticas mutantes herdadas do pai ou da mãe que são diretamente responsáveis por causarem FL/PNS ou podem ser um fator de risco para o aumento das probabilidades do desenvolvimento de fissura (212).

Os fatores genéticos que contribuem para a ocorrência de FL/PNS têm sido investigados por meio de análise de ligação, rearranjos genômicos, *microarray analysis*, metanálise e estudos de associação de larga escala genômica (*Genome-Wide Association Study* – GWAS) (212). Vários genes candidatos, incluindo *IRF6*, *MSX1*, *SPRY1*, *SPRY2*, *CHD7*, *GABRB3*, *NOG*, *NTN1*, *MMP16*, *KRT18*, *DICER1*, *RAD54B*, *CREBBP*, *GADD45G*, *TFAP2A*, *VAX1*, *GSC*, *PTCH1*, *MYC*, *TAF1B*, *MAFBH*, *OFCC1*, *ARHGAP29*, *WNT9B*, *FGFR1*, *FGF10* (174), *PAX9*, *PAX7*, *ABCA4*, *THADA*, *FOXE1*, *GREM1_FMNI* (213) foram relatados em diferentes estudos sobre FL/PNS (212). Estudos do tipo GWAS envolvendo variantes raras de codificação de baixa frequência, como *N4BP2*, *CDSN*, *PRTG*, *AHRR* (214) *ACSS2* e *PHYH* (215) e técnicas de *microarray analysis* para variação do número de cópias em busca de genes causais em potencial, como *COL11A1*, *TERT*, *MIR4457*, *CLPTM1*, *ESR1*, *GLI3*, *FGFR*, *OFD*, *TBX1*, *PHF8* e *FLNA* também foram associados à FL/PNS (216).

Até o presente, estudos de varredura e de associação genômica já relataram com sucesso aproximadamente 37 genes/*loci* de risco para FL/PNS, o que pode elucidar uma pequena fração da hereditariedade (212, 214). Tais estudos coletaram dados suficientes para que todos os genes/*loci* fossem listados como um fator de risco importante e contribuinte para a FL/PNS. Ainda assim, todos esses *loci* juntos explicam apenas uma pequena porcentagem da hereditariedade da FL/PNS e o problema em encontrar fatores de risco ausentes continua gerando discussão. Supõe-se que parte da hereditariedade perdida possa ser esclarecida por variantes raras de codificação que não são analisadas pelo GWAS. Essas variantes podem ser frequentemente encontradas em populações com média a alta penetrância. Além disso, existe uma expressividade variável com a maioria das síndromes com presença de FO, ratificando a influência de modificadores genéticos (212).

É bem estabelecido que o fator regulador de interferon 6 (*IRF6*) e o locus 8q24 são os fatores genéticos mais confiáveis para a predisposição à FL/PNS (180, 217). Um estudo de metanálise reforça a influência étnica demonstrada pela diferença na prevalência dos alelos do gene *IRF6* (rs2235371) e do cromossomo 8q24 (rs987525) entre caucasianos e asiáticos. Se por um lado o rs2235371 *IRF6* mostra um efeito protetor entre asiáticos, mas não entre

caucasianos, por outro lado, o rs987525 8q24 mostra risco aumentado de FO entre caucasianos, mas não entre asiáticos (217).

A primeira evidência da associação entre 8q24 e a FL/PNS surgiu após estudo do tipo GWAS conduzido por Birnbaum *et al.* (218). Esse *locus*, representado principalmente pelo rs987525, foi amplamente validado como marcador de risco para FL/PNS em estudos subsequentes, incluindo outros do tipo GWAS (219-221). A associação entre variantes genéticas no *IRF6* com FL/PNS foi observada pela primeira vez em 2004 (222) e replicado em várias populações (217, 218, 221).

Uma recente metanálise investigou a susceptibilidade de marcadores genéticos para FL/PNS em população brasileira. No entanto, o número de estudos elegíveis foi pequeno, variando de dois para 8q24 (rs987525 e rs1530300), *BMP4* (rs17563), *VAX1* (rs7078160), e 18q22 (rs17085106) a três para *IRF6* (rs642961), *MTHFR* (rs1801133), *ABCA4* (rs560426) e *MAFB* (rs13041247). A metanálise dos três estudos que avaliam o *IRF6* na população brasileira demonstra associação no resultado combinado entre o alelo A do rs642961 no *IRF6* e a FL/PNS (OR: 1,30). Entretanto, não se observa associação entre *IRF6* (rs642961) e o risco para FL/PNS nos modelos de genótipo heterozigoto e homozigoto. Encontra-se ainda uma associação positiva e significativa entre os alelos variantes do rs987525 e rs1530300 e a FL/PNS nessa população. Em relação ao 8q24, os dois *SNPs* (rs987525 e rs1530300) demonstram associação com chances aumentadas e significativas de risco para FL/PNS. O alelo no *BMP4* (rs17563) está significativamente associado a uma diminuição do risco, entretanto não são encontradas associações significativas entre FL/PNS e os alelos variantes de rs7078160 no *VAX1*, rs560426 no *ABCA4*, rs17085106 no 18q22 e rs13041247 no *MAFB* (221).

Após décadas de pesquisas genéticas, ainda não está completamente estabelecido o número de genes que podem controlar o risco ou como esses agem para influenciar o risco para FL/PNS. Em geral, parentes próximos de indivíduos com fissura têm risco muito maior de ser afetados. Estudo envolvendo o banco de registros de natalidade da Noruega demonstra um risco relativo 32 vezes maior em um parente de primeiro grau de indivíduo com FL/P em relação ao risco inicial da população, e um risco relativo 56 vezes maior que o risco inicial em parentes de indivíduos portando FP (223).

As investigações de interações entre ambiente-gene e gene-gene ainda são incipientes e o grande número de possibilidades dessas combinações torna desafiadora essa tarefa. A

predisposição genética para FO é dependente da etnia e a base genética de susceptibilidade varia entre diferentes populações (180). Os estudos de interação gene-ambiente do tipo GWAS recentemente concluídos para a FPNS têm auxiliado na identificação de variantes que não teriam sido identificadas com base apenas nos efeitos genéticos marginais através de outro método (224).

3.4.5 Associação entre fissuras orofaciais e câncer

Vários são os estudos epidemiológicos que estabelecem uma associação entre malformações congênitas e câncer (11, 12, 162, 225, 226). Se por um lado há uma forte evidência de risco aumentado de câncer para condições como a síndrome de Down (225, 226), por outro lado, parece menos evidente para outras malformações estruturais, pois os estudos fornecem estimativas variadas para diferentes tipos de malformações e, muitas vezes, apenas para categorias amplas com especificidade clínica limitada (185, 227).

Quando se avalia a associação entre FO e câncer, algumas publicações demonstram alta incidência de cânceres em indivíduos com FL/PNS ou em membros de suas famílias (17, 228-230). Outras relatam o histórico de FL/PNS em pacientes portadores de câncer e também em seus familiares (26, 27). No entanto, há estudos com resultados que não apoiam esses tipos de associação (29, 30, 226, 227, 231-233).

Entre os vários estudos epidemiológicos que buscam identificar a associação entre a FO e cânceres específicos, destaca-se a coorte realizada durante 30 anos na Dinamarca. Essa acompanhou 8.093 indivíduos com FONS e sindrômica, somando um total de 175.863 pessoas-ano. Seu resultado geral não revela associação para o risco de câncer no grupo da fissura em relação à população geral. Entretanto, ao estratificarem os resultados por sexo, Bille *et al.* demonstram um risco aumentado da ocorrência de câncer de mama em mulheres com FONS, sem especificação do seu subtipo, e de câncer cerebral em mulheres com FPNS, além de câncer pulmonar em homens com FLPNS (185).

Em 2012, foi publicada uma extensão dessa coorte com foco na avaliação do risco exclusivamente de câncer de mama em mulheres com FL/PNS e também entre suas mães e irmãs. Discordante com os resultados encontrados por Bille *et al.*, a análise geral não confirma a tendência de risco aumentado de câncer de mama em mulheres com FL/PNS e

nem em suas parentas de primeiro grau (234). Apesar de as análises estratificadas por subtipos de fissuras não revelarem algum padrão consistente, observa-se risco aumentado para o câncer de mama no grupo afetado por FLPNS, enquanto o grupo de suas mães apresenta tendência significativa de diminuição do risco (HR=0,74; efeito protetor). O grupo de mães das mulheres com FPNS, no entanto, apresenta tendência de risco aumentado para esse câncer (234). Outro estudo envolvendo população dinamarquesa investigou, entre 1977 e 1995, a ocorrência de câncer em pais de crianças nascidas com malformações congênitas e demonstra maior risco de linfomas e leucemias em pais de crianças do grupo com FL/PNS (17).

O estudo realizado na Letônia, em 2012, evidencia que tanto os indivíduos nascidos com FL/PNS quanto os membros de suas famílias têm maior prevalência de câncer em relação à população geral. Esse estudo demonstra que o risco de câncer, sem estratificar o tipo, aumentou seis vezes nos indivíduos afetados com FL/PNS, três vezes em seus parentes de primeiro e segundo graus e em 1,5 vez em seus parentes de terceiro grau (229). Recente estudo envolvendo uma amostra de população paquistanesa também revela risco aumentado de câncer (5,19 vezes) em familiares de indivíduos afetados com FL/PNS, entretanto, sem especificar o grau de parentesco familiar (228).

Estudo envolvendo americanos caucasianos demonstra que famílias segregando FL/PNS têm uma susceptibilidade aumentada para vários tipos de câncer, principalmente o câncer de cólon. Registrou-se também susceptibilidade para leucemia, câncer no cérebro, mama, próstata, pele, pulmão e fígado (230). Observa-se nesse estudo uma associação entre o gene *AXIN2* e a FL/PNS ($p=0,003$), considerando-se que a proteína produto do gene *AXIN2* é uma reguladora negativa da via *WNT* e que mutações germinativas nesse componente genético têm sido associadas à síndrome do câncer colorretal com a agenesia dentária (162, 230). O envolvimento dos genes da via de sinalização *WNT* na carcinogênese é bem estabelecido, pois esses atuam na regulação, crescimento, motilidade e diferenciação celular (230).

Nem todos os estudos que avaliam o risco de câncer em pacientes com FL/PNS e em seus parentes identificam os tipos de câncer mais prevalentes, o que é uma limitação desses estudos. No entanto, naqueles em que foi possível identificá-los, nota-se uma clara predominância de leucemia e câncer de cólon, bem como alguns relatos de linfoma, câncer oral, gástrico, na mama, no cérebro, próstata, pulmão e fígado (17, 230, 235-237).

Ao se pesquisar o inverso, ou seja, a história familiar de FONS em um grupo de indivíduos adultos que sobreviveram ao câncer durante a infância, nota-se, no estudo de Taioli *et al.*,

maior frequência (até quatro vezes) de fissura nos sobreviventes ao câncer em relação ao grupo de famílias baseado na população e sem o histórico de câncer. Entretanto, esse resultado não é estatisticamente significativo e foi justificado pelos autores pelo pequeno tamanho da amostra e pela baixa ocorrência da FL/PNS. No estudo, houve um aparente excesso de melanoma e câncer testicular no grupo dos sobreviventes ao câncer com história familiar de FL/PNS (27). Já o estudo realizado por Jindal e Vieira, em 2012, fornece evidência de que famílias que segregam crianças com leucemia linfoblástica relatam história de FL/PNS com maior frequência do que famílias sem casos do câncer pediátrico (26).

Por outro lado, um estudo de revisão sistemática demonstra que o risco aumentado de câncer entre parentes de indivíduos com FL/PNS não pode ser totalmente confirmado e destaca que, nos relatos, há um consenso entre os autores sobre a necessidade de se aumentar a população investigada para evitar descobertas aleatórias associadas a testes estatísticos múltiplos ou ao potencial impacto do Erro tipo I (28).

Os resultados que indicam a falta de associação entre a FL/PNS e o risco de câncer têm sido descritos em diversos estudos com populações como a brasileira (30, 231-233), americana (29, 227), sueca e norueguesa (226) e também dinamarquesa (234). Todavia, nesse último estudo, quando feita a análise dos subtipos de fissuras agrupados, observou-se ausência de associação de câncer de mama nas portadoras de FL/PNS e em suas parentas de primeiro grau, conforme mencionado. Ao ser estratificada, a análise revela que tanto as portadoras de FL/PNS quanto as mães de portadoras de FL/PNS apresentam risco aumentado para o câncer de mama (234).

O câncer gástrico difuso hereditário é outro tipo de câncer que tem sido relacionado à FL/PNS (237-239). Em 2006, foi descrita a associação de mutações na E-caderina do gene *CDH1* em duas famílias com o câncer gástrico difuso hereditário, sugerindo que essa alteração possa contribuir para FO humanas (237). Essa descoberta levou alguns pesquisadores a investigar especificamente os genes *AXIN2*, *CDH1* e membros da família do gene *FGF*, cujas mutações tenham sido associadas, de maneira independente ou no mesmo estudo, tanto com fissuras quanto com outras anomalias craniofaciais e câncer (230). Alguns desses genes são efetores de adesão célula-célula e da motilidade celular e/ou desempenham uma função crítica durante o desenvolvimento da embriogênese, o que levou os pesquisadores a hipotetizarem que variações nesses genes poderiam contribuir para a ocorrência tanto de desordens craniofaciais quanto do câncer (230).

Estudos mais recentes reforçam que alterações genéticas no gene *CDH1* e também no gene *AXIN2* estão associadas tanto com FL/PNS (152, 240) quanto ao câncer gástrico e de mama (241-245). Alterações em outros genes, incluindo *WNT* (235), *MSX1* (246), *BMP* (247) e *BLC3* (248), têm sido implicadas na carcinogênese e também envolvidas na FL/PNS (249-251).

Vários outros relatos sustentam que FO e o câncer compartilham mecanismos genéticos e/ou fatores ambientais comuns que possam influenciar o risco (228, 229, 252). No entanto, ressalta-se que a maioria das investigações publicadas sobre a etiologia genética comum para FO e câncer tem sido puramente descritiva. Esses estudos apresentam limitações por serem baseados na análise de genes candidatos e/ou por linhagens particulares (252). Há relatos na literatura de que alelos comuns que afetam a susceptibilidade a essa doença de etiologia complexa têm sido identificados através de estudos do tipo GWAS (212, 218). No entanto, cada variante apresenta uma baixa incidência na FL/PNS, o que introduz uma dificuldade em determinar a hereditariedade esperada para essa condição (253).

Não obstante as dificuldades apresentadas, tal associação tem sido explicada em alguns cânceres específicos, como o câncer de boca e de mama que compartilham etiologia genética semelhante ao das FONS (230, 235, 238). Embora vários genes e *loci* genéticos candidatos a conferirem susceptibilidade à FONS tenham sido associados ao risco de câncer (235, 237), estudos genéticos fornecem apenas *proxies* para as verdadeiras variantes de risco funcional que ainda não foram identificadas (236).

Um estudo que utilizou dados de *SNPs* identificados em grandes coortes de pacientes com câncer relacionados à co-ocorrência com FL/PNS e de pacientes com fissuras buscou caracterizar sistematicamente os possíveis *loci* de risco pleiotrópico para FL/PNS e câncer (252). Esse estudo partiu da investigação de grandes conjuntos de dados de estudos do tipo GWAS, sendo 12 *SNPs* de FL/PNS em 32 conjuntos de dados de câncer e 204 *SNPs* de câncer em dois conjuntos de dados de FL/PNS. Os *SNPs* rs13041247 (*20q12*) e rs6457327 (*6p21.33*) mostram evidências sugestivas de associação entre FL/PNS e cânceres específicos, sendo eles o carcinoma espinocelular da pele e o linfoma folicular, respectivamente (252).

Outra forma de se pesquisar a associação entre FL/PNS e câncer tem sido através da investigação de mecanismos moleculares subjacentes à FL/PNS, com o uso de amostras celulares de crianças com FL/PNS e amostras do câncer provenientes dos bancos de dados genéticos. De acordo com a análise da rede de interação proteína-proteína associada ao

câncer, os genes com maior expressão foram *TP53*, *CDK1*, *SMAD3*, *PIK3R1* e *CASP3*. Dentre esses, o *TP53*, *SMAD3*, *PIK3R1* e *CDK1* demonstraram estar associados não somente à FL/PNS, mas também ao câncer (249).

Acredita-se ainda que estudos de imputação com o uso de painéis de referência combinados, tais como *Haplotype Reference Consortium*, aumentarão a acurácia de variantes de baixa frequência e a oportunidade de encontrar variantes genéticas subjacentes à FL/PNS de modo comparável aos recentes progressos observados com outros distúrbios (212). Favorecerão também a identificação de mecanismos etiopatogênicos comuns a essas duas condições.

4 METODOLOGIA

4.1 Delineamento do estudo

Trata-se de um estudo epidemiológico, transversal, do tipo caso-controle, com uma amostra de 105 mulheres com câncer no aparelho reprodutor feminino acometendo o útero ou o ovário e 210 mulheres clinicamente saudáveis e sem histórico de câncer, no período de janeiro a dezembro de 2018. É um estudo comparativo entre os grupos caso (doença) e controle (cl clinicamente saudáveis).

4.2 População

Este estudo envolveu dois grupos de indivíduos: o grupo caso, com 105 pacientes com câncer de útero ou de ovário, e o grupo controle, com 210 mulheres clinicamente saudáveis e sem a doença.

As pacientes do grupo caso estavam em tratamento na Unidade de Assistência de Alta Complexidade em Oncologia – UNACON, do Hospital Santa Casa, em Montes Claros/MG, única cidade de referência em oncologia na Macrorregião de Saúde do Norte de Minas Gerais para uma população estimada em 1.676.413 habitantes (254). As mulheres participantes do grupo controle eram pacientes assistidas em ambulatórios clínicos de dois hospitais deste mesmo município, sendo um deles universitário.

Os critérios de inclusão das participantes no grupo caso foram: (i) pacientes diagnosticadas com câncer de útero ou de ovário em acompanhamento terapêutico, ambulatorial ou hospitalar; e (ii) pacientes em acompanhamento de controle de cura do câncer de útero ou de ovário no serviço oncológico ambulatorial. O critério de inclusão das participantes no grupo controle consistiu-se de: mulheres saudáveis, sem histórico atual ou anterior de qualquer tipo de câncer.

Os critérios de exclusão incluíram: (i) pacientes cujos resultados do exame de anatomia patológica do câncer de útero ou de ovário não se encontravam disponíveis no prontuário (somente para o grupo caso); (ii) pacientes com histórico positivo atual ou anterior de

neoplasia maligna primária em topografia distinta ao útero e ovário no momento da entrevista (ambos os grupos); *(iii)* pacientes com histórico positivo ou fenótipo sugestivo de qualquer condição sindrômica (ambos os grupos); *(iv)* pacientes com alguma deformidade dos dedos anelares e indicadores por doença ou trauma (ambos os grupos e somente para o objetivo da pesquisa 2D:4D); *(v)* pacientes com histórico positivo ou fenótipo sugestivo de distúrbio endócrino (ambos os grupos e somente para o objetivo da 2D:4D); *(vi)* pacientes com distúrbio cognitivo e dificuldade em responder ao questionário (ambos os grupos e somente para os objetivos de histórico de agenesia e de fissura oral na família); *(vii)* pacientes com histórico positivo de adoção e sem conhecimento da sua família biológica (ambos os grupos e somente para o objetivo sobre a história familiar de fissura); e *(viii)* pacientes com extração completa dos dentes ou pacientes cujas perdas dentárias não puderam ser determinadas (ambos os grupos e somente para o objetivo da agenesia dentária).

A identificação da relação das pacientes em tratamento ou acompanhamento oncológico para câncer de útero ou ovário se deu pela busca eletrônica no sistema de informação do serviço de oncologia da Santa Casa, utilizando-se os códigos da 10ª edição do Código Internacional de Doenças – CID10. Identificada a relação e confirmados os resultados da anatomia patológica nos prontuários, foi verificada a agenda de consultas oncológicas, sessões de quimioterapia ou radioterapia, momento em que se deu a entrevista das pacientes.

A partir da eleição das pacientes do grupo caso, fez-se a eleição do grupo controle, composto por mulheres sem histórico de câncer de útero ou ovário, considerando-se o pareamento por idade com o grupo caso na proporção de 2:1 (2 controles para 1 caso).

4.2.1 Cálculo amostral

A amostra foi calculada com base na taxa de incidência estimada de cânceres de útero e ovário no Estado de Minas Gerais para 2018, segundo dados publicados pelo INCA (5), e na população estimada de mulheres com idade igual ou superior a 25 anos para a Macrorregião de Saúde do Norte de Minas Gerais, utilizando-se dados do Ministério da Saúde (254).

De acordo com as estimativas preliminares para 2018, do Ministério da Saúde, a população da Macrorregião de Saúde do Norte de Minas Gerais é de 1.676.413 habitantes, sendo 837.170 mulheres (254). Ao se diminuir dessa população de mulheres a fração correspondente a faixa

etária abaixo de 25 anos, há uma redução de 38%. Assim, estima-se que essa macrorregião possua 517.635 mulheres na faixa etária de susceptibilidade do desenvolvimento desses tipos de câncer (254).

Ao se utilizarem os dados estimados pelo INCA (5), cuja soma da taxa bruta dos cânceres de útero (4,76 casos de corpo do útero e 8,37 de colo do útero) e de ovário (5,20 casos) é de 18,33/100.000 mulheres no estado de Minas Gerais, e o total de 517.635 mulheres susceptíveis, estima-se a ocorrência de 95 novos casos de câncer de útero ou ovário para 2018, na Macrorregião de Saúde do Norte de Minas Gerais. Assim, definiu-se uma amostra de 105 pacientes, o que representa 10% acima da estimativa prevista para 2018.

4.3 Coleta de dados e aspectos éticos

Todas as pacientes autorizaram sua participação na pesquisa através do Termo de consentimento livre e esclarecido (Apêndice A). Foram respeitadas todas as normas relativas à ética em pesquisa envolvendo seres humanos e obtida a autorização do Comitê de Ética em Pesquisa Institucional (# 2.227.760) (Anexo A).

4.3.1 Calibração dos examinadores

A coleta dos dados foi realizada por equipe composta pela pesquisadora e três graduandas em medicina participantes do programa de iniciação científica. Antes da coleta de dados, foi realizado um teste piloto para verificação, aferição e compreensão da qualidade do instrumento de coleta de dados na entrevista – questionário estruturado (Apêndice B) e figura padrão ilustrativa das fissuras orais (Anexo B) – e calibração das examinadoras. As examinadoras responderam a todas as perguntas do questionário em um único momento, buscando-se dirimir suas dúvidas e alinhar a forma de abordagem das pacientes.

Para garantir a calibração da medição do comprimento dos dedos indicadores (2D) e anelares (4D), foram escolhidas dez mulheres voluntárias não participantes da pesquisa. As mensurações digitais das voluntárias ocorreram em três dias distintos. Cada examinadora mensurou por duas vezes os dedos indicadores e anelares, com intervalo mínimo de 30 minutos entre a primeira e segunda medição, totalizando 240 medições por examinadora ao

final dos três dias. Os CCI's das variáveis dos dígitos (2D, 4D, 2D:4D_D e 2D:4D_E) foram calculados para conferir a confiabilidade entre e intra-examinadores, conforme demonstrado na Tabela 1. Depois de observadas as altas concordâncias das mensurações entre e intra-examinadores, iniciaram-se as coletas de dados.

Tabela 1. Confiabilidade das mensurações dos dígitos medida por coeficientes de correlação intraclasse entre e intra-examinadores

Coeficiente de correlação intraclasse	Medidas dos dígitos					
	2D _D *	4D _D *	2D:4D _D *	2D _E *	4D _E *	2D:4D _E *
Entre-examinadores	0.983	0.987	0.947	0.990	0.989	0.971
Intra-examinador						
1	0.992	0.987	0.948	0.993	0.995	0.987
2	0.974	0.984	0.919	0.985	0.984	0.971
3	0.993	0.990	0.979	0.992	0.991	0.974
4	0.972	0.986	0.922	0.993	0.987	0.932

*Abreviações: 2D_D: segundo dígito direito; 4D_D: quarto dígito direito; 2D4D_D: razão digital direita; 2D_E: segundo dígito esquerdo; 4D_E: quarto dígito esquerdo; 2D4D_E: razão digital esquerda.

4.3.2 Variáveis

Todas as informações foram coletadas através de entrevistas diretas com as pacientes eleitas, utilizando-se questionário estruturado (Apêndice B) e figura padrão das fissuras orais (Anexo B) que ilustra os tipos de FO e as classifica com base na referência de Spina (169).

Organizou-se um banco de dados com informações sociais, demográficas e clínicas das participantes com as seguintes variáveis: caso ou controle, tipo/topografia primária do câncer (colo do útero; corpo do útero; ovário), data de nascimento e idade, cor da pele agrupada em tipo caucasiano e não caucasiano, nacionalidade, naturalidade, história de consanguinidade entre os pais, história prévia de outro tipo de câncer, história de agenesia dentária, identificação do número do dente ausente (em caso de relato positivo), história de FL/PNS nos parentes de primeiro grau, tipo de fissura (FL unilateral; FL bilateral; FLP unilateral e FLP bilateral e FP) e as medidas dos comprimentos digitais em milímetros dos dedos indicador e anelar de ambas as mãos.

A medição do comprimento dos dedos indicadores e anelares de ambas as mãos, em milímetros (mm), foi realizada com o paquímetro digital 6" – ZAAS Precison[®]. Essas mensurações foram realizadas em dois momentos, com intervalo mínimo de 30 minutos entre a primeira e segunda medição. A primeira medição ocorreu na sala de espera dos consultórios clínicos enquanto o paciente aguardava a consulta e a segunda, foi realizada após a consulta clínica, tendo decorrido o tempo mínimo preconizado. O comprimento digital correspondeu à distância em uma faixa linear entre a prega palmar mais proximal do dedo e a sua ponta. A medição dos dedos das mãos ocorreu na seguinte sequência: 2D direito, 4D direito, seguido por 2D esquerdo e 4D esquerdo. O cálculo das razões digitais, 2D:4D_D e 2D:4D_E, foi feito a partir da média obtida entre as duas medidas dos respectivos dedos.

A identificação da ocorrência de agenesia dentária foi verificada através do relato da paciente e da verificação pelo exame clínico oral, além da confirmação radiológica panorâmica, quando necessária.

4.4 Análise estatística

Os dados coletados foram armazenados e processados utilizando-se o programa *Statistical Package for the Social Sciences* (SPSS[®]), versão 24.0 para *Windows*. Para se obter poder estatístico, os grupos foram pareados na proporção de 2:1 entre controles e casos.

Análises estatísticas descritivas e comparativas entre os grupos caso e controle foram realizadas com base nas características de ambos os grupos, tais como idade, cor da pele, história de consanguinidade entre os pais, agenesia dentária e história familiar de FL/PNS. A cor da pele foi agrupada em dois grupos: tipos caucasianos e não caucasianos.

O teste de *Kolmogorov-Smirnov* foi inicialmente usado para avaliar a distribuição das variáveis contínuas (idade, 2D:4D_D e 2D:4D_E) e definir o teste estatístico, se paramétrico ou não paramétrico. O teste *t* de *Student* para amostras independentes foi usado nas comparações das médias de variáveis contínuas entre os grupos, por se tratar de amostras com distribuição normal. Para cálculo do tamanho do efeito utilizou-se o teste *d* de *Cohen's*.

Para avaliação das variáveis categóricas (agenesia dentária, história familiar de FL/PNS, cor de pele e história de consanguinidade paterna) entre os grupos caso e controle, foram realizados os testes de qui-quadrado de *Pearson* e exato de *Fischer* e a *Odds Ratio* (OR), com seus IC's

de 95%. Para avaliar a significância dos resultados de todas as análises, foi utilizado o cálculo do valor p e adotado um nível de significância de 5% ($p < 0,05$).

5 PRODUTOS

5.1 Artigo científico 1: ***ASSESSMENT OF THE ASSOCIATION BETWEEN 2D:4D AND CANCER IN THE FEMALE REPRODUCTIVE SYSTEM.*** Formatado de acordo com o periódico científico: *British Journal of Cancer*

5.2 Artigo científico 2: ***DENTAL AGENESIS AND ORAL CLEFTS IN PATIENTS WITH CANCER IN THE FEMALE REPRODUCTIVE SYSTEM.*** Formatado de acordo com o periódico científico: *Oral Diseases*

5.3 Artigo científico 3: ***DIGITAL BIOMARKER 2D:4D AS A PREDICTOR OF CANCER: A SYSTEMATIC REVIEW.*** Formatado de acordo com o periódico científico: *Clinics*

5.1 ARTIGO CIENTÍFICO 1 – Periódico científico: *British Journal of Cancer*

manuscripttrackingsystem						BJC
tracking system home	author instructions	reviewer instructions	? help	tips	logout	journal home

Detailed Status Information

Manuscript #	EP-2020-1415
Current Revision #	0
Current Stage	Under consideration
Title	ASSESSMENT OF THE ASSOCIATION BETWEEN 2D:4D AND CANCER IN THE FEMALE REPRODUCTIVE SYSTEM
Running Title	2D:4D and cancer in the female reproductive system
Manuscript Type	Article
Category	Epidemiology
Corresponding Author	Ms. CLÁUDIA FONSECA (claudia.fonseca@unimontes.br) (State University of Montes Claros - Unimontes)
Contributing Authors	Dr. Daniella Martelli (State University of Montes Claros) , Miss Renata Oliveira (State University of Montes Claros - Unimontes) , Ms. Célia Maia (State University of Montes Claros - Unimontes) , Dr. Hercilio Martelli-Junior (State University of Montes Claros)
Abstract	Background: It is established that the ratio of the lengths of index and ring fingers (2D:4D) can be predictive of cancer susceptibility. This study aimed to evaluate the association between 2D:4D and cancer in the female reproductive system as a possible susceptibility biomarker. Methods: We conducted a case-control study enrolling a total of 315 patients; 105 were patients with ovarian or uterine cancer (case group) and 210 were healthy women (control group), matched by age. Digital measurements were performed by using a digital Vernier caliper, and the digital ratios in both hands were calculated. Student's <i>t</i> test for unpaired sample was performed and values with $p < 0.05$ were considered statistically significant. Results: The average age of the cases diagnosed with cancer was 56 years (± 14.20), and in the control group 55 years (± 12.39). Women in the case group presented right 2D:4D (R2D:4D) slightly higher ($p = 0.063$) compared to clinically healthy women. No association was observed on the left 2D:4D (L2D:4D) ($p = 0.222$). Conclusions: There was a slight trend of association between cancer in the female reproductive system and R2D:4D, suggesting that patients with cancer in the reproductive system (ovarian or uterine) have had a higher prenatal estrogen and lower prenatal testosterone exposure.
Subject Editor	Assigned
Subject Terms	Biological sciences/Cancer/Gynaecological cancer Health sciences/Biomarkers/Predictive markers Health sciences/Oncology/Cancer/Gynaecological cancer/Cervical cancer Health sciences/Oncology/Cancer/Gynaecological cancer/Ovarian cancer
Conflict of interest	There is no conflict of interest

1 **ASSESSMENT OF THE ASSOCIATION BETWEEN 2D:4D AND CANCER IN THE**
2 **FEMALE REPRODUCTIVE SYSTEM**

3

4 Cláudia de Alvarenga Diniz Fonseca,^{1,2} Daniella Reis Barbosa Martelli,³ Renata Angélica
5 Ferreira de Oliveira,² Célia Márcia Fernandes Maia,³ Hercílio Martelli Júnior^{1,3,4}

6

7 ¹Health Science Program, State University of Montes Claros, Unimontes, Minas Gerais,
8 Brazil

9 ²Medicine School, State University of Montes Claros, Montes Claros, Minas Gerais, Brazil.

10 ³Dental School, State University of Montes Claros, Montes Claros, Minas Gerais, Brazil.

11 ⁴Center for Rehabilitation of Craniofacial Anomalies, University of José Rosario Vellano,
12 Alfenas, Minas Gerais, Brazil.

13 **Running title:** 2D:4D and cancer in the female reproductive system

14

15 **Corresponding Author:** Cláudia de Alvarenga Diniz Fonseca - [ORCID](https://orcid.org/0000-0001-9523-6830)
16 (<https://orcid.org/0000-0001-9523-6830>).

17 **Mailing address:** School of Medicine, Department of Clinical Medicine, Center of Biological
18 and Health Sciences, State University of Montes Claros – Unimontes – Av. Prof. Rui Braga,
19 s/n – Vila Mauriceia, Montes Claros – Minas Gerais, Brazil, CEP 39408-354.

20 **Telephone:** +55 (38) 32298282

21 **E-mail:** claudia.fonseca@unimontes.br

22

23

24

25

26

27

28

29 **ABSTRACT**

30 **Background:** It is established that the ratio of the lengths of index and ring fingers (2D:4D)
31 can be predictive of cancer susceptibility. This study aimed to evaluate the association
32 between 2D:4D and cancer in the female reproductive system as a possible susceptibility
33 biomarker. **Methods:** We conducted a case-control study enrolling a total of 315 patients; 105
34 were patients with ovarian or uterine cancer (case group) and 210 were healthy women
35 (control group), matched by age. Digital measurements were performed by using a digital
36 Vernier caliper, and the digital ratios in both hands were calculated. Student's *t* test for
37 unpaired sample was performed and values with $p < 0.05$ were considered statistically
38 significant. **Results:** The average age of the cases diagnosed with cancer was 56 years
39 (± 14.20), and in the control group 55 years (± 12.39). Women in the case group presented
40 right 2D:4D (R2D:4D) slightly higher ($p = 0.063$) compared to clinically healthy women. No
41 association was observed on the left 2D:4D (L2D:4D) ($p = 0.222$). **Conclusions:** There was a
42 slight trend of association between cancer in the female reproductive system and R2D:4D,
43 suggesting that patients with cancer in the reproductive system (ovarian or uterine) have had a
44 higher prenatal estrogen and lower prenatal testosterone exposure.

45

46 **Keywords:** Digit ratio. 2D4D. Cancer. Ovarian cancer. Uterine cancer.

47

48

49

50

51

52

53

54

55

56

57 BACKGROUND

58 The digital ratio between the second and fourth digits of the hands, known as 2D:4D,
59 is sexually dimorphic: men show smaller digital ratio than women ^{1,2}. This sex difference in
60 2D:4D is determined by a balance between prenatal testosterone (PT) and prenatal estrogen
61 (PE), whose levels in adulthood of these hormones echo prenatal concentrations of sex
62 steroids ³. The 2D:4D has been suggested as a retrospective and non-invasive proxy
63 biomarker for prenatal androgen activity and an index of masculinization/feminization ^{1,4}. A
64 low 2D:4D indicates high PT exposure, and a high 2D:4D indicates high PE exposure ⁵.

65 Zheng and Cohn (2011) provide experimental evidence that the digital ratio is a
66 lifelong signature of prenatal hormonal exposure and suggest that 2D:4D may be used as an
67 indicator of disrupted endocrine signaling during the early development, which may help in
68 identifying fetal origins of diseases in adults ⁶. Some researchers claim that prenatal sex
69 steroids have often been implicated in the etiology of behaviors and illnesses, and suggest that
70 levels related to PT and PE may have effects on fertility, speed, strength, aggressiveness,
71 autism, cancers and heart diseases ⁷.

72 It is established that 2D:4D can be predictive of cancer susceptibility and this can be
73 particularly true in cancers that show differences between sex in their occurrence, progression
74 and/or prognosis ⁸. Thus, 2D:4D has been a biomarker linked to carcinogenic events and
75 associated with several neoplasms, including breast and prostate cancer ⁸⁻¹⁰. Some genes were
76 correlated with the formation and differentiation of the digital ratio ⁶ and some of them were
77 also correlated with carcinogenesis ^{6,11,12}.

78 Cancer is a major public health and economic issue and its incidence is on the rise,
79 propelled by aging societies, commercial interests and unhealthy lifestyles ¹³. It is a
80 multifactorial disease in which both genetic and environmental factors play a significant role.
81 The global burden of cancer is set to increase by more than 60% by 2040, from 18.1 million
82 new cases in 2018 to a predicted 29.4 million cases in 2040 ¹⁴. In Brazil, the estimate for each
83 year of the 2020-2022 triennium points out that 625 000 new cases of cancer will occur, with
84 approximately 300 000 cases affecting women ¹⁵. Patients, physicians and researchers expect
85 medical tests that can diagnose cancer earlier. Screening in healthy high-risk populations
86 offers the opportunity to detect early cancers, favors treatments and optimizes the possibility
87 of cure. Unfortunately, many types of cancer still lack effective screening recommendations
88 or, in some cases, the benefits of screening are marginal when compared to the potential for
89 harm ¹⁶.

90 When considering the importance of possible biomarkers in cancer screening, the
91 relative scarcity of studies to date and their still conflicting results in the analysis between
92 2D:4D and cancer risk reinforce the need to corroborate this type of association through the
93 studies in patients with cancer. This study aimed to evaluate the association between 2D:4D
94 and the cancer in the female reproductive system (ovarian or uterine) as a possible
95 susceptibility biomarker in a sample of Brazilians.

96 **METHODS**

97 A case-control study was performed between January and December 2018 with a total
98 of 105 patients with cancer in the female reproductive system, of which 30 had ovarian cancer
99 and 75 had uterine cancer (case group), and 210 healthy women (control group). All patients
100 with ovarian or uterine cancer attended at a reference Service in oncology at Santa Casa
101 Hospital, in Minas Gerais State, Brazil, were invited to participate in the study. At least two
102 unrelated individuals of the same age range for each cancer case were enrolled.

103 The single inclusion criterion was to be patients diagnosed with ovarian or uterine
104 cancer undergoing therapy or being monitored for control of cure. For control group the
105 inclusion criterion for the participant consisted of healthy women with no current or previous
106 history of any type of cancer.

107 Exclusion criteria included: (i) patients with current or previous positive history of
108 primary malignancy in topography other than the uterus and ovary, at the time of the
109 interview; (ii) patients with a positive history or suggestive phenotype of any hormonal
110 disorders; and (iii) patients with history of fractures or deformities of the index or ring fingers.

111 The sample was calculated based on the estimated incidence rate of ovarian or uterine
112 cancers for the year 2018 in the Minas Gerais State, according to data published by the
113 Brazilian National Institute of Cancer (INCA)¹⁷, and in the estimated population of women
114 aged 25 years or older for the macroregion of Northern Minas Gerais¹⁸. A sample with 105
115 patients was defined, which represents 10% over the expected figures for the region in 2018.
116 The control group with 2:1 (control:case) included randomly 210 free-cancer healthy
117 individuals, age-matched to the case group, who were assisted by primary-care physicians in
118 health public services and in the University General Hospital.

119 Data collection was performed by four examiners. Before starting data collection, a
120 pilot study was carried out to verify the calibration of the examiners in the measurement of
121 the length of the index and ring fingers. All examiners measured in three different occasions
122 ten volunteer women not taking part in the survey. The index and ring fingers of both hands
123 were measured twice, with an interval of 30 minutes between them in three different days,

124 totaling 240 measurements per examiner. Intraclass correlation coefficients (ICC's) were
125 calculated to check inter and intraobserver reliability of the right second digit (R2D), right
126 fourth digit (R4D), right-hand digital ratio (R2D4D), left second digit (L2D), left fourth digit
127 (L4D) and left-hand digital ratio (L2D4D) measurements.

128 The intraobserver ICC's demonstrated high reliability in the raw measurement of digits
129 in all examiners. The lowest intraobserver ICC's were 0.972 and 0.985 for the right and left
130 index fingers, respectively, and 0.984 for the ring fingers of both hands. The interobserver
131 ICC's in the measurement of the digits also demonstrated high reliability, equal or higher than
132 0.983, as shown in Table 1. In all this group the 2D:4D presented lower ICC's than in raw
133 measurements of digits. However this variability is due to individual differences instead of
134 measurement errors.

135 All participants signed an informed consent and answered a structured questionnaire
136 that included the following self-reported information for analysis: age, skin color, and history
137 of parental consanguinity. No participants were found to have hormonal disorders, and five
138 individuals did not know about the parental consanguinity. All subjects enrolled in this study
139 lived in the same geographical area (Northern Minas Gerais, Brazil) in an attempt to select
140 cases and control individuals with similar ethnicity and sociocultural backgrounds. It was
141 observed that the control group presented demographic, ethnic and sociocultural
142 characteristics similar to the case group. However, it is worth mentioning that the Brazilian
143 population presents a wide mixture of its ancestors coming from the Amerindian, African and
144 European populations¹⁹.

145 The measurements of the lengths of the index and ring fingers of the right and left
146 hands were performed by using digital Vernier calipers with a resolution of 0.01mm. The
147 measurements were taken by one of the four researchers in two moments and occurred in the
148 following sequence: right index finger, right ring finger, left index finger and left ring finger.
149 The second measurement was blind to the first and was performed 30 minutes after the first
150 one. The digital length corresponds to the distance in linear fashion from the most proximal
151 lower crease in the center of the finger to the fingertip. The index finger length was divided
152 by the ring finger length, originating the 2D:4D. The analyzed ratio was the mean of the two
153 measurements performed. We identified them as right 2D:4D (R2D:4D) and left 2D:4D
154 (L2D:4D). Studies have shown that the ICC's values are not sensitive to directional effects
155 neither indicate differences in scale when using the indirect measurement method^{20,21}. One
156 participant in the case group was excluded due to deformity of the left index finger.

157 Data were collected and stored in a database and processed by using the statistical
158 program SPSS[®] version 24.0 (*Statistical Package for Social Sciences for Windows*, Inc.,
159 Chicago, IL,USA). In order to gain statistical power, we had a ratio of 2:1 of control
160 individuals to cases. A descriptive and comparative statistical analysis was initially carried out
161 with baseline characteristics from both groups, such as age, parental consanguinity and skin
162 color.

163 Initially, the Kolmogorov-Smirnov test was used to check the distribution of the
164 samples. They revealed that age, R2D:4D and L2D:4D followed a normal distribution. Then a
165 Student's *t* test for unpaired sample was performed to compare the means of these variables in
166 patients with cancer versus control individuals. The effect size was calculated using the
167 Cohen's *d* test. In order to determine the association between parental consanguinity history
168 and skin color, Pearson's chi-squared or Fisher's exact tests and Odds ratio (OR) with its 95%
169 confidence intervals (95% CI's) were used. The continuous variables are presented as means \pm
170 standard deviation (SD) and the categorical variables as number (percent). All tests were 2-
171 tailed and *p* value of <0.05 was considered statistically significant.

172 All study participants provided written informed consent. The study was carried out
173 with approval of the University Human Research Ethics Committee (# 2.227.760), and an
174 institutional review board approval was obtained at each Center.

175 **RESULTS**

176 The average age in cases diagnosed with cancer was 56 years (± 14.20), and in the
177 control group was 55 years (± 12.39). The age distribution was not different between affected
178 and unaffected individuals ($p=0.324$). There was only one missing individual of L2D:4D in
179 the case group due to deformity in the left index finger.

180 Features such as skin color and history of consanguinity among parents did not differ
181 significantly between the two groups ($p>0.05$). We found that 4.8% (5/104) of cases and 7.8%
182 (16/206) of controls reported having a positive family history of consanguinity (1df chi-
183 square, $p=0.328$; Fisher's exact test, $p=0.473$; OR=0.60; 95% CI=0.21-1.69). Among
184 individuals of both groups, there was a prevalence of non-Caucasians in the case group (61%
185 versus 39%), but not in the control group (51.5% *versus* 49.5%).

186 There was a slight trend towards statistical significance for R2D:4D ($p=0.063$) but not
187 for L2D:4D. The results of the association of 2D:4D between the groups are shown in Table
188 2.

189 **DISCUSSION**

190 Differences in digital ratios and their association with various medical conditions and
191 diseases have been used with increasing frequency in a wide range of studies in recent years.
192 The 2D:4D has received great attention from researchers who have analyzed their association
193 with certain types of cancers ^{8,9,22,23}. Those that evaluate this association involved population
194 samples from several countries such as China ²⁴⁻²⁶, Spain ²⁷, England ²⁸, Korea ²⁹, France ³⁰,
195 Lithuania ³¹, United Kingdom ^{32,33}, EUA ³⁴, Australia^{35,36} and Brazil ^{9,10,23,37-42}. Among the
196 cancers most prevalent in this type of assessment breast and prostate cancer stand out. The
197 role of the hormonal influences in the etiopathogenesis of these types of cancer is well
198 established ^{10,38}.

199 This study evaluated the association between 2D:4D and the cancer in the female
200 reproductive system (ovarian or uterine). Our results showed no statistical association
201 between this biomarker and cancer in the female reproductive system on both hands, despite
202 the slight statistical trend in R2D:4D. Other studies which also do not confirm this type of
203 association involve different types of cancer such as acute lymphoblastic leukemia and
204 testicular, and prostate cancer ^{23,30,34,35,39}.

205 So far, there is only one study that approached the association of 2D:4D with a type of
206 cancer similar to this one. The study by Brabin *et al.*, in 2008, demonstrates that women who
207 developed some degree of cervical dysplasia were significantly more likely to have a higher
208 2D:4D than women without any dysplasia ³². Our results showed no statistical association
209 with cancer in the female reproductive system, although a slight trend of association was
210 observed in the R2D:4D ($p=0.06$). There was also a medium effect size (Cohen's $d=0.22$),
211 what means that 59% of women in the case group exceeded the average value in the control
212 group. There are reports in literature regarding differences between 2D:4D and the laterality
213 of hands. The observation that the magnitude of sex difference was larger for the right hand
214 than for the left one suggests that the R2D:4D is likely to reflect prenatal androgen exposure
215 more strongly and might be a better indicator of prenatal androgenization compared to the
216 L2D:4D ^{1,43}. It is worth noting that Brabin *et al.* also used a combined sample of the hands,
217 unlike most studies published to date ³².

218 Although 70% of cervical cancer cases are correlated with persistent HPV infection ⁴⁴,
219 Brabin *et al.* used women with negative HPV as a control group. These authors hypothesized
220 that a lower androgen exposure in early fetal life may predispose to persistent HPV infection
221 and an increased risk of cervical dysplasia ³². Despite these methodological differences and
222 due to the fact that we involved more than one type of cancer of the reproductive system, we

223 argue that an increase in the sample size involving only cervical cancer could reinforce the
224 trend of association.

225 Most publications in the past two decades provide contrary evidence to our results and
226 reinforce 2D:4D as a possible proxy biomarker associated with different types of cancer, such
227 as breast, gastric, prostate, brain, oral and colorectal cancer ^{9,10,24-29,31,33,36-38,40-42}. It is
228 noteworthy that in some of the studies involving the same type of cancer, there were
229 differences in their results regarding the type of effect observed, whether 2D:4D is a predictor
230 or a protector factor for cancer. In most studies, individuals with prostate cancer present a low
231 R2D:4D as a predictor factor for cancer ^{9,29,33,41}. However, a Spanish study demonstrates a
232 protective effect of the low digital ratio on the left laterality ²⁷. In addition, it is recognized
233 that prostate cancer is a type of multifactorial disease influenced by ethnic, environmental and
234 genetic issues ⁴⁵, and it must be considered that the different methods and ethnic aspects of the
235 population samples involved in the studies may partially explain the contradictory results
236 ^{9,35,45}.

237 The four studies that address breast cancer and its association with 2D:4D also present
238 results that do not agree with ours. In all of them, a high 2D:4D is observed as a predictor for
239 the risk of breast cancer in L2D:4D ^{10,24,28,36} and R2D:4D, except in one of the studies ³⁶.
240 There is evidence that the sex hormones and genes involved in fetal differentiation in 2D:4D
241 may also be involved in the initiation of mammary glands ⁶. Thus, if the fetal development of
242 the mammary glands is linked to the predisposition to breast cancer in adults, then 2D:4D
243 may be an indicator of this predisposition. There is also some evidence that the *SOX9* gene,
244 which is also activated or deactivated by EP and TP during the development of digits ⁶, may
245 be important for the onset and metastasis of breast tumors ⁴⁶.

246 Studies involving individuals with gastric cancer in samples of Chinese and Brazilian
247 population also demonstrate an association with 2D:4D, although they present conflicting
248 results. The Chinese studies show a low 2D:4D as a predictor factor for this type of cancer on
249 both lateralities in men ²⁵ and in women ²⁶. However, the Brazilian studies point out the
250 opposite, that is, a high 2D:4D is a predictor factor for this type of cancer in men only in
251 L2D:4D ³⁸ and in women only in R2D:4D ⁴². Our results also showed a trend of difference in
252 lateralities of the hands, with a slight trend of association on the right laterality and a lack of
253 association in the left one. The authors of the Chinese studies justify the differences in their
254 results in relation to the Brazilians studies highlighting that gastric cancer is far more common
255 in the West Asian population, in addition to the differences in the sample size and in the

256 selection method ^{25,26}. Wang *et al.* suggest that not only R2D:4D but also L2D:4D can be
257 predictors of PT/EP levels and present important information on this risk in women ²⁶.

258 Variations in 2D:4D have also been reported in different ethnic and geographical
259 groups. Manning *et al.* demonstrate that 2D:4D average proportions vary among European,
260 Asian and African ethnic populations ⁴⁷⁻⁴⁹. This study presented limitations regarding both the
261 sample size and the use of subjectivity in skin color classifications. As stated by Pereira *et al.*,
262 studies that apply the race/skin color/ethnicity variable in Brazil in the absence of a
263 genetically quantitative method when describing ancestry are influenced by subjectivity of
264 skin color classifications made by participants and researchers ⁵⁰. Another study on a
265 Brazilian population showed that subjective classifications of skin color are inadequate to
266 describe the population structure present in recently mixed populations ⁵¹.

267 Our study showed a slight trend of association between cancer in the female
268 reproductive system (ovarian or uterine) and R2D:4D, suggesting that patients with ovarian or
269 uterine cancer have had a higher prenatal estrogen and lower prenatal testosterone exposure. It
270 suggests that this biomarker could offer the opportunity to detect the risk of these types of
271 cancer in the screening of risk populations. Further studies with larger samples are needed to
272 better understand the possible relationships between this type of cancer and 2D:4D to
273 corroborate or not the association.

274

275 **ACKNOWLEDGMENTS**

276 This work was supported by grants from The State of Minas Gerais Research Foundation-
277 FAPEMIG, Minas Gerais, Brazil, and from the National Council for Scientific and
278 Technological Development-CNPq, Brasília, Brazil.

279 **AUTHORS' CONTRIBUTIONS:**

280 *Contributions*

281 C.A.D.F. assisted in data collection, performed all statistical analyzes and wrote the
282 manuscript, being the main responsible for the final content; H.M.J conducted the research
283 and critically reviewed the manuscript; D.B.R.M, R.A.F.O and C.M.F.M participated in the
284 calibration of the digit measurement and data collection. All authors read and approved the
285 final manuscript.

286 **ETHICS DECLARATIONS**

287 *Ethics approval and consent to participate*

288 The informed consent and institutional review board approval were obtained within the
289 framework of the original studies, according to the laws in force at the time of data collection.

290 All study participants provided written informed consent. The study was carried out with
 291 approval of the University Human Research Ethics Committee (# 2.227.760), and an
 292 institutional review board approval was obtained at each Center.

293 *Corresponding authors*

294 Correspondence to Cláudia de A. Diniz Fonseca or Hercílio Martelli Júnior.

295 **DATA AVAILABILITY**

296 Data are available for scientific purposes upon reasonable request to the corresponding
 297 authors.

298 **COMPETING INTERESTS**

299 The authors declare no competing interests regarding the publication of this article.

300 **FUNDING**

301 This work does not have funding from development agencies.

302

303 **REFERENCES**

- 304 1 Manning, J. T., Scutt, D., Wilson, J. & Lewis-Jones, D. I. The ratio of 2nd to 4th digit
 305 length: a predictor of sperm numbers and concentrations of testosterone, luteinizing
 306 hormone and oestrogen. *Hum Reprod* **13**, 3000-3004 (1998).
- 307 2 Xu, Y. & Zheng, Y. The digit ratio (2D:4D) in China: A meta-analysis. *American*
 308 *journal of human biology : the official journal of the Human Biology Council* **27**, 304-
 309 309 (2015).
- 310 3 Manning, J., Kilduff, L., Cook, C., Crewther, B. & Fink, B. Digit Ratio (2D:4D): A
 311 Biomarker for Prenatal Sex Steroids and Adult Sex Steroids in Challenge Situations.
 312 *Front Endocrinol (Lausanne)* **5**, 9 (2014).
- 313 4 Zhang, K. *et al.* Revisiting the relationships of 2D:4D with androgen receptor (AR)
 314 gene and current testosterone levels: Replication study and meta-analyses. *J Neurosci*
 315 *Res* **98**, 353-370 (2020).
- 316 5 Manning, J. T., Bundred, P. E. & Flanagan, B. F. The ratio of 2nd to 4th digit length: a
 317 proxy for transactivation activity of the androgen receptor gene? *Medical hypotheses*
 318 **59**, 334-336 (2002).
- 319 6 Zheng, Z. & Cohn, M. J. Developmental basis of sexually dimorphic digit ratios. *Proc*
 320 *Natl Acad Sci U S A* **108**, 16289-16294 (2011).
- 321 7 Manning, J. T. Resolving the role of prenatal sex steroids in the development of digit
 322 ratio. *Proc Natl Acad Sci U S A* **108**, 16143-16144 (2011).
- 323 8 Hopp, R. *et al.* Digit Ratio (2D:4D) and cancer: What is known so far? *International*
 324 *Journal of Cancer Therapy and Oncology* **2** (2014).
- 325 9 Mendes, P. H. *et al.* Comparison of digit ratio (2D:4D) between Brazilian men with
 326 and without prostate cancer. *Prostate cancer and prostatic diseases* **19**, 107-110
 327 (2016).
- 328 10 Mendes, P. *et al.* Digit ratio (2D:4D) is associated with breast cancer. *International*
 329 *Journal of Cancer Therapy and Oncology* **4** (2016).

- 330 11 Nunes, F. D., de Almeida, F. C., Tucci, R. & de Sousa, S. C. Homeobox genes: a
331 molecular link between development and cancer. *Pesquisa odontologica brasileira =*
332 *Brazilian oral research* **17**, 94-98 (2003).
- 333 12 Takahashi, Y. *et al.* Expression profiles of 39 HOX genes in normal human adult
334 organs and anaplastic thyroid cancer cell lines by quantitative real-time RT-PCR
335 system. *Exp Cell Res* **293**, 144-153 (2004).
- 336 13 Bray, F. *et al.* Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and
337 mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin* **68**, 394-424
338 (2018).
- 339 14 Ferlay, J. *et al.* Estimating the global cancer incidence and mortality in 2018:
340 GLOBOCAN sources and methods. *International journal of cancer* **144**, 1941-1953
341 (2019).
- 342 15 INCA. *Estimativa 2020: incidência de câncer no Brasil*. (Ministério da Saúde.
343 Instituto Nacional de Câncer José de Alencar Gomes da Silva (INCA). Coordenação
344 de Prevenção e Vigilância.: Rio de Janeiro, 2019).
- 345 16 Schiffman, J. D., Fisher, P. G. & Gibbs, P. Early detection of cancer: past, present, and
346 future. *Am Soc Clin Oncol Educ Book* 10.14694/EdBook_AM.2015.35.57, 57-65
347 (2015).
- 348 17 INCA. *Estimativa 2018: incidência de câncer no Brasil*. (Ministério da Saúde.
349 Instituto Nacional de Câncer José de Alencar Gomes da Silva (INCA). Coordenação
350 de Prevenção e Vigilância.: Rio de Janeiro, 2017).
- 351 18 DATASUS. *População Residente - Estudo de estimativas populacionais por*
352 *Município, Idade e Sexo 2000-2019 - Brasil*,
353 <http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/deftohtm.exe?popvs/cnv/popbr.def> (2018).
- 354 19 Robinson, S. J. & Manning, J. T. The ratio of 2nd to 4th digit length and male
355 homosexuality. *Evol Hum Behav* **21**, 333-345 (2000).
- 356 20 Fink, B. & Manning, J. T. Direct versus indirect measurement of digit ratio: New data
357 from Austria and a critical consideration of clarity of report in 2D:4D studies. *Early*
358 *human development* **127**, 28-32 (2018).
- 359 21 de Aquino, S. N. *et al.* A review of seasonality of cleft births - The Brazil experience.
360 *J Oral Biol Craniofac Res* **7**, 2-6 (2017).
- 361 22 Stolten, M., Ledet, E., Dotiwala, A., Luk, E. & Sartor, O. Alternative Digit Ratios and
362 Their Relationship to Prostate Cancer. *Clinical genitourinary cancer* **14**, 149-152
363 (2016).
- 364 23 Dias, V. O. *et al.* Association between Hand Digit Ratio (2D : 4D) and Acute
365 Lymphoblastic Leukemia. *Dis Markers* **2018**, 4938725 (2018).
- 366 24 Hong, L. *et al.* Digit ratio (2D:4D) in Chinese women with breast cancer. *American*
367 *journal of human biology : the official journal of the Human Biology Council* **26**, 562-
368 564 (2014).
- 369 25 Sheng, Y. *et al.* Decreased digit ratio (2D:4D) and gastric cancer in Chinese men.
370 *Early human development* **103**, 109-112 (2016).
- 371 26 Wang, L., Lu, H., Li, K. K., Bai, C. Y. & Ma, Z. B. Digit ratio (2D:4D) in Chinese
372 women with gastric cancer. *American journal of human biology : the official journal*
373 *of the Human Biology Council* **30**, e23109 (2018).
- 374 27 Garcia-Cruz, E. *et al.* Higher second fourth digit ratio predicts higher incidence of
375 prostate cancer in prostate biopsy. *Archivos espanoles de urologia* **65**, 816-821 (2012).
- 376 28 Manning, J. T. & Leinster, S. J. re: The ratio of 2nd to 4th digit length and age at
377 presentation of breast cancer: a link with prenatal oestrogen? *The Breast* **10**, 355-357
378 (2001).

- 379 29 Oh, J. K., Kim, K. H., Jung, H., Yoon, S. J. & Kim, T. B. Second to fourth digit ratio:
380 its relationship with core cancer volume and Gleason score in prostate biopsy.
381 *International braz j urol : official journal of the Brazilian Society of Urology* **38**, 611-
382 619 (2012).
- 383 30 Auger, J. & Eustache, F. Second to fourth digit ratios, male genital development and
384 reproductive health: a clinical study among fertile men and testis cancer patients.
385 *International journal of andrology* **34**, e49-58 (2011).
- 386 31 Bunevicius, A. *et al.* Digit ratio (2D:4D) in primary brain tumor patients: A case-
387 control study. *Early human development* **103**, 205-208 (2016).
- 388 32 Brabin, L., Roberts, S. A., Farzaneh, F., Fairbrother, E. & Kitchener, H. C. The second
389 to fourth digit ratio (2D:4D) in women with and without human papillomavirus and
390 cervical dysplasia. *American journal of human biology : the official journal of the*
391 *Human Biology Council* **20**, 337-341 (2008).
- 392 33 Rahman, A. A. *et al.* Hand pattern indicates prostate cancer risk. *British journal of*
393 *cancer* **104**, 175-177 (2011).
- 394 34 Trabert, B., Graubard, B. I., Erickson, R. L., Zhang, Y. & McGlynn, K. A. Second to
395 fourth digit ratio, handedness and testicular germ cell tumors. *Early human*
396 *development* **89**, 463-466 (2013).
- 397 35 Nicolas Hopp, R. & Jorge, J. Right hand digit ratio (2D:4D) is associated with oral
398 cancer. *American journal of human biology : the official journal of the Human*
399 *Biology Council* **23**, 423-425 (2011).
- 400 36 Nicolas Hopp, R. *et al.* Digit ratio (2D:4D) is associated with gastric cancer. *Early*
401 *human development* **89**, 327-329 (2013).
- 402 37 Salomao, L., Figueiredo, R. T., Oliveira Santos, R., Damiao, R. & da Silva, E. A.
403 From palmistry to anthropometry: can 2nd to 4th digit length (2D:4D) predict the risk
404 of prostate cancer? *Urologia internationalis* **93**, 257-261 (2014).
- 405 38 Hopp, R. N., Lima, N. C. d. S., Filho, M. S., Filho, J. L. F. & Jorge, J. Digit Ratio is
406 Associated with Colorectal Cancer. *Journal of Gastrointestinal & Digestive System* **05**
407 (2015).
- 408 39 Hopp, R. N. & Jorge, J. Right hand digit ratio (2D:4D) is associated with prostate
409 cancer: Findings of an admixed population study. *Journal of Solid Tumors* **2** (2012).
- 410 40 Gonçalves, E. *et al.* Hand digit ratio (2d:4d) and gastric cancer risk: a cross-sectional
411 study among southeastern Brazilians. *Journal of Xiangya Medicine* **2**, 1-1 (2017).
- 412 41 Muller, D. C. *et al.* Second to fourth digit ratio (2D:4D) and prostate cancer risk in the
413 Melbourne Collaborative Cohort Study. *British journal of cancer* **105**, 438-440
414 (2011).
- 415 42 Honekopp, J. & Watson, S. Meta-analysis of digit ratio 2D:4D shows greater sex
416 difference in the right hand. *American journal of human biology : the official journal*
417 *of the Human Biology Council* **22**, 619-630 (2010).
- 418 43 Lima, M. S. *et al.* Trends in cervical cancer and its precursor forms to evaluate
419 screening policies in a mid-sized Northeastern Brazilian city. *PloS one* **15**, e0233354
420 (2020).
- 421 44 Muller, D. C. *et al.* Second to fourth digit ratio (2D:4D), breast cancer risk factors, and
422 breast cancer risk: a prospective cohort study. *British journal of cancer* **107**, 1631-
423 1636 (2012).
- 424 45 Li, G. *et al.* Prognostic significance of the digit ratio after hormone therapy for
425 prostate cancer: a prospective multicenter study. *Sci Rep* **7**, 5229 (2017).
- 426 46 Chakravarty, G. *et al.* Prognostic significance of cytoplasmic SOX9 in invasive ductal
427 carcinoma and metastatic breast cancer. *Experimental biology and medicine*
428 (*Maywood, N.J.*) **236**, 145-155 (2011).

- 429 47 Manning, J. T., Stewart, A., Bundred, P. E. & Trivers, R. L. Sex and ethnic differences
430 in 2nd to 4th digit ratio of children. *Early human development* **80**, 161-168 (2004).
- 431 48 Manning, J. T., Henzi, P., Venkatramana, P., Martin, S. & Singh, D. Second to fourth
432 digit ratio: ethnic differences and family size in English, Indian and South African
433 populations. *Ann Hum Biol* **30**, 579-588 (2003).
- 434 49 Knickmeyer, R. C., Woolson, S., Hamer, R. M., Konneker, T. & Gilmore, J. H. 2D:4D
435 ratios in the first 2 years of life: Stability and relation to testosterone exposure and
436 sensitivity. *Horm Behav* **60**, 256-263 (2011).
- 437 50 Pereira, F. *et al.* A systematic literature review on the European, African and
438 Amerindian genetic ancestry components on Brazilian health outcomes. *Sci Rep* **9**,
439 8874 (2019).
- 440 51 Leite, T. K., Fonseca, R. M., de Franca, N. M., Parra, E. J. & Pereira, R. W. Genomic
441 ancestry, self-reported "color" and quantitative measures of skin pigmentation in
442 Brazilian admixed siblings. *PloS one* **6**, e27162 (2011).
- 443
444
445

Table 1. Intraclass correlation coefficients of inter and intraobserver reliability for finger measurements

Intraclass correlation coefficient	Measures					
	R2D*	R4D*	R2D:4D*	L2D*	L4D*	L2D:4D*
Interobserver	0.983	0.987	0.947	0.990	0.989	0.971
Intraobserver						
1	0.992	0.987	0.948	0.993	0.995	0.987
2	0.974	0.984	0.919	0.985	0.984	0.971
3	0.993	0.990	0.979	0.992	0.991	0.974
4	0.972	0.986	0.922	0.993	0.987	0.932

*Abbreviations: R2D: right second digit; R4D: right fourth digit; R2D4D: right digital ratio; L2D: left second digit; L4D: left fourth digit; L2D4D: left digital ratio.

Table 2. Comparison of right hand digital ratio (R2D4D), left hand digital ratio (L2D4D) among patients with ovarian or uterine cancer (case group) and control group.

Case Group	CI* _{95%}	Control Group	CI* _{95%}	p-value	Size effect
Mean (sd)*		Mean (sd)*			
R2D:4D* 0.9604 (0.0373)	(0.9534-0.9679)	0.9527 (0.0327)	(0.9483-0.9572)	0.063 ^a	$d = 0.220^b$ $r = 0.109$
L2D:4D* 0.9646 (0.0344)	(0.9579-0.9712)	0.9595 (0.0346)	(0.9548-0.9642)	0.222 ^a	$d = 0.148^b$ $r = 0.074$

*Abbreviations: CI: confidence interval; *sd*: standard deviation; R2D4D: right digital ratio; L2D4D: left digital ratio.

^aStudent's *t*-test for unpaired samples; ^bCohen's *d*

5.2 ARTIGO CIENTÍFICO 2 – Periódico científico: *Oral Diseases*

Oral Diseases - Manuscript Copy



**DENTAL AGENESIS AND ORAL CLEFTS IN PATIENTS WITH
CANCER IN THE FEMALE REPRODUCTIVE SYSTEM**

Journal:	<i>Oral Diseases</i>
Manuscript ID	ODI-10-20-OM-9018
Manuscript Type:	Original Manuscript
Date Submitted by the Author:	12-Oct-2020
Complete List of Authors:	FONSECA, CLÁUDIA; Unimontes CCBS, CLÍNICA MÉDICA Martelli, Daniella; Universidade Estadual de Montes Claros Almeida, Ianná; Universidade Estadual de Montes Claros Mesquita, Letícia; Universidade Estadual de Montes Claros Dias, Verônica ; Universidade Estadual de Montes Claros, Dental school Martelli-Junior, Hercllio; Universidade Estadual de Montes Claros, Dental School
Keywords:	Oral clefts, Tooth agenesis, Cancer, Ovary cancer, Uterine cancer, Mouth

SCHOLARONE™
Manuscripts

Oral Diseases - Manuscript Copy

1 **DENTAL AGENESIS AND ORAL CLEFTS IN PATIENTS WITH CANCER IN THE**
2 **FEMALE REPRODUCTIVE SYSTEM**

3

4 Cláudia de Alvarenga Diniz Fonseca,^{1,2} Daniella Reis Barbosa Martelli,³ Ianná Luana Freitas
5 Almeida,² Letícia Gomes Monteiro Mesquita², Verônica Oliveira Dias,³ Hercílio Martelli
6 Júnior^{1,3,4}

7

8

9 ¹Health Science Program, State University of Montes Claros, Unimontes, Minas Gerais,
10 Brazil.

11 ²Medicine School, State University of Montes Claros, Montes Claros, Minas Gerais, Brazil.

12 ³Dental School, State University of Montes Claros, Montes Claros, Minas Gerais, Brazil.

13 ⁴Center for Rehabilitation of Craniofacial Anomalies, University of José Rosario Vellano,
14 Alfenas, Minas Gerais, Brazil.

15

16 **Running title:** Frequency of dental agenesis and oral clefts in patients with cancer.

17

18 **Corresponding address:**

19 Cláudia de Alvarenga Diniz Fonseca

20 Department of Clinical Medicine, Center of Biological and Health Sciences, State University
21 of Montes Claros - Unimontes

22 Av. Prof. Rui Braga, s/n - Vila Mauriceia, Montes Claros

23 Minas Gerais, Brazil, CEP 39408-354.

24 Telephone: +55 (38) 32298282

25 E-mail: claudia.fonseca@unimontes.br

26

27

28

29

30

1 **ABSTRACT**

2 **Objective:** To assess the occurrence of dental agenesis in women with or without in the
3 female reproductive system cancer and the frequency of oral clefts in their first-degree
4 relatives. **Materials and Methods:** We conducted a case-control study, involving 105
5 patients with ovarian or uterine cancer (case group) and 210 healthy individuals (control
6 group). The patients answered about the history of dental agenesis and oral clefts in first-
7 degree relatives. The Pearson's chi-squared test and Fisher's exact test with 95% CI were used.
8 Values with $p<0.05$ were considered statistically significant. **Results:** Among individuals of
9 both groups, there were only a few cases of hypodontia (two in each group). We found that
10 2% of cases and 1% of controls reported having at least one missing tooth. There was no
11 statistical difference between the groups (1df chi-square, $p=0.464$; Fisher's exact test,
12 $p=0.600$). Among patients with cancer 2 (1.9%) had a positive history of oral clefts while in
13 control group 5 (2.4%) women reported family history of oral clefts (1df chi-square, $p=0.787$;
14 Fisher's exact test, $p=1.000$). **Conclusion:** The occurrence of dental agenesis in women with
15 cancer in the reproductive system and the frequency of oral clefts in their first-degree relatives
16 were not significantly increased.

17

18 **Keywords:** Oral clefts. Tooth agenesis. Cancer. Ovary cancer. Uterine cancer.

19

20

21

22

23

24

25

26

27

28

29

30

31

1 INTRODUCTION

2 Cancer is a major public health and economic issue and its burden is set to spiral
3 (Jemal, Torre, Soerjomataram, & Bray, 2019). Its incidence is on the rise, propelled by aging
4 societies, commercial interests and unhealthy lifestyles. Currently, one in five men and one in
5 six women will be diagnosed with cancer, and one in eight men and one in ten women will
6 die from this disease (Jemal et al., 2019). Predictions suggest that by 2030, 13 million people
7 will die from this disease each year (Bray et al., 2018).

8 Cancer and congenital malformations may occasionally have a common etiology
9 (Altmann, Halliday, & Giles, 1998). Several epidemiological and genetics studies have
10 established an association between cancer and congenital malformation such as oral cleft
11 (OC) in Denmark (Bille et al., 2005; Dietz et al., 2012; Zhu et al., 2002), France (Benusiglio
12 et al., 2013; Frebourg et al., 2006), EUA (Andrade Filho et al., 2011; Menezes et al., 2009;
13 Taioli et al., 2010), China (H. Wang et al., 2016), Brazil (de Freitas et al., 2019; Machado et
14 al., 2017), Pakistan (Bui, Ayub, Ahmed, Taioli, & Taub, 2018) and Australia (Selvanathan et
15 al., 2020).

16 These OC can occur in isolation, as nonsyndromic events or as part of Mendelian
17 syndromes (Leslie & Marazita, 2013). About 70% of the cases occur as a nonsyndromic form
18 (NSOC), and the remaining 30% are associated with Mendelian disorders or chromosomal,
19 teratogenic and sporadic conditions (Stanier & Moore, 2004). NSOC is classified as
20 nonsyndromic cleft lip and palate (NSCLP), nonsyndromic cleft lip (NSCL), and
21 nonsyndromic cleft palate (NSCP), based on anatomical morphology (Harville, Wilcox, Lie,
22 Vindenes, & Abyholm, 2005). As the first two conditions share common epidemiological
23 features and embryogenesis timing, they are usually considered as variants of the same defect,
24 differing only in severity (Mitchell et al., 2002), and often joined together to form the group
25 of nonsyndromic cleft lip with or without cleft palate (NSCL±P; OMIM #119530) (Leslie &
26 Marazita, 2013).

27 Another of the most frequent congenital craniofacial anomalies in humans – dental
28 agenesis – shares a probability of a common genetic origin with cancer, as observed in the
29 increase in the cancer occurrence in general in families of individuals with this disorder
30 (Kuchler et al., 2013). This study aimed to determine if congenitally missing teeth occur more
31 commonly in women diagnosed with cancer in the reproductive system (ovary and uterus)
32 than in healthy women and to evaluate the frequency of NSCL±P in first-degree relatives of
33 women with these types of cancers.

34 MATERIALS AND METHODS

1 A case-control study was performed between January and December 2019 with a total
2 of 105 patients with cancer in the female reproductive system, of which 30 had ovarian cancer
3 and 75 had uterine cancer (case group), and 210 healthy women (control group). All patients
4 with ovarian or uterine cancer attended at a reference service in oncology at Santa Casa
5 Hospital, in the town of Montes Claros, in Minas Gerais State, Brazil, were invited to
6 participate in the study. At least two unrelated individuals of the same age range for each
7 cancer case were enrolled.

8 The single inclusion criterion was to be patients diagnosed with ovarian or uterine
9 cancer undergoing therapy or being monitored for control of cure. For control group the
10 inclusion criterion for the participant consisted of healthy women with no current or previous
11 history of any type of cancer. The exclusion criteria included: (i) patients with current or
12 previous positive history of primary malignancy in a topography other than uterus and ovary,
13 at the time of the interview (both groups); (ii) patients with a positive history or suggestive
14 phenotype of any syndromic conditions (both groups); and (iii) patients with history of tooth
15 loss due to trauma, caries, periodontal disease, or orthodontic extraction (both groups and
16 only for the purpose of agenesis dental).

17 The sample was calculated based on the estimated incidence rate of ovarian or uterine
18 cancers for the year 2018 in Minas Gerais State, according to data published by the Brazilian
19 National Institute of Cancer (INCA, 2017), and in the estimated population of women aged 25
20 years or older for the macroregion of Northern Minas Gerais (DATASUS, 2018). A sample
21 with 105 patients was defined, which represents 10% over the expected figures for the region
22 in 2018. The control group with 2:1 (control:case) included randomly 210 free-cancer healthy
23 individuals, age-matched to the case group.

24 All participants answered a structured questionnaire that included the following self-
25 reported information for analysis: age, skin color, history of parental consanguinity, history of
26 NSCL±P in first-degree relatives through self-identification by pictures. The evaluation of
27 tooth agenesis was performed based on self-report and dental status. Additional panoramic
28 radiographs were taken if required for diagnosis. All permanent teeth were examined,
29 excluding third molars. Eleven individuals with previous tooth extraction or who did not
30 provide missing teeth information were excluded from the sample since it was not possible to
31 exclude the feasibility of tooth agenesis. No participants were found to have underlying
32 syndrome, and five individuals did not know about the parental consanguinity. All subjects
33 enrolled in this study lived in the same geographical area (Northern Minas Gerais, Brazil) in
34 an attempt to select cases and control individuals with similar ethnicity and sociocultural

1 backgrounds. It was observed that the control group presented demographic, ethnic and
2 sociocultural characteristics similar to the case group.

3 Data were collected and stored in a database and processed by using the statistical
4 program SPSS[®] version 24.0 (*Statistical Package for Social Sciences for Windows*, Inc.,
5 Chicago, IL,USA). A descriptive and comparative statistical analysis was initially carried out
6 with baseline characteristics of both groups, such as age, parental consanguinity, skin color,
7 history of dental agenesis, and family history of NSCL±P. Unpaired (two-sample) Student's *t*
8 test was used to assess the differences in ages between the groups. In order to determine the
9 association with family history of NSCL±P and history of dental agenesis, Pearson's chi-
10 squared test or Fisher's exact test and odds ratio (OR) with its 95% confidence interval (95%
11 CI) were used. All tests were 2-tailed and *p* value of <0.05 was considered statistically
12 significant.

13 All study participants provided written informed consent. The study was carried out
14 with approval of the University Human Research Ethics Committee (#2.227.760), and an
15 institutional review board approval was obtained at each center.

16 17 **RESULTS**

18 The average age of the cases diagnosed with cancer was 56 years (± 14.20), and of
19 control group was 55 years (± 12.39). The age distribution was not different between affected
20 and unaffected individuals ($p=0.324$). Baseline characteristics are described in Table 1.

21 Among individuals of both groups, there were only a few cases of hypodontia (two in
22 each group). We found that 2% of cases and 0.98% of controls reported having at least one
23 missing tooth, and there was no statistical evidence of difference between individuals of case
24 and control groups (1df chi-square, $p=0.464$; Fisher's exact test, $p=0.600$) (Table 1). Among
25 105 patients with cancer, 2 (1.9%) had a positive family history of NSCL±P. In the control
26 group, 5 (2.4%) women reported family history of NSCL±P (1df chi-square, $p=0.787$; Fisher's
27 exact test, $p=1.000$) (Table 1). With this sample size, considering the frequency of NSCL±P
28 as 1/1,000 live births and the average of the Brazilian family size of 16 individuals (De
29 Alvarenga Diniz Fonseca et al., 2019; IBGE, 2016), we would expect to identify
30 approximately 1 or 2 cases of NSCL±P in relatives of cancer patients ($105 \times 16 / 1,000$) and 3 or
31 4 cases among relatives of the controls ($210 \times 16 / 1,000$). Despite that, NSCL±P frequency was
32 not significantly increased in first-degree relatives of patients with ovarian or uterine cancer.

33 34 **DISCUSSION**

1 Birth defects and cancer can share common aspects that influence their risks, and they may
2 have genetic and/or environmental origins (Bille et al., 2005). Our results showed that there
3 was no significant increase in the occurrence of dental agenesis among women with cancer in
4 the reproductive system (ovarian or uterine) and of NSCL±P in their first-degree relatives.

5 The first association observed between dental agenesis and cancer, published in 2004,
6 involved 17 individuals from four generations of a Finnish family with colorectal cancer and
7 dental agenesis (Lammi et al., 2004). It is noteworthy that the evidence from this study is
8 justified by *nonsense* mutations in *AXIN2*, a regulator of the *Wnt* signaling pathway,
9 corroborated by other studies that support the role of the same pathway in tooth development
10 and tumorigenesis (Beard, Purvis, Winship, Macrae, & Buchanan, 2019; Callahan et al.,
11 2009; Hlouskova, Bielik, Bonczek, Balcar, & Sery, 2017; Yin & Bian, 2015). In 2014, a
12 cohort addressing this type of association by sequencing the *locus* of the *AXIN2* gene
13 demonstrated a common *missense* variant in one of the two probands with colorectal cancer
14 and dental agenesis and in five of their siblings with dental agenesis, including a sister
15 unaffected by dental agenesis (Lindor et al., 2014). Other study provides additional evidence
16 that the genes involved in colorectal cancer may also be involved in tooth development
17 (Williams et al., 2018). Although our study has addressed only cancer in the female
18 reproductive system, its results contrast to previous studies by not indicating a higher
19 occurrence of dental agenesis in the group of women with ovarian or uterine cancer compared
20 to healthy women.

21 Our study also diverges from the first research by Chalothorn *et al.*, in 2008, that
22 addressed ovarian cancer and dental agenesis. In their study both women with epithelial
23 ovarian cancer and their families had a higher incidence of dental agenesis (Chalothorn et al.,
24 2008). However, another study which used the original sample of patients from the study by
25 Chalothorn *et al.* investigated this association through the complete sequential analysis of the
26 five candidate genes (*WNT10A*, *EDA*, *PAX9*, *MSXI* and *AXIN2*), and the *BARX1*, 2 and
27 *BRCA1*, showing evidence of independent causes to both conditions (Bonds, Pollan-White,
28 Xiang, Mues, & D'Souza, 2014). By the same time, a group of Slovenian researchers
29 concluded that women with ovarian cancer are 2.87 times more likely to have hypodontia than
30 healthy women, reinforcing the opposite (Fekonja, Cretnik, & Takac, 2014; Fekonja, Cretnik,
31 Zerdoner, & Takac, 2015).

32 Some researchers have observed that other congenital abnormalities, such as NSCL±P,
33 can also share many characteristics with neoplasms (Steinwachs et al., 2000). Our study also

1 evaluated the occurrence of NSCL±P in family members of patients with ovarian or uterine
2 cancer. Its results indicate that NSCL±P does not occur more frequently in families of women
3 with these types of cancer compared to families in a population-based sample of controls.

4 Accordingly with our results, though involving other several other types of cancer, a
5 similar study by Taioli *et al.* (2010) did not demonstrate a statistically higher risk of NSOC in
6 cancer survivors, despite the higher frequency (up to four times) of cleft (Taioli *et al.*, 2010).
7 Two Brazilian studies involving patients with prostate and breast cancer and their relatives
8 also did not demonstrate an increased occurrence of NSCL±P (De Alvarenga Diniz Fonseca *et al.*,
9 *et al.*, 2019; Martelli *et al.*, 2014). However, Jindal and Vieira, in 2012, provide evidence that
10 families that segregate children with lymphoblastic leukemia report a history of NSCL±P
11 more often than families without cases of pediatric cancer (Jindal & Vieira, 2012). On the
12 other hand, a review study states that the increased risk of NSCL±P among relatives of
13 individuals with cancer cannot be fully confirmed, and observes in the reports a consensus
14 among the authors on the need to increase the investigated population, seeking to avoid
15 random discoveries associated to multiple statistical tests or to potential impact of Type I
16 error (Popoff *et al.*, 2013).

17 When evaluating the reverse, that is, the incidence of cancer in individuals with
18 NSCL±P or in members of their families, some studies demonstrate a high occurrence (Bui *et al.*,
19 *et al.*, 2018; Menezes *et al.*, 2009; Vieira, Khaliq, & Lace, 2012; Zhu *et al.*, 2002). However,
20 there are also studies with results similar to ours that do not support this type of association
21 (Bjorge, Cnattingius, Lie, Tretli, & Engeland, 2008; Botto LD *et al.*, 2013; Goncalves *et al.*,
22 2014; Lima *et al.*, 2013; Steinwachs *et al.*, 2000). It is noted that not all studies that assess the
23 risk of cancer in relatives of patients with NSCL±P identify the most prevalent type of cancer,
24 what is a limitation of these studies. Nonetheless, in those studies in which it was possible to
25 identify it, there is a predominance of cases of colorectal cancer and leukemia, as well as
26 some reports of cancer of mouth, stomach, breast, brain, prostate, lung and liver and
27 lymphoma (Andrade Filho *et al.*, 2011; de Freitas *et al.*, 2019; Frebourg *et al.*, 2006; Menezes
28 *et al.*, 2009; Zhu *et al.*, 2002). To date, our study is the first one that involves exclusively
29 cancer in the female reproductive system and NSCL±P.

30 A cohort carried out in Denmark following individuals with syndromic and NSOC
31 identified several types of cancer, what makes it difficult to compare their results with ours.
32 Despite this limitation, it is worth mentioning that the study by Bille *et al.* also did not show
33 in its results an association with the general risk of cancer in a cleft group compared to the
34 general population. However, when stratifying the results by sex, an increased risk for breast

1 cancer was observed in women with NSOC, brain cancer in women with NSCP, in addition to
2 lung cancer in men with NSCLP (Bille *et al.*, 2005). Dietz *et al.* extended the cohort by Bille
3 *et al.* with focus on assessing the association between breast cancer risk in women with
4 NSCL/P and also among their mothers and sisters (Dietz *et al.*, 2012). In disagreement with
5 the results found by Bille *et al.*, the general analysis did not confirm the trend towards
6 increased risk of breast cancer in women with NSCL±P and in their first-degree relatives
7 (Dietz *et al.*, 2012). Another study involving Danish population shows a higher risk of
8 lymphomas and leukemia in parents of children in the group with NSCL±P (Zhu *et al.*, 2002).

9 Several other studies that do not specify the type of cancer show results different from
10 ours. The evidence that both individuals born with NSCL±P and members of their families
11 have a higher prevalence of cancer in relation to the general population was observed in
12 Latvia in 2012 (Vieira *et al.*, 2012). That study shows an increased risk of cancer six times
13 higher in individuals affected with NSCL±P, three times in their first and second-degree
14 relatives, and 1.5 time in their third-degree relatives (Vieira *et al.*, 2012). A recent study
15 involving a sample of Pakistani population also reveals an increased risk of cancer (5.19
16 times) in relatives of individuals affected with NSCL/P, though without specifying the degree
17 of family relationship (Bui *et al.*, 2018).

18 Several genetic studies with positive associations present conflicting results with our
19 study. Menezes *et al.* (2009) demonstrated in families segregating individuals with NSCL±P
20 an increased susceptibility to various types of cancer, mainly colon cancer. They also inferred
21 an association between the *AXIN2* and NSCL±P (Menezes *et al.*, 2009). The association of
22 mutations in the *E-cadherin* of the *CDH1* gene with NSCL/P was observed in two families
23 with diffuse hereditary gastric cancer (Frebourg *et al.*, 2006). Other studies reinforce that
24 genetic changes in *CDH1* and *AXIN2* are associated with both NSCL±P (Letra, Menezes,
25 Granjeiro, & Vieira, 2009; Song & Zhang, 2011) and gastric and breast cancer (Jiang *et al.*,
26 2015; Li, Wang, Liu, Hua, & Liu, 2015; van der Post *et al.*, 2015; S. H. Wang, Li, Wei, Li, &
27 Yu, 2014; X. Wang *et al.*, 2008). Changes in several other genes have been considered to be
28 implicated in carcinogenesis and NSCL±P (Andrade Filho *et al.*, 2011; Cardoso *et al.*, 2013;
29 Chiquet *et al.*, 2008; Guan, Yao, Zheng, Qiu, & Sun, 2011; Park *et al.*, 2005; Sagorny,
30 Chapellier, Laperrousaz, & Maguer-Satta, 2012; H. Wang *et al.*, 2016).

31 The studies have some limitations such as sample size, lack of control in ethnicity of
32 individuals, lack of identification of the types of cancer addressed and incompletely identified
33 genetic markers or molecular processes. Our study also presented limitations regarding the
34 sample size and subjectivity of skin color classifications. A study in Brazilian population

1 showed that subjective classifications based on self-reported "color", such as the one that is
2 used in the Brazilian census, are inadequate to describe the population structure present in
3 recently admixed populations (Leite, Fonseca, de Franca, Parra, & Pereira, 2011). Another
4 possible bias in this study is because it is partly based on the self-report family history of both
5 NSCL±P and consanguinity between parents, for it can affect data reliability. The choice of
6 first-degree relatives aimed to reduce memory bias. Furthermore, it is unlikely that individuals
7 in case groups are more assertive than controls.

8 Our results show that the occurrence of dental agenesis in patients with cancer in the
9 female reproductive system (ovarian or uterine) and the frequency of NSCL±P in their first-
10 degree relatives were not significantly increased. Studies with larger samples and molecular
11 analyses are needed to better understand the possible relationships in the etiology of cancer,
12 dental agenesis and NSCL±P.

13

14 **CONFLICTS OF INTEREST**

15 The authors declare that there is no conflict of interest regarding the publication of this article.

16

17 **ACKNOWLEDGMENTS**

18 This work was supported by grants from The State of Minas Gerais Research Foundation-
19 FAPEMIG, Minas Gerais, Brazil and the National Council for Scientific and Technological
20 Development-CNPq, Brasília, Brazil.

21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31

Table 1: Comparison of baseline characteristics of women with and without uterine or ovarian cancer

	Control n (210)	Case n (105)	p value	OR CI* (95%)
Skin color				
Caucasian	104 (49.5%)	41 (39.0%)	$p=0.079^a$ $p=0.093^b$	1.53 (0.95-2.47)
Non-caucasian	106 (50.5%)	64 (61.0%)		
Parental consanguinity				
Yes	16 (7.8%)	5 (4.8%)	$p=0.328^a$ $p=0.473^b$	0.60 (0.21-1.69)
No	190 (92.2%)	99 (95.2%)		
NSCL±P* in first-degree relatives				
Yes	5 (2.4%)	2 (1.9%)	$p=0.787^a$ $p=1.000^b$	0.79 (0.15-4.17)
No	205 (97.6%)	103 (98.1%)		
Tooth agenesis				
Yes	2 (1.0%)	2 (2.0%)	$p=0.464^a$ $p=0.600^b$	2.06 (0.29-14.85)
No	202 (99.0%)	98 (98.0%)		

*Abbreviations: CI: confidence interval; NSCL±P: Nonsyndromic cleft lip with or without cleft palate.

^aChi-square test; ^bFisher's exact test.

1 REFERENCES

- 2 Altmann, A. E., Halliday, J. L., & Giles, G. G. (1998). Associations between congenital
3 malformations and childhood cancer. A register-based case-control study. *Br J*
4 *Cancer*, *78*(9), 1244-1249. doi:10.1038/bjc.1998.662
- 5 Andrade Filho, P. A., Letra, A., Cramer, A., Prasad, J. L., Garlet, G. P., Vieira, A. R., . . .
6 Menezes, R. (2011). Insights from studies with oral cleft genes suggest associations
7 between WNT-pathway genes and risk of oral cancer. *J Dent Res*, *90*(6), 740-746.
8 doi:10.1177/0022034511401622
- 9 Beard, C., Purvis, R., Winship, I. M., Macrae, F. A., & Buchanan, D. D. (2019). Phenotypic
10 confirmation of oligodontia, colorectal polyposis and cancer in a family carrying an
11 exon 7 nonsense variant in the AXIN2 gene. *Fam Cancer*, *18*(3), 311-315.
12 doi:10.1007/s10689-019-00120-0
- 13 Benusiglio, P. R., Caron, O., Consolino, E., Duvillard, P., Coulet, F., Blayau, M., & Malka,
14 D. (2013). Cleft lip, cleft palate, hereditary diffuse gastric cancer and germline
15 mutations in CDH1. *Int J Cancer*, *132*(10), 2470. doi:10.1002/ijc.27923
- 16 Bille, C., Winther, J. F., Bautz, A., Murray, J. C., Olsen, J., & Christensen, K. (2005). Cancer
17 risk in persons with oral cleft--a population-based study of 8,093 cases. *Am J*
18 *Epidemiol*, *161*(11), 1047-1055. doi:10.1093/aje/kwi132
- 19 Bjorge, T., Cnattingius, S., Lie, R. T., Tretli, S., & Engeland, A. (2008). Cancer risk in
20 children with birth defects and in their families: a population based cohort study of 5.2
21 million children from Norway and Sweden. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*,
22 *17*(3), 500-506. doi:10.1158/1055-9965.EPI-07-2630
- 23 Bonds, J., Pollan-White, S., Xiang, L., Mues, G., & D'Souza, R. (2014). Is there a link
24 between ovarian cancer and tooth agenesis? *Eur J Med Genet*, *57*(5), 235-239.
25 doi:10.1016/j.ejmg.2014.02.013
- 26 Botto LD, Flood T, Little J, Fluchel MN, Krikov S, & al., e. (2013). Cancer Risk in Children
27 and Adolescents with Birth Defects: A Population-Based Cohort Study. *PLoS One*, *8*.
28 doi:10.1371/journal.pone.0069077.t001
- 29 Bray, F., Ferlay, J., Soerjomataram, I., Siegel, R. L., Torre, L. A., & Jemal, A. (2018). Global
30 cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide
31 for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin*, *68*(6), 394-424.
32 doi:10.3322/caac.21492
- 33 Bui, A. H., Ayub, A., Ahmed, M. K., Taioli, E., & Taub, P. J. (2018). Association Between
34 Cleft Lip and/or Cleft Palate and Family History of Cancer: A Case-Control Study.
35 *Ann Plast Surg*, *80*(4 Suppl 4), S178-S181. doi:10.1097/SAP.0000000000001331
- 36 Callahan, N., Modesto, A., Meira, R., Seymen, F., Patir, A., & Vieira, A. R. (2009). Axis
37 inhibition protein 2 (AXIN2) polymorphisms and tooth agenesis. *Arch Oral Biol*,
38 *54*(1), 45-49. doi:10.1016/j.archoralbio.2008.08.002
- 39 Cardoso, M. L., Bezerra, J. F., Oliveira, G. H., Soares, C. D., Oliveira, S. R., de Souza, K. S.,
40 . . . Rezende, A. A. (2013). MSX1 gene polymorphisms in non-syndromic cleft lip
41 and/or palate. *Oral Dis*, *19*(5), 507-512. doi:10.1111/odi.12033
- 42 Chalothorn, L. A., Beeman, C. S., Ebersole, J. L., Kluemper, G. T., Hicks, E. P., Kryscio, R.
43 J., . . . Modesitt, S. C. (2008). Hypodontia as a risk marker for epithelial ovarian
44 cancer: a case-controlled study. *J Am Dent Assoc*, *139*(2), 163-169.
45 doi:10.14219/jada.archive.2008.0132
- 46 Chiquet, B. T., Blanton, S. H., Burt, A., Ma, D., Stal, S., Mulliken, J. B., & Hecht, J. T.
47 (2008). Variation in WNT genes is associated with non-syndromic cleft lip with or
48 without cleft palate. *Hum Mol Genet*, *17*(14), 2212-2218. doi:10.1093/hmg/ddn121

- 1 DATASUS. (2018). População Residente - Estudo de estimativas populacionais por
2 Município, Idade e Sexo 2000-2019 - Brasil. Retrieved from
3 <http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/deftohtm.exe?popsvs/cnv/popbr.def>
- 4 De Alvarenga Diniz Fonseca, C., Reis Barbosa Martelli, D., Freitas Almeida, I. L., Hassen
5 Sales, G., Soares de Andrade, R., Oliveira Dias, V., . . . Martelli Júnior, H. (2019).
6 Absence of history of oral cleft in first-degree relatives of patients with prostate
7 cancer. *Dentistry 3000*, 7(1). doi:10.5195/d3000.2019.88
- 8 de Freitas, E. M., Machado, R. A., de Moura Santos, E., de Matos, F. R., Galvao, H. C.,
9 Miranda Soares, P. B., . . . Martelli-Junior, H. (2019). Polymorphisms associated with
10 oral clefts as potential susceptibility markers for oral and breast cancer. *Arch Oral*
11 *Biol*, 99, 9-14. doi:10.1016/j.archoralbio.2018.12.004
- 12 Dietz, A., Pedersen, D. A., Jacobsen, R., Wehby, G. L., Murray, J. C., & Christensen, K.
13 (2012). Risk of breast cancer in families with cleft lip and palate. *Ann Epidemiol*,
14 22(1), 37-42. doi:10.1016/j.annepidem.2011.09.003
- 15 Fekonja, A., Cretnik, A., & Takac, I. (2014). Hypodontia prevalence and pattern in women
16 with epithelial ovarian cancer. *Angle Orthod*, 84(5), 810-814. doi:10.2319/112813-
17 876.1
- 18 Fekonja, A., Cretnik, A., Zerdoner, D., & Takac, I. (2015). Hypodontia phenotype in patients
19 with epithelial ovarian cancer. *Radiol Oncol*, 49(1), 65-70. doi:10.2478/raon-2014-
20 0034
- 21 Frebourg, T., Oliveira, C., Hochain, P., Karam, R., Manouvrier, S., Graziadio, C., . . . Seruca,
22 R. (2006). Cleft lip/palate and CDH1/E-cadherin mutations in families with hereditary
23 diffuse gastric cancer. *J Med Genet*, 43(2), 138-142. doi:10.1136/jmg.2005.031385
- 24 Goncalves, E., Martelli, D. R., Coletta, R. D., Vieira, A. R., Caldeira, A. P., & Martelli, H., Jr.
25 (2014). Risk of leukemia in first degree relatives of patients with nonsyndromic cleft
26 lip and palate. *Braz Oral Res*, 28, 1-3. doi:10.1590/1807-3107bor-2014.vol28.0056
- 27 Guan, Y., Yao, H., Zheng, Z., Qiu, G., & Sun, K. (2011). MiR-125b targets BCL3 and
28 suppresses ovarian cancer proliferation. *Int J Cancer*, 128(10), 2274-2283.
29 doi:10.1002/ijc.25575
- 30 Harville, E. W., Wilcox, A. J., Lie, R. T., Vindenes, H., & Abyholm, F. (2005). Cleft lip and
31 palate versus cleft lip only: are they distinct defects? *Am J Epidemiol*, 162(5), 448-
32 453. doi:10.1093/aje/kwi214
- 33 Hlouskova, A., Bielik, P., Bonczek, O., Balcar, V. J., & Sery, O. (2017). Mutations in AXIN2
34 gene as a risk factor for tooth agenesis and cancer: A review. *Neuro Endocrinol Lett*,
35 38(3), 131-137.
- 36 IBGE. (2016). *Síntese de indicadores sociais: uma análise das condições de vida da*
37 *população brasileira, 2016*. Rio de Janeiro: Instituto Brasileiro de Geografia e
38 Estatística (IBGE).
- 39 INCA. (2017). *Estimativa 2018: incidência de câncer no Brasil*. Rio de Janeiro: Ministério da
40 Saúde. Instituto Nacional de Câncer José de Alencar Gomes da Silva (INCA).
41 Coordenação de Prevenção e Vigilância.
- 42 Jemal, A., Torre, L., Soerjomataram, I., & Bray, F. (2019). *THE CANCER ATLAS* (Third
43 Edition ed.). Atlanta: American Cancer Society.
- 44 Jiang, B., Zhu, K., Shao, H., Bao, C., Ou, J., & Sun, W. (2015). Lack of association between
45 the CDH1 polymorphism and gastric cancer susceptibility: a meta-analysis. *Sci Rep*, 5,
46 7891. doi:10.1038/srep07891
- 47 Jindal, A., & Vieira, A. R. (2012). Family history of cleft lip and palate in subjects diagnosed
48 with leukemia. *Am J Med Genet A*, 158A(3), 678-679. doi:10.1002/ajmg.a.34430

- 1 Kuchler, E. C., Lips, A., Tannure, P. N., Ho, B., Costa, M. C., Granjeiro, J. M., & Vieira, A.
2 R. (2013). Tooth agenesis association with self-reported family history of cancer. *J*
3 *Dent Res*, *92*(2), 149-155. doi:10.1177/0022034512468750
- 4 Lammi, L., Arte, S., Somer, M., Jarvinen, H., Lahermo, P., Thesleff, I., . . . Nieminen, P.
5 (2004). Mutations in AXIN2 cause familial tooth agenesis and predispose to colorectal
6 cancer. *Am J Hum Genet*, *74*(5), 1043-1050. doi:10.1086/386293
- 7 Leite, T. K., Fonseca, R. M., de Franca, N. M., Parra, E. J., & Pereira, R. W. (2011). Genomic
8 ancestry, self-reported "color" and quantitative measures of skin pigmentation in
9 Brazilian admixed siblings. *PLoS One*, *6*(11), e27162.
10 doi:10.1371/journal.pone.0027162
- 11 Leslie, E. J., & Marazita, M. L. (2013). Genetics of cleft lip and cleft palate. *Am J Med Genet*
12 *C Semin Med Genet*, *163C*(4), 246-258. doi:10.1002/ajmg.c.31381
- 13 Letra, A., Menezes, R., Granjeiro, J. M., & Vieira, A. R. (2009). AXIN2 and CDH1
14 polymorphisms, tooth agenesis, and oral clefts. *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol*,
15 *85*(2), 169-173. doi:10.1002/bdra.20489
- 16 Li, S., Wang, C., Liu, X., Hua, S., & Liu, X. (2015). The roles of AXIN2 in tumorigenesis
17 and epigenetic regulation. *Fam Cancer*, *14*(2), 325-331. doi:10.1007/s10689-014-
18 9775-7
- 19 Lima, L. S., Silverio Mde, O., Swerts, M. S., Aquino, S. N., Martelli, D. R., & Martelli-
20 Junior, H. (2013). Frequency of cancer in first-degree relatives of patients with cleft
21 lip and/or palate in the Brazilian population. *Braz Dent J*, *24*(3), 200-203.
22 doi:10.1590/0103-6440201302191
- 23 Lindor, N. M., Win, A. K., Gallinger, S., Daftary, D., Thibodeau, S. N., Silva, R., & Letra, A.
24 (2014). Colorectal cancer and self-reported tooth agenesis. *Hered Cancer Clin Pract*,
25 *12*(1), 7. doi:10.1186/1897-4287-12-7
- 26 Machado, R. A., de Freitas, E. M., de Aquino, S. N., Martelli, D. R., Swerts, M. S., Reis, S.
27 R., . . . Martelli-Junior, H. (2017). Clinical relevance of breast and gastric cancer-
28 associated polymorphisms as potential susceptibility markers for oral clefts in the
29 Brazilian population. *BMC Med Genet*, *18*(1), 39. doi:10.1186/s12881-017-0390-y
- 30 Martelli, D. R., Vieira, A. R., Fonseca, A. T., Coletta, R. D., Soares, P. B., & Martelli-Junior,
31 H. (2014). Risk of nonsyndromic cleft lip and palate in relatives of women with breast
32 cancer. *Am J Med Genet A*, *164A*(1), 270-271. doi:10.1002/ajmg.a.36186
- 33 Menezes, R., Marazita, M. L., Goldstein McHenry, T., Cooper, M. E., Bardi, K., Brandon, C.,
34 . . . Vieira, A. R. (2009). AXIS inhibition protein 2, orofacial clefts and a family
35 history of cancer. *J Am Dent Assoc*, *140*(1), 80-84.
36 doi:10.14219/jada.archive.2009.0022
- 37 Mitchell, L. E., Beaty, T. H., Lidral, A. C., Munger, R. G., Murray, J. C., Saal, H. M., . . .
38 International Consortium for Oral Clefts, G. (2002). Guidelines for the design and
39 analysis of studies on nonsyndromic cleft lip and cleft palate in humans: summary
40 report from a Workshop of the International Consortium for Oral Clefts Genetics.
41 *Cleft Palate Craniofac J*, *39*(1), 93-100. doi:10.1597/1545-
42 1569_2002_039_0093_gftdaa_2.0.co_2
- 43 Park, K., Kim, K., Rho, S. B., Choi, K., Kim, D., Oh, S. H., . . . Lee, J. H. (2005). Homeobox
44 Mx1 interacts with p53 tumor suppressor and inhibits tumor growth by inducing
45 apoptosis. *Cancer Res*, *65*(3), 749-757.
- 46 Popoff, D. A. V., Coelho, M. P., Martelli, D. R. B., Saini, R., Coletta, R. D., & Martelli-
47 Júnior, H. (2013). Non-syndromic oral clefts and risk of cancer: a systematic review.
48 *Dentistry 3000*, *1*(1), 12-18. doi:10.5195/d3000.2013.11

- 1 Sagorny, K., Chapellier, M., Laperrousaz, B., & Maguer-Satta, V. (2012). [BMP and cancer:
2 the Yin and Yang of stem cells]. *Med Sci (Paris)*, 28(4), 416-422.
3 doi:10.1051/medsci/2012284020
- 4 Selvanathan, A., Nixon, C. Y., Zhu, Y., Scietti, L., Forneris, F., Uribe, L. M. M., . . . Roscioli,
5 T. (2020). CDH1 Mutation Distribution and Type Suggests Genetic Differences
6 between the Etiology of Orofacial Clefting and Gastric Cancer. *Genes (Basel)*, 11(4).
7 doi:10.3390/genes11040391
- 8 Song, Y., & Zhang, S. (2011). Association of CDH1 promoter polymorphism and the risk of
9 non-syndromic orofacial clefts in a Chinese Han population. *Arch Oral Biol*, 56(1),
10 68-72. doi:10.1016/j.archoralbio.2010.08.019
- 11 Stanier, P., & Moore, G. E. (2004). Genetics of cleft lip and palate: syndromic genes
12 contribute to the incidence of non-syndromic clefts. *Hum Mol Genet*, 13 Spec No
13 1(90001), R73-81. doi:10.1093/hmg/ddh052
- 14 Steinwachs, E. F., Amos, C., Johnston, D., Mulliken, J., Stal, S., & Hecht, J. T. (2000).
15 Nonsyndromic cleft lip and palate is not associated with cancer or other birth defects.
16 *Am J Med Genet*, 90(1), 17-24. doi:10.1002/(sici)1096-8628(20000103)90:1<17::aid-
17 ajmg4>3.0.co;2-9
- 18 Taioli, E., Ragin, C., Robertson, L., Linkov, F., Thurman, N. E., & Vieira, A. R. (2010). Cleft
19 lip and palate in family members of cancer survivors. *Cancer Invest*, 28(9), 958-962.
20 doi:10.3109/07357907.2010.483510
- 21 van der Post, R. S., Vogelaar, I. P., Carneiro, F., Guilford, P., Huntsman, D., Hoogerbrugge,
22 N., . . . Fitzgerald, R. C. (2015). Hereditary diffuse gastric cancer: updated clinical
23 guidelines with an emphasis on germline CDH1 mutation carriers. *J Med Genet*,
24 52(6), 361-374. doi:10.1136/jmedgenet-2015-103094
- 25 Vieira, A. R., Khaliq, S., & Lace, B. (2012). Risk of cancer in relatives of children born with
26 isolated cleft lip and palate. *Am J Med Genet A*, 158A(6), 1503-1504.
27 doi:10.1002/ajmg.a.35359
- 28 Wang, H., Qiu, T., Shi, J., Liang, J., Wang, Y., Quan, L., . . . Tao, K. (2016). Gene expression
29 profiling analysis contributes to understanding the association between non-syndromic
30 cleft lip and palate, and cancer. *Mol Med Rep*, 13(3), 2110-2116.
31 doi:10.3892/mmr.2016.4802
- 32 Wang, S. H., Li, N., Wei, Y., Li, Q. R., & Yu, Z. P. (2014). beta-catenin deacetylation is
33 essential for WNT-induced proliferation of breast cancer cells. *Mol Med Rep*, 9(3),
34 973-978. doi:10.3892/mmr.2014.1889
- 35 Wang, X., Goode, E. L., Fredericksen, Z. S., Vierkant, R. A., Pankratz, V. S., Liu-Mares, W.,
36 . . . Couch, F. J. (2008). Association of genetic variation in genes implicated in the
37 beta-catenin destruction complex with risk of breast cancer. *Cancer Epidemiol*
38 *Biomarkers Prev*, 17(8), 2101-2108. doi:10.1158/1055-9965.EPI-08-0134
- 39 Williams, M. A., Biguetti, C., Romero-Bustillos, M., Maheshwari, K., Dinckan, N., Cavalla,
40 F., . . . Letra, A. (2018). Colorectal Cancer-Associated Genes Are Associated with
41 Tooth Agenesis and May Have a Role in Tooth Development. *Sci Rep*, 8(1), 2979.
42 doi:10.1038/s41598-018-21368-z
- 43 Yin, W., & Bian, Z. (2015). The Gene Network Underlying Hypodontia. *J Dent Res*, 94(7),
44 878-885. doi:10.1177/0022034515583999
- 45 Zhu, J. L., Basso, O., Hasle, H., Winther, J. F., Olsen, J. H., & Olsen, J. (2002). Do parents of
46 children with congenital malformations have a higher cancer risk? A nationwide study
47 in Denmark. *Br J Cancer*, 87(5), 524-528. doi:10.1038/sj.bjc.6600488

5.3 ARTIGO CIENTÍFICO 3 – Periódico científico: *Clinics*

CLINICS



**DIGITAL BIOMARKER 2D:4D AS A PREDICTOR OF CANCER: A
SYSTEMATIC REVIEW**

Journal:	CLINICS
Manuscript ID	Draft
Manuscript Type:	Review Article
Date Submitted by the Author:	n/a
Complete List of Authors:	Fonseca, Claudia; Universidade Estadual de Montes Claros, CLÍNICA MÉDICA - MEDICINA Martelli, Daniella; Unimontes CCBS, Odontologia Maia, Célia Márcia Fernandes; UNIMONTES Carvalho, Adriana Amaral; Unimontes CCBS, Pediatria Dias, Verônica; Unimontes CCBS, Odontologia Martelli-Júnior, Hercilio; Unimontes CCBS, Odontologia
Manuscript Subject Area:	Cancer
Keyword - Click here to find your MeSH terms.:	Digit ratio, Cancer, Systematic review

SCHOLARONE™
Manuscripts

<https://mc04.manuscriptcentral.com/clinics-scielo>

1 **DIGITAL BIOMARKER 2D:4D AS A PREDICTOR OF CANCER: A SYSTEMATIC**
2 **REVIEW**

3 **Running title:** 2D:4D as a predictor of cancer.

4
5 **Cláudia de Alvarenga Diniz Fonseca**^{1,2}<https://orcid.org/0000-0001-9523-6830>, **Daniella**
6 **Reis Barbosa Martelli**³<https://orcid.org/0000-0002-3979-7497>, **Célia Márcia Fernandes**
7 **Maia**¹<https://orcid.org/0000-0001-6094-815X>, **Verônica** **Oliveira**
8 **Dias**³<https://orcid.org/0000-0003-1989-7797>, **Adriana** **Amaral**
9 **Carvalho**^{1,2}<https://orcid.org/0000-0003-4733-6209>, **Hercílio** **Martelli**
10 **Júnior**^{1,3,4}<https://orcid.org/0000-0001-9691-2802>

11
12 ¹Health Science Program, State University of Montes Claros, Unimontes, Minas Gerais,
13 Brazil.

14 ²Medicine School, State University of Montes Claros, Montes Claros, Minas Gerais, Brazil.

15 ³Dental School, State University of Montes Claros, Montes Claros, Minas Gerais, Brazil.

16 ⁴Center for Rehabilitation of Craniofacial Anomalies, University of José Rosario Vellano,
17 Alfenas, Minas Gerais, Brazil.

18
19 **Corresponding Author:** Cláudia de Alvarenga Diniz Fonseca

20 **Mailing address:**

21 Department of Clinical Medicine, Center of Biological and Health Sciences, State University
22 of Montes Claros - Unimontes

23 Av. Prof. Rui Braga, s/n - Vila Mauriceia, Montes Claros

24 Minas Gerais, Brazil, CEP 39408-354.

25 **Telephone:** +55 (38) 32298282

26 **E-mail:** claudia.fonseca@unimontes.br

27 **Collaborative authorship:** Conception and design (Cláudia de Alvarenga Diniz Fonseca);
28 Data acquisition (Célia Márcia Fernandes Maia; Adriana Amaral Carvalho); Data
29 management (Cláudia de Alvarenga Diniz Fonseca); Drafting manuscript (Cláudia de
30 Alvarenga Diniz Fonseca); Supervision (Daniella Reis Barbosa Martelli; Verônica Oliveira
31 Dias); Manuscript revision (Hercílio Martelli Júnior).

32

33

1 **ABSTRACT**

2 The digital ratio, defined as the ratio between the lengths of the second digit (index finger)
3 and the fourth digit (ring) of the hands, and known as 2D:4D varies by gender. This
4 biomarker is known as being influenced by the exposure of sex hormones. A low 2D:4D
5 indicates high exposure to prenatal testosterone and low estrogen exposure while a high
6 2D:4D indicates the inverse. It has been established that 2D:4D may be predictive of cancer
7 susceptibility, and this may be particularly true in cancers that show differences between
8 sexes in their occurrence. This study aimed to conduct a systematic review of published
9 epidemiological literature examining the association between 2D:4D and cancer. We enrolled
10 21 articles involving nine cancer topographies with 4,573 cases and 19,227 participants from
11 Europe, America, Asia and Australia. Results with a positive association between cancer and
12 2D:4D were observed in most studies (76.19%). Five of the twenty-one studies did not
13 demonstrate any association. This systematic review provides evidence that strengthens the
14 association of 2D:4D as a biomarker associated with various types of cancer, mainly with
15 breast, prostate, and stomach cancers. However, considering the wide variation in the
16 methodology used in the studies, whether in the design, data processing, different origins or
17 techniques of measurement, this review shows the need for a larger number of
18 epidemiological studies using more homogeneous methodology and techniques to better
19 investigate the strength of the findings.

20

21

22 **Keywords:** Digit ratio. Cancer. Systematic review.

23

24

25

26

27

28

29

30

31

1 **Introduction**

2 The digital ratio, defined as the ratio between the lengths of the second digit (index
3 finger) and the fourth digit (ring) of the hands, and known as 2D:4D varies by gender. Men
4 tend to have the fourth digit (4D) longer than the second digit (2D), low 2D:4D, in
5 comparison to women (high 2D:4D) (1, 2). The 2D:4D attracted little attention until 1998,
6 when it was suggested that a balance between fetal testosterone and estrogen would influence
7 2D:4D, such that a low 2D:4D would indicate a high exposure to prenatal testosterone (PT)
8 and low prenatal estrogen (PE) exposure, and a high 2D:4D would indicate the inverse, low
9 PT and high PE exposures (2).

10 A review carried out in 2014 highlights three fronts of studies on 2D:4D:
11 psychological traits, body performance and susceptibility to diseases in adult life. It has been
12 established that 2D:4D may be predictive of cancer susceptibility, especially in cancers that
13 show differences between sexes in their occurrence, progression and/or prognosis (3). Studies
14 began focusing on the relationship between PT/PE exposures and susceptibility to prostate,
15 breast and gastric cancers (4-6).

16 Cancer is a multifactorial disease in which genetic and environmental influences play
17 a significant role. Preventive plans to decrease the incidence of cancer include both the
18 removal of environmental agents known as carcinogenic and the identification of
19 polymorphism of the gene susceptible to cancer or mutations (7). Such disease is a major
20 public health problem worldwide, especially in developing countries. It is expected that in the
21 coming decades, the global burden of cancer is set to increase by more than 60% by 2040,
22 from 18.1 million new cases in 2018 to a predicted 29.4 million cases in 2040 (8). In Brazil,
23 the estimate for each year of the 2020-2022 triennium points out that 625,000 new cases of
24 cancer will occur, with approximately 300,000 cases affecting women (9). The
25 epidemiological profile observed in this country resembles that of Latin America and the
26 Caribbean, where prostate cancer in men and breast cancer in women will be the most
27 frequent (10).

28 When the magnitude of cancer in a worldwide scale is considered, the relative scarcity
29 of studies to date and their still conflicting results in the analysis between 2D:4D and cancer
30 reinforce the need to corroborate this type of association. This study aimed to analyze and
31 discuss such issue through a systematic review of literature in order to provide additional
32 evidence to elucidate whether 2D:4D can be considered a predictive biomarker for the risk of
33 cancer.

1 **Materials and Methods**

2 This review was carried out according to criteria recommended for the systematic
3 review of Statement PRISMA (11), including search strategy in literature, selection of
4 references through eligibility criteria, data extraction process and quality assessment. Meta-
5 analysis was not possible since the selected studies had not observed the same variables,
6 methodologies, characteristics of participants and outcomes, what made statistical
7 comparisons impossible.

8 **Literature search**

9 This review was carried out between September 2019 and May 2020 in order to obtain
10 references on cancer and its association with 2D:4D. We performed a systematized search on
11 the Web of Science, PubMed and Scopus databases by using the descriptors "2D 4D" AND
12 "cancer OR neoplasm"; "digit ratio" AND "neoplasm OR cancer"; "finger-length" AND
13 "cancer OR neoplasm"; "2D 4D ratio" AND "cancer OR neoplasm" in the titles and/or
14 abstracts for studies published until the limit date in the English language.

15 **Inclusion and exclusion criteria**

16 The selection of scientific articles is summarized in Figure 1. Ninety-five studies were
17 originally found through the literature search strategy, and six additional citations were
18 identified from the references of potential retrieved studies. Seventy-five out of one hundred
19 and one scientific articles were excluded for several reasons (without risk assessment,
20 duplication at the bases, absence of relation with the proposed theme, unavailability of the full
21 texts, or because they were comments or expanded abstracts). All remaining studies were
22 selected to evaluate the risk of cancer associated with 2D:4D.

23 The specific inclusion criteria used to identify relevant articles were: (i) index cases
24 with any type of cancer and with 2D:4D; (ii) index cases compared to clinically healthy
25 controls for the assessed risk; and (iii) epidemiological studies with designs that allow
26 comparative analysis between index cases and controls (case-control or cohort studies). All
27 studies that included individuals with 2D:4D associated with other abnormalities were
28 excluded. Thus, twenty-six studies were selected for their full reading (Figure 1).

29 **Data extraction**

30 Screening by means of titles and abstracts was performed by two reviewers who worked
31 independently to identify potentially relevant studies and retrieve complete articles (CF and
32 HMJ). When there was discrepancy of opinion, the reviewers assessed the articles together for
33 a consensus. A standardized spreadsheet was used to file data by considering author/year, the

1 origin of the participants, ethnicity, study design, sample size, type of cancer, instrument used
2 for digit measurement, laterality (right and/or left hand) and type of measurement (2D:4D –
3 the ratio of the lengths of the index and ring fingers; Δ DE – delta index, i.e. right 2D:4D
4 (R2D:4D) minus left 2D:4D (L2D:4D), and D2-D4 – index finger length minus ring finger
5 length) and the association between cancer and 2D:4D (Table 1).

6 **Study quality**

7 The methodology of STROBE (Strengthening the Reporting of Observational Studies
8 in Epidemiology) (12), considered a guideline for evaluation of the criteria required in
9 observational studies, was used to direct the presence of these requirements in cohort and
10 case-control studies. By using the STROBE specific methodology for the design of the study,
11 the following items were considered: inclusion and exclusion criteria, exposure and outcome
12 assessment, statistical methods, control of confounding factors and bias, and limitation of
13 studies.

15 **Results**

16 The initial search on the scientific basis identified ninety-five citations published to
17 date (May 2020), in addition to other six ones from references used in potential retrieved
18 studies. After the screening through titles and abstracts, twenty-eight citations were excluded
19 due to duplicity in scientific basis, thirty-four for having no relation to the central theme
20 proposed, six for being comments or expanded abstracts, six for not assessing the risk, and
21 one due to unavailability of its full text, remaining 26 papers. After this screening, the twenty-
22 six selected scientific articles were read in full. Then, five other ones were excluded for not
23 fulfilling the eligibility criteria of this review and/or not allowing an association assessment of
24 2D:4D with the presence or absence of cancer. Eventually, twenty-one papers (5, 6, 13-31)
25 were selected for the systematic review and meta-analysis involving several topographies of
26 cancer.

27 The main characteristics of the 21 selected scientific papers are presented in Table 1.
28 Sixteen studies were case-control and five were cohorts. Several topographies of cancer were
29 involved in the analysis of its association with 2D:4D, most of them involving prostate (6/21),
30 followed by breast (4/21), stomach (4/21), testis (2/21), oral tract (1/21), cervical
31 intraepithelial neoplasia – CIN (1/21), colorectal (1/21), cerebral (1/21) and acute
32 lymphoblastic leukemia (1/21). The size of the samples and the investigated population varied
33 considerably in the studies carried out in Brazil (8/21), China (3/21), Australia and United

1 Kingdom (two in each), and Spain, England, Korea, France, Lithuania and in the U.S (one in
2 each).

3 As for the methods used to measure the length of the 2D and 4D, there were
4 differences in the techniques and types of instruments used. The digital caliper was the most
5 used in direct digital measurements (10/21), followed by indirect measurements through
6 digital photography (7/21), hand-scanners, and self-identification through the use of figures of
7 the hands in varying sizes. The 2D:4D measurements were taken in both hands in 15
8 studies while eleven of them also added the $\Delta D-E$. Five studies evaluated exclusively the
9 R2D:4D (14, 15, 17, 22, 27), and only one assessed exclusively the L2D:4D (16).

10 We noticed variations and discrepancies in the results of the association between
11 2D:4D and cancer among the studies, either in those that had evaluated the same or different
12 types of cancer, or in the same or distinct lateralities. Results with a positive association
13 between cancer and 2D:4D were observed in most studies (76.19%). Five out of the 21
14 studies did not demonstrate any association with 2D:4D and the type of cancer studied (13,
15 17, 22, 23, 31).

16 In the studies involving the population of patients with prostate cancer, a low R2D:4D
17 was recognized as a predictor of cancer in three of the six papers (14, 15, 18), while a low
18 L2D:4D was found in only one study (18). In disagreement with these results Garcia-Cruz *et al*
19 *al* attributed the inverse, i.e. a low L2D:4D as protective for the risk of prostate cancer in
20 Caucasian men (16). Other two studies by Muller *et al.* (13) and Salomão *et al.* (17) found no
21 statistically significant association between prostate cancer and 2D:4D, in both lateralities in
22 the first case, and exclusively on the right side in the second one. However, the study by
23 Muller *et al.* (2011) did not exclude the possibility that a high 2D:4D is associated with a
24 lower risk of early-onset prostate cancer (13).

25 In the evaluation of 2D:4D and breast cancer, there was a direct association of the
26 L2D:4D in all four studies (5, 19-21). Manning and Leinster (19), Hong *et al.* (21) and
27 Mendes *et al.* (5) described the same type of association also in R2D:4D, in disagreement
28 with the lack of an association in this laterality observed by Muller *et al.* (20). In the latter
29 there was an inverse association with $\Delta D-E$, which also diverged from the result demonstrated
30 by Hong *et al.*, in 2014 (21).

31 The studies approaching gastric cancer were performed in Brazil and China. The study
32 developed in Brazil by Hopp *et al.* (2013) (6) demonstrated a statistical significance of a high
33 L2D:4D and in a low $\Delta D-E$, particularly in male cancer patients when compared to the
34 controls. There was no statistical difference in R2D:4D between the groups. Differently the

1 other Brazilian study, published in 2017 (25), showed a statistical significance only for the
2 high R2D:4D and Δ D-E, especially in women. There was no association between the groups
3 with the L2D:4D.

4 The results of the two Chinese studies, Sheng (2016) (24) and Wang (2018) (26), are
5 in discordance with the Brazilian studies because the digital ratios in both hands were
6 significantly lower for gastric cancer patients when compared to healthy controls both in the
7 first study, with male sample, and in the second one, with a female sample. In addition, both
8 studies do not demonstrate statistical significance for Δ D-E.

9 The studies involving cervical cancer (subgroups CIN1 and CIN2/3) (29), oral cancer
10 (27) and colorectal cancer (28) show a positive association with a high R2D:4D. As for the
11 L2D:4D, there was a direct association for colorectal cancer and cervical cancer (only in
12 CIN1 subgroup). The study of cervical cancer used combined data from both hands in one of
13 its analyzes, confirming the positive association of this type of cancer with a high 2D:4D. The
14 study on brain cancer showed a positive association with a low 2D:4D in both lateralities (30).
15 Brain and colorectal cancers shows no association with Δ D-E, as shown in Table 1.

16 Among the other types of cancer that have not shown any association with 2D:4D are
17 acute lymphoblastic leukemia and testicular cancer in both lateralities (23, 31). Another study
18 approaching testicular cancer also shows no association with R2D:4D (22). All 21 studies
19 were submitted to the evaluation of the criteria established in the STROBE (12) checklist.
20 Among the requirements, it is observed that all studies have well-defined inclusion criteria,
21 though seven of them did not present exclusion criteria, as described in Table 2.

22

23 Discussion

24 This systematic review evaluated studies available in the literature that associate 2D:4D with
25 cancer. This biomarker is known as being influenced by the exposure to sex hormones,
26 especially PT and PE during intrauterine life. The studies that evaluate this risk involve types
27 of cancer that have some association with hormonal influence in its ethiopathogeny, justifying
28 the predominance of prostate and breast cancers, among others, in nine oncological
29 topographies studied.

30 We initially sought to conduct a meta-analysis of scientific papers that evaluate such
31 association. However, due to the small number of studies involving the same type of cancer,
32 the variation regarding the adopted body laterality and the diversity of techniques used to

1 measure 2D:4D, we thought wise not to group them for statistical analysis. Thus, we
2 proceeded with the systematic review by type of cancer involved in risk assessment.

3 Despite the diversity of studies, it is worth mentioning that a recent meta-analysis (32)
4 was published on the subject. It is highlighted that two types of cancer were chosen for the
5 statistical grouping, and for each of them only two studies. In the analyses there was a high
6 heterogeneity, $I^2=61$ and 95% in R2D:4D and L2D:4D, respectively, involving gastric cancer;
7 and $I^2=75\%$ in testicular cancer (32). It is observed that the authors had disregarded the
8 difference in the measurement technique in the two studies involving testicular cancer, since
9 one of them used the direct measurement (22), and the other the indirect one (self-
10 identification) (23). When comparing direct to indirect measurement methods, there is a trend
11 of a lower 2D:4D in samples measured by the latter, as observed in one meta-analysis (1) and
12 also in other studies (33, 34). The two studies on gastric cancer also had considerable
13 methodological differences, since the Chinese study involved only men (24), whereas the
14 Brazilian study involved both men and women (6), in addition to being samples of a
15 population with quite different ethnicities. Thus, we emphasize that digital ratios obtained by
16 different measurement methods, as well as from samples of population with distinct
17 ethnicities should not be combined in one single study, nor should they be used together in
18 comparative studies.

19 *Prostate cancer*

20 Ten studies aiming to verify the association of 2D:4D with the risk of prostate cancer
21 were available, and six of them were elected to this review (13-18). The four excluded studies
22 (35-38) did not meet the criteria required by the design of this review, including two
23 American researches that evaluate 2D:4D in specific groups of Afroamericans in relation to
24 Caucasians (36, 38). Another study was excluded (35) because it was considered to be part of
25 the same cohort published by the Korean researchers and initially chosen for this systematic
26 review (15).

27 Among the six eligible studies, most results show an association between 2D:4D and
28 prostate cancer. However, their results do not point to the same direction and are conflicting
29 regarding laterality and protective or predictive effect of 2D:4D for cancer.

30 It is noteworthy that the Spanish study (16) was the only publication to date that
31 demonstrates a protective effect of a low L2D:4D for prostate cancer. The authors do not
32 report in their study the reasons for choosing the L2D:4D, neither considered that the R2D:4D
33 may be a better prenatal androgenization indicator than the L2D:4D, as seen in a meta-
34 analysis on the issue (39). It has been suggested that the R2D:4D predicts the activity of the

1 androgen receptor gene (*AR*). It is well known that testosterone and *AR* play crucial roles in
2 both prostate growth and prostate cancer progression. Despite the controversy and criticism
3 (40), it was postulated that R2D:4D is positively correlated to the number of CAG repeats in
4 the *AR* gene, and individuals with low a 2D:4D have alleles with low number of CAG repeats
5 (41). Short CAG replications of *AR* have been reported to be associated with the pathogenesis
6 of prostate cancer (42, 43).

7 Results demonstrating a high 2D:4D as a protective effect for prostate cancer were
8 observed in studies conducted in Korea, United Kingdom, and in Brazil. The Korean study
9 (15) involving 770 men with low urinary tract symptoms sought to assess the rate of detection
10 of prostate cancer and its association with 2D:4D. It demonstrates that individuals with a
11 lower R2D:4D had an increased detection rate of prostate cancer, a high percentage of core
12 cancer volume, and a high Gleason score.

13 The United Kingdom cohort (14) involving 1,524 prostate cancer patients and 3,044
14 healthy controls also demonstrates a protective effect of a high R2D:4D. In this study, in
15 order to measure the digital length, questionnaires were sent to patients for self-identification
16 of the digital patterns by approximation with figures. It should be noted that this method is
17 quite different from the other ones published, and it presents less accuracy, although the
18 authors have justified its use due to the large sample size, what reduces the effect size.
19 Nevertheless, the lack of an objective and direct measurement leads us to interpret its
20 conclusions with caution. The meta-analysis published in 2010 suggests that the reliability of
21 the 2D:4D by self-measurement in the BBC Internet study is somewhat less than half the
22 typical reliability of the 2D:4D measure performed by specialists (39).

23 The study conducted by a Brazilian group in 2014 (17) shows results that support that
24 2D:4D does not play a predictive role for prostate cancer, in disagreement with the study
25 published in 2016 (18) that reinforces the hypothesis that a low ratio is a predictor of the
26 presence of this kind of cancer in both lateralities.

27 In the Australian group's research (13), the Melbourne Collaborative Cohort Study,
28 6,258 digital ratios based on photocopies of the hands were analyzed. In general, no
29 association was found between 2D:4D and the risk of prostate cancer. However, there was a
30 weak inverse association between 2D:4D and the earlier onset of cancer.

31 The different methods among these six studies and the different ethnic aspects of the
32 population samples involved (British, Korean, Australian, Spanish and Brazilian) may
33 partially explain the contradictory results. A significant number of studies have reported that
34 ethnic origin may affect 2D:4D (44, 45). There are some variations on 2D:4D among

1 countries with the same ethnic origin. In England, for example, 2D:4D is reported to be higher
2 than in the United States. Nevertheless, it should be considered that there are also
3 inconsistencies among studies carried out in different regions of the same country. Some
4 studies probably may be considered biased due to the influences of latitude and ethnicity in
5 2D:4D (1, 46, 47).

6 Prostate cancer is a type of multifactorial disease, and it is influenced by ethnic,
7 environmental and genetic issues. *HOX* genes regulate embryogenesis, morphogenesis and
8 cell differentiation of humans, including genitals and digits, and they have been suggested as
9 deregulated in malignant tumors (48, 49). In primary prostate cancer cells, the gene
10 expressions *HOX8* or *MSX2* are quite reduced, followed by a gradual increase in the most
11 aggressive prostate cancer cell lines (50).

12 *Testicular cancer*

13 The two studies (22, 23) on the subject found no association between testicular cancer
14 and the R2D:4D. However, as mentioned above, it is emphasized that they used quite
15 different measurement methods. In one of the studies (23), the finger length was based on
16 self-report, increasing the possibility of measurement error. A study reveals that self-reported
17 finger length, when measured directly, resulted in more extreme values compared to the photo
18 (34). In addition, the study was limited by small sample size and a low proportion of
19 responses to the follow-up questionnaire on which the analysis was based.

20 There are few established risk factors for testicular cancer such as age, race/ethnicity,
21 adult height, history of cryptorchidism, and family history of cancer. Other traits, such as birth
22 weight and testicular volume, were negatively correlated to 2D:4D by the same study,
23 pointing to other factors that may influence testicular cancer (22).

24 Considering the limited sample and type of measurement of digit size, there is a need
25 for further evaluation of the relationship between testicular cancer and prenatal hormonal
26 factors using digital ratio and $\Delta D-E$ as a reference.

27 *Breast cancer*

28 Four studies have evaluated the association of 2D:4D and the risk of breast cancer (5,
29 19-21). It should be noted that in all publications the results were statistically significant.

30 There is some evidence that, in mouse models, the sex hormones and genes involved
31 in fetal differentiation of 2D:4D may also be involved in the initiation of mammary glands.
32 During the development of 2D:4D, there are at least 19 skeletogenic genes that are activated
33 or deactivated by PT and PE (51). Among these, there are three genes (*WNTS*, *FGFS* and
34 *FGFRI*) that influence the *TBX* genes, which initiate the formation of the mammary gland

1 (52). Thus, if the fetal development of the mammary glands is linked to a predisposition to
2 adult breast cancer, 2D:4D may be an indicator of this predisposition to the disease. In
3 addition, there is some evidence that the *SOX9* gene, which is also activated or deactivated by
4 PE and PT during the development of 2D:4D (51), may be important to the onset and
5 metastasis of breast tumor (53).

6 In the analysis of the studies, we observed statistical significance in the association
7 between the L2D:4D and the risk of breast cancer in all publications and, in the right
8 laterality, in three out of four studies. The Brazilian and Chinese studies (5, 21) show that
9 women with a high L2D:4D had breast cancer at an earlier age than women with lower
10 2D:4D, consistent with Manning and Leinster (19). On the other hand, the Australian study
11 emphasizes the apparent contradiction in its results, that is, a direct association between the
12 risk and the L2D:4D, an inverse association between $\Delta D-E$, and no association between the
13 R2D:4D and the risk of breast cancer (20).

14 Some evidence to date suggests that both the R2D:4D and $\Delta D-E$ are inversely
15 associated with prenatal exposure and testosterone sensitivity, while there is only relatively
16 weak evidence of some association with the L2D:4D (39, 54). Some studies indicate that $\Delta D-$
17 E is a stronger correlate of PT exposure or sensitivity than R2D:4D (41, 55). Such evidence
18 justified the reason for the Australian study to focus its analysis on the $\Delta D-E$ and the R2D:4D.
19 Considering the uncertain role of androgens as a risk for breast cancer, the authors speculate
20 that exposure to testosterone *in utero* would increase this risk in women in adulthood. They
21 assume that this exposure to testosterone would have direct and indirect effects (conversion of
22 testosterone to estrogen by the enzyme aromatase), reflecting cumulative or critical exposure
23 to estrogens *in utero* as well as in adult life (20).

24 Taking into account these conflicting results we highlight the importance of assessing
25 both hands in this type of study, besides the control in the methodology of the ethnic
26 variation, since they influence the results. In this context, we can observe that the study based
27 on the Brazilian population was formed by an extensive mixture of three different ancestral
28 roots: Amerindians, Europeans and Africans (5).

29 *Gastric cancer*

30 Gastric cancer is more common in men, and it is generally considered to be a disease
31 caused by hormones (56, 57). To date, only four studies evaluated the relationship between
32 the risk of gastric cancer and 2D:4D, namely two Brazilian and two Chinese ones (6, 24-26).

33 The first Brazilian study (6) involved a sample of both sexes and showed no
34 association between the R2D:4D and gastric cancer. However, there was a statistically

1 significant association of a high L2D:4D and low Δ D-E in the group of patients with gastric
2 cancer, particularly in men. The two studies involving a Chinese population sample, Sheng *et*
3 *al.*, 2016 (24) and Wang *et al.*, 2018 (26), the first with an exclusively male sample and the
4 second with an exclusively female sample, demonstrate a statistically significant association
5 of a low 2D:4D in both hands in the group of patients with gastric cancer. Nevertheless, Δ D-E
6 showed no statistical difference between the groups. It is well established that the high level
7 of fetal testosterone would result in a low 2D:4D (58). Thus, the pattern of results of the
8 Brazilian study is similar to the results of the study involving risk assessment in patients with
9 breast cancer, in which the influence of PT is evidenced by a lower Δ D-E in the cancer group
10 in relation to the control (20).

11 Some studies have shown that sex hormones may play an important role in regulating
12 the growth and function of gastric epithelial tissue (56, 59). Therefore, the studies analyzing
13 the relationship between gastric cancer and 2D:4D aimed at verifying if gastric cancer patients
14 had a relatively higher exposure to testosterone or less estrogen exposure during fetal
15 development compared to controls. Two studies have reported that testosterone is related to
16 *Helicobacter pylori* infections, a major etiological factor in gastric carcinogenesis, while
17 estrogen has a protective effect on *Helicobacter pylori* infections in animal models (57, 60).

18 The studies involving a Chinese sample justified the differences of their results in
19 relation to the Brazilian study, highlighting that gastric cancer is much more common in the
20 West Asian population, besides the differences in sample size and selection method. Wang *et*
21 *al.* suggest that not only the R2D:4D but also the L2D:4D may be predictors of PT/PE levels,
22 and they produce valuable information concerning the risk of gastric cancer in women (26).

23 *Oral Cancer*

24 The only study involving this cancer topography was performed with a Brazilian
25 population sample and it shows statistical significance between the groups, with a high
26 R2D:4D associated with oral cancer (27).

27 The study selected only smokers, seeking to reduce the influence of etiologic factors
28 of cancer in the analysis. Smoking and alcohol consumption are the main etiological factors of
29 oral squamous cell carcinoma, which has also been correlated with papillomavirus, nutrition,
30 oral hygiene and deregulation of *p53*, *HOX* and *AR* genes (61, 62). The *HOX* genes *a*, *b* and *d*
31 are overexpressed in head and neck cancers (63).

32 The oral squamous cell carcinoma etiology may also reside in other genetic factors
33 such as the action of the *AR* genes (62) and variants in the *LIN28B* gene which has also been

1 correlated with the digital ratio (64). This gene has shown to promote neoplastic
2 transformation and is associated with more aggressive malignancies in humans (64).

3 We emphasize that there is a need for further investigations of the relationships
4 between oral squamous cell carcinoma and genetic and hormonal factors that could be
5 represented by digital ratios.

6 *Brain tumor*

7 The only study involving brain tumors shows that the R2D:4D and L2D:4D were
8 significantly lower in the brain tumor group than in healthy controls. It was observed an older
9 age in the presentation of meningioma and glioma associated with a greater $\Delta D-E$ and a lower
10 L2D:4D (30).

11 There is some evidence suggesting that sex steroids are associated with the
12 development and progression of gliomas and meningiomas (65). It is believed that the same
13 genes involved in digital differentiation are related to the development and aggressiveness of
14 central nervous system cancer, suggesting that 2D:4D may reflect sex steroid dependent fetal
15 programming for certain brain tumors (3). However, there is also a report that the evidence of
16 the association of 2D:4D with *HOX* genes was rather weak (51).

17 *Cervical cancer*

18 The study of cervical cancer, published in 2008, was the second scientific study in the
19 literature which aimed to evaluate the association between cancer and 2D:4D. Since then, no
20 other study seeking to assess the association with this type of cancer has occurred (29). This
21 study demonstrates that women who develop some type of cervical dysplasia have a higher
22 2D:4D than women with human papillomavirus (HPV)-negative.

23 The authors hypothesized that less exposure to androgens in early fetal life could
24 predispose to persistent HPV infection. A difference in exposure to PT would reflect the
25 immune response to HPV among women in adulthood and, in turn, an increased risk of
26 cervical cancer.

27 *Colorectal cancer*

28 The Brazilian study suggests that PE is correlated to colorectal cancer both in men and
29 women, as evidenced by the high R2D:4D and L2D:4D (28). The latter occurred especially in
30 rectal cancer patients, what may indicate an even greater influence of estrogen in this subtype
31 of cancer.

32 According to these authors, sex steroids seem to play an important role in the
33 incidence and progression of colorectal cancer. Nevertheless, they justify that there seem to be
34 a U-shaped effect on carcinogenesis and prognosis of this type of cancer, in which low

1 testosterone is thought to play an important role in malignant transformation and
2 differentiation (66), and estrogen appears to be negatively correlated to tumor progression
3 (67).

4 The genetic influence on colorectal cancer appears to be especially correlated with the
5 incidence, progression and metastasis influenced by genes that are also correlated to the
6 establishment of 2D:4D (51). The authors also emphasize that these genes may be positively
7 correlated to PT and therefore correlated negatively with PE or vice versa.

8 *Acute lymphoblastic leukemia*

9 No significant difference was found between the means of the right and left-hand
10 digital ratios among the groups in the general analysis stratified by sex (31). We hypothesized
11 that exposure to prenatal sex hormone might be similar between groups.

13 **Conclusion**

14 Some results provide evidence that strengthens 2D:4D as a biomarker associated with
15 various types of cancer such as breast, prostate, brain, gastric, oral, colorectal and cervical
16 cancers. Nonetheless, considering the wide variation in the methodology used in the studies,
17 whether in the design of the study, data processing mode, different origins, techniques and/or
18 instruments and/or types of measurement, this review shows the need for a larger number of
19 epidemiological studies using more homogeneous methodology and techniques to better
20 investigate the strength of the findings.

21 Despite these limitations, 2D:4D remains a biomarker of prenatal exposure to
22 androgens which may not only have a predictive value in the risk but also in the prognosis of
23 some types of cancers. It would favor the use of an inexpensive and easy-to-apply method that
24 helps in the development of strategies in screening programs.

27 **REFERENCES**

- 28 1. Xu Y, Zheng Y. The digit ratio (2D:4D) in China: A meta-analysis. *American journal of*
29 *human biology : the official journal of the Human Biology Council.* 2015;27(3):304-9.
- 30 2. Manning JT, Scutt D, Wilson J, Lewis-Jones DI. The ratio of 2nd to 4th digit length: a
31 predictor of sperm numbers and concentrations of testosterone, luteinizing hormone and oestrogen.
32 *Hum Reprod.* 1998;13(11):3000-4.
- 33 3. Hopp R, Lima N, Filho J, Sena-Filho M, Samuel R, Amaral J, et al. Digit Ratio (2D:4D) and
34 cancer: What is known so far? *International Journal of Cancer Therapy and Oncology.* 2014;2(1).
- 35 4. Li G, Sun K, Guo J, Li S, Li B, Cao J, et al. Prognostic significance of the digit ratio after
36 hormone therapy for prostate cancer: a prospective multicenter study. *Sci Rep.* 2017;7(1):5229.

- 1 5. Mendes P, Gomes ACdC, Soares P, Gonçalves E, Macedo CP, Silveira MF, et al. Digit ratio
2 (2D:4D) is associated with breast cancer. *International Journal of Cancer Therapy and Oncology*.
3 2016;4(3).
- 4 6. Nicolas Hopp R, de Souza Lima NC, Filho JL, Filho MS, Lima CS, Jorge J. Digit ratio
5 (2D:4D) is associated with gastric cancer. *Early human development*. 2013;89(5):327-9.
- 6 7. Zhu JL, Basso O, Hasle H, Winther JF, Olsen JH, Olsen J. Do parents of children with
7 congenital malformations have a higher cancer risk? A nationwide study in Denmark. *British journal*
8 *of cancer*. 2002;87(5):524-8.
- 9 8. Ferlay J, Colombet M, Soerjomataram I, Mathers C, Parkin DM, Pineros M, et al. Estimating
10 the global cancer incidence and mortality in 2018: GLOBOCAN sources and methods. *International*
11 *journal of cancer*. 2019;144(8):1941-53.
- 12 9. INCA. Estimativa 2020: incidência de câncer no Brasil. Rio de Janeiro: Ministério da Saúde.
13 Instituto Nacional de Câncer José de Alencar Gomes da Silva (INCA). Coordenação de Prevenção e
14 Vigilância.; 2019. 120 p.
- 15 10. WHO. World Cancer Report 2014. Lyon: World Health Organization, International Agency
16 for Research on Cancer; 2014. p. 632.
- 17 11. Liberati A, Altman DG, Tetzlaff J, Mulrow C, Gotzsche PC, Ioannidis JP, et al. The PRISMA
18 statement for reporting systematic reviews and meta-analyses of studies that evaluate health care
19 interventions: explanation and elaboration. *J Clin Epidemiol*. 2009;62(10):e1-34.
- 20 12. von Elm E, Altman DG, Egger M, Pocock SJ, Gøtzsche PC, Vandenbroucke JP, et al. The
21 Strengthening the Reporting of Observational Studies in Epidemiology (STROBE) Statement:
22 guidelines for reporting observational studies. *International journal of surgery (London, England)*.
23 2014;12(12):1495-9.
- 24 13. Muller DC, Giles GG, Manning JT, Hopper JL, English DR, Severi G. Second to fourth digit
25 ratio (2D:4D) and prostate cancer risk in the Melbourne Collaborative Cohort Study. *British journal of*
26 *cancer*. 2011;105(3):438-40.
- 27 14. Rahman AA, Lophatananon A, Stewart-Brown S, Harriss D, Anderson J, Parker T, et al. Hand
28 pattern indicates prostate cancer risk. *British journal of cancer*. 2011;104(1):175-7.
- 29 15. Oh JK, Kim KH, Jung H, Yoon SJ, Kim TB. Second to fourth digit ratio: its relationship with
30 core cancer volume and Gleason score in prostate biopsy. *International braz j urol : official journal of*
31 *the Brazilian Society of Urology*. 2012;38(5):611-9.
- 32 16. Garcia-Cruz E, Piqueras M, Huguet J, Ribal MJ, Vilaseca A, Gosalbez D, et al. Higher second
33 fourth digit ratio predicts higher incidence of prostate cancer in prostate biopsy. *Archivos espanoles de*
34 *urologia*. 2012;65(9):816-21.
- 35 17. Salomao L, Figueiredo RT, Oliveira Santos R, Damiao R, da Silva EA. From palmistry to
36 anthropometry: can 2nd to 4th digit length (2D:4D) predict the risk of prostate cancer? *Urologia*
37 *internationalis*. 2014;93(3):257-61.
- 38 18. Mendes PH, Martelli DR, de Melo Costa S, Goncalves E, Macedo CP, Silveira MF, et al.
39 Comparison of digit ratio (2D:4D) between Brazilian men with and without prostate cancer. *Prostate*
40 *cancer and prostatic diseases*. 2016;19(1):107-10.
- 41 19. Manning JT, Leinster SJ. re: The ratio of 2nd to 4th digit length and age at presentation of
42 breast cancer: a link with prenatal oestrogen? *The Breast*. 2001;10(4):355-7.
- 43 20. Muller DC, Baglietto L, Manning JT, McLean C, Hopper JL, English DR, et al. Second to
44 fourth digit ratio (2D:4D), breast cancer risk factors, and breast cancer risk: a prospective cohort study.
45 *British journal of cancer*. 2012;107(9):1631-6.
- 46 21. Hong L, Zhan-Bing M, Zhi-Yun S, Xiao-Xia S, Jun-Li Z, Zheng-Hao H. Digit ratio (2D:4D)
47 in Chinese women with breast cancer. *American journal of human biology : the official journal of the*
48 *Human Biology Council*. 2014;26(4):562-4.
- 49 22. Auger J, Eustache F. Second to fourth digit ratios, male genital development and reproductive
50 health: a clinical study among fertile men and testis cancer patients. *International journal of andrology*.
51 2011;34(4 Pt 2):e49-58.
- 52 23. Trabert B, Graubard BI, Erickson RL, Zhang Y, McGlynn KA. Second to fourth digit ratio,
53 handedness and testicular germ cell tumors. *Early human development*. 2013;89(7):463-6.
- 54 24. Sheng Y, Qian W, Wang L, Huo Z, Lu H, Yu H, et al. Decreased digit ratio (2D:4D) and
55 gastric cancer in Chinese men. *Early human development*. 2016;103:109-12.

- 1 25. Gonçalves E, Viana Veloso GG, Paranaíba LMR, Mendes PHC, Martelli DRB, Silveira MF,
2 et al. Hand digit ratio (2d:4d) and gastric cancer risk: a cross-sectional study among southeastern
3 Brazilians. *Journal of Xiangya Medicine*. 2017;2:1-.
- 4 26. Wang L, Lu H, Li KK, Bai CY, Ma ZB. Digit ratio (2D:4D) in Chinese women with gastric
5 cancer. *American journal of human biology : the official journal of the Human Biology Council*.
6 2018;30(3):e23109.
- 7 27. Nicolas Hopp R, Jorge J. Right hand digit ratio (2D:4D) is associated with oral cancer.
8 *American journal of human biology : the official journal of the Human Biology Council*.
9 2011;23(3):423-5.
- 10 28. Hopp RN, Lima NCdS, Filho MS, Filho JLF, Jorge J. Digit Ratio is Associated with
11 Colorectal Cancer. *Journal of Gastrointestinal & Digestive System*. 2015;05(01).
- 12 29. Brabin L, Roberts SA, Farzaneh F, Fairbrother E, Kitchener HC. The second to fourth digit
13 ratio (2D:4D) in women with and without human papillomavirus and cervical dysplasia. *American*
14 *journal of human biology : the official journal of the Human Biology Council*. 2008;20(3):337-41.
- 15 30. Bunevicius A, Tamasauskas S, Deltuva VP, Tamasauskas A, Sliuzys A, Bunevicius R. Digit
16 ratio (2D:4D) in primary brain tumor patients: A case-control study. *Early human development*.
17 2016;103:205-8.
- 18 31. Dias VO, Santos ML, Mendes PHC, Fonseca CAD, Martelli DRB, de Andrade RS, et al.
19 Association between Hand Digit Ratio (2D : 4D) and Acute Lymphoblastic Leukemia. *Dis Markers*.
20 2018;2018:4938725.
- 21 32. Bunevicius A. The Association of Digit Ratio (2D : 4D) with Cancer: A Systematic Review
22 and Meta-Analysis. *Dis Markers*. 2018;2018:7698193.
- 23 33. Ribeiro E, Neave N, Morais RN, Manning JT. Direct Versus Indirect Measurement of Digit
24 Ratio (2D:4D). *Evolutionary Psychology*. 2016;14(1).
- 25 34. Caswell N, Manning JT. A comparison of finger 2D:4D by self-report direct measurement and
26 experimenter measurement from photocopy: methodological issues. *Arch Sex Behav*. 2009;38(1):143-
27 8.
- 28 35. Jung H, Kim KH, Yoon SJ, Kim TB. Second to fourth digit ratio: a predictor of prostate-
29 specific antigen level and the presence of prostate cancer. *BJU international*. 2011;107(4):591-6.
- 30 36. Waters M, Rebholz CM, Wood B, Kuske A, McIntyre M, Sartor O. Second to fourth digit
31 ratio and prostate cancer severity. *Prostate cancer and prostatic diseases*. 2013;16(1):107-10.
- 32 37. Ashraf M, Mohan T, E F. Hand patterns in prostatic cancers. *Journal of Dental and Medical*
33 *Sciences* 2017;13:72-4.
- 34 38. Stolten M, Ledet E, Dotiwala A, Luk E, Sartor O. Alternative Digit Ratios and Their
35 Relationship to Prostate Cancer. *Clinical genitourinary cancer*. 2016;14(2):149-52.
- 36 39. Honekopp J, Watson S. Meta-analysis of digit ratio 2D:4D shows greater sex difference in the
37 right hand. *American journal of human biology : the official journal of the Human Biology Council*.
38 2010;22(5):619-30.
- 39 40. Honekopp J. No Evidence that 2D:4D is Related to the Number of CAG Repeats in the
40 Androgen Receptor Gene. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2013;4:185.
- 41 41. Manning JT, Bundred PE, Newton DJ, Flanagan BF. The second to fourth digit ratio and
42 variation in the androgen receptor gene. *Evolution and Human Behavior*. 2003;24(6):399-405.
- 43 42. Stanford JL, Just JJ, Gibbs M, Wicklund KG, Neal CL, Blumenstein BA, et al. Polymorphic
44 repeats in the androgen receptor gene: molecular markers of prostate cancer risk. *Cancer Res*.
45 1997;57(6):1194-8.
- 46 43. Giovannucci E, Stampfer MJ, Krithivas K, Brown M, Dahl D, Brufsky A, et al. The CAG
47 repeat within the androgen receptor gene and its relationship to prostate cancer. *Proc Natl Acad Sci U*
48 *S A*. 1997;94(7):3320-3.
- 49 44. Lippa RA. Are 2D:4D finger-length ratios related to sexual orientation? Yes for men, no for
50 women. *J Pers Soc Psychol*. 2003;85(1):179-88.
- 51 45. Manning JT, Stewart A, Bundred PE, Trivers RL. Sex and ethnic differences in 2nd to 4th
52 digit ratio of children. *Early human development*. 2004;80(2):161-8.
- 53 46. Hurd PL, van Anders SM. Latitude, digit ratios, and Allen's and Bergmann's rules: a comment
54 on Loehlin, McFadden, Medland, and Martin (2006). *Arch Sex Behav*. 2007;36(2):139-41; author
55 reply 43.

- 1 47. Helle S, Laaksonen T. Latitudinal gradient in 2D:4D. *Arch Sex Behav.* 2009;38(1):1-3.
- 2 48. Nunes FD, de Almeida FC, Tucci R, de Sousa SC. Homeobox genes: a molecular link
3 between development and cancer. *Pesquisa odontologica brasileira = Brazilian oral research.*
4 2003;17(1):94-8.
- 5 49. Takahashi Y, Hamada J, Murakawa K, Takada M, Tada M, Nogami I, et al. Expression
6 profiles of 39 HOX genes in normal human adult organs and anaplastic thyroid cancer cell lines by
7 quantitative real-time RT-PCR system. *Exp Cell Res.* 2004;293(1):144-53.
- 8 50. Chua CW, Chiu YT, Yuen HF, Chan KW, Wang X, Ling MT, et al. Differential expression of
9 MSX2 in nodular hyperplasia, high-grade prostatic intraepithelial neoplasia and prostate
10 adenocarcinoma. *APMIS.* 2010;118(12):918-26.
- 11 51. Zheng Z, Cohn MJ. Developmental basis of sexually dimorphic digit ratios. *Proc Natl Acad*
12 *Sci U S A.* 2011;108(39):16289-94.
- 13 52. Eblaghie MC, Song SJ, Kim JY, Akita K, Tickle C, Jung HS. Interactions between FGF and
14 Wnt signals and Tbx3 gene expression in mammary gland initiation in mouse embryos. *J Anat.*
15 2004;205(1):1-13.
- 16 53. Chakravarty G, Moroz K, Makridakis NM, Lloyd SA, Galvez SE, Canavello PR, et al.
17 Prognostic significance of cytoplasmic SOX9 in invasive ductal carcinoma and metastatic breast
18 cancer. *Experimental biology and medicine (Maywood, NJ).* 2011;236(2):145-55.
- 19 54. Breedlove SM. Minireview: Organizational hypothesis: instances of the fingerpost.
20 *Endocrinology.* 2010;151(9):4116-22.
- 21 55. Hurd PL, Vaillancourt KL, Dinsdale NL. Aggression, digit ratio and variation in androgen
22 receptor and monoamine oxidase a genes in men. *Behav Genet.* 2011;41(4):543-56.
- 23 56. Freedman ND, Chow WH, Gao YT, Shu XO, Ji BT, Yang G, et al. Menstrual and
24 reproductive factors and gastric cancer risk in a large prospective study of women. *Gut.*
25 2007;56(12):1671-7.
- 26 57. Ohtani M, Garcia A, Rogers AB, Ge Z, Taylor NS, Xu S, et al. Protective role of 17 beta -
27 estradiol against the development of Helicobacter pylori-induced gastric cancer in INS-GAS mice.
28 *Carcinogenesis.* 2007;28(12):2597-604.
- 29 58. Manning JT, Bundred PE, Flanagan BF. The ratio of 2nd to 4th digit length: a proxy for
30 transactivation activity of the androgen receptor gene? *Medical hypotheses.* 2002;59(3):334-6.
- 31 59. Chandanos E, Lindblad M, Jia C, Rubio CA, Ye W, Lagergren J. Tamoxifen exposure and risk
32 of oesophageal and gastric adenocarcinoma: a population-based cohort study of breast cancer patients
33 in Sweden. *British journal of cancer.* 2006;95(1):118-22.
- 34 60. Terry MB, Gaudet MM, Gammon MD. The epidemiology of gastric cancer. *Semin Radiat*
35 *Oncol.* 2002;12(2):111-27.
- 36 61. Scully C, Bagan J. Oral squamous cell carcinoma: overview of current understanding of
37 aetiopathogenesis and clinical implications. *Oral diseases.* 2009;15(6):388-99.
- 38 62. dos Santos ML, Sibov TT, Nishimoto IN, Kowalski LP, Miracca EC, Nagai MA. The CAG
39 repeat polymorphism in the androgen receptor gene (AR) and its relationship to head and neck cancer.
40 *Oral Oncol.* 2004;40(2):177-82.
- 41 63. De Souza Setubal Destro MF, Bitu CC, Zecchin KG, Graner E, Lopes MA, Kowalski LP, et
42 al. Overexpression of HOXB7 homeobox gene in oral cancer induces cellular proliferation and is
43 associated with poor prognosis. *Int J Oncol.* 2010;36(1):141-9.
- 44 64. Viswanathan SR, Powers JT, Einhorn W, Hoshida Y, Ng TL, Toffanin S, et al. Lin28
45 promotes transformation and is associated with advanced human malignancies. *Nat Genet.*
46 2009;41(7):843-8.
- 47 65. Kabat GC, Etgen AM, Rohan TE. Do steroid hormones play a role in the etiology of glioma?
48 *Cancer epidemiology, biomarkers & prevention : a publication of the American Association for*
49 *Cancer Research, cosponsored by the American Society of Preventive Oncology.* 2010;19(10):2421-7.
- 50 66. Gu S, Papadopoulou N, Nasir O, Foller M, Alevizopoulos K, Lang F, et al. Activation of
51 membrane androgen receptors in colon cancer inhibits the prosurvival signals Akt/bad in vitro and in
52 vivo and blocks migration via vinculin/actin signaling. *Mol Med.* 2011;17(1-2):48-58.

- 1 67. Rudolph A, Toth C, Hoffmeister M, Roth W, Herpel E, Jansen L, et al. Expression of
- 2 oestrogen receptor beta and prognosis of colorectal cancer. *British journal of cancer*. 2012;107(5):831-
- 3 9.

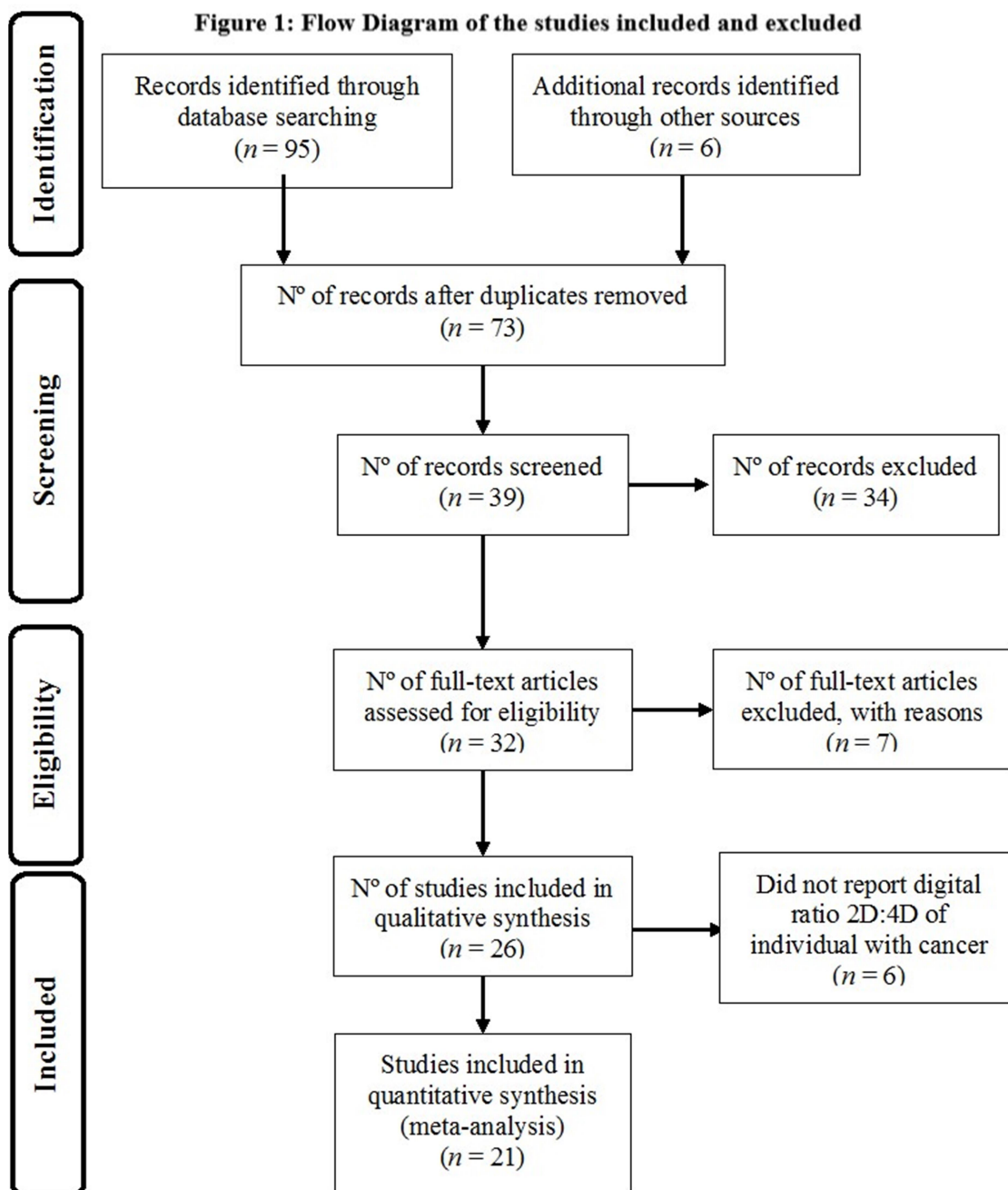


Figure 1 contains flow chart of eligible studies selection process. An extensive systematic literature search updated until May 2020 was performed in PubMed, Scopus, and Web of Science databases, yielding 101 articles, and finally 21 articles were included according to eligibility criteria.
212x247mm (96 x 96 DPI)

Table 1: Main characteristics of the twenty-one scientific papers selected

First author, year (reference)	Country of study	Study design	Cancer topography	Sample size		Measurement tool	Type of measurement and laterality	Association result
				N° of Cases	N° of Controls			
Muller, 2011 [13]	Australia	Cohort	Prostate	686	5572	Digital caliper	L2D:4D ^a R2D:4D ^b	No association of 2D:4D and prostate cancer ($p=0.92$). However, there is a weak inverse association between the risk of cancer in patients under 60 years old.
Garcia-Cruz, 2012 [16]	Spain	Cohort	Prostate	51	139	Digital caliper	L2D:4D ^a Left D2-D4 ^c	Low L2D:4D as protective for prostate cancer in Caucasian men ($p=0.004$)
Oh, 2012 [15]	Korea	Cohort	Prostate	61	105	Digital caliper	R2D:4D ^b	Low R2D:4D as a predictor for prostate cancer ($p=0.02$).
Rahman, 2011 [14]	United Kingdom	Case-control	Prostate	1524	3044	Auto comparison with figures	R2D:4D ^b	High R2D:4D as protective for prostate cancer ($p<0.001$).
Mendes, 2016 [18]	Brazil	Case-control	Prostate	100	100	Digital caliper	R2D:4D ^b L2D:4D ^a $\Delta D-E^d$	Both low R2D:4D and L2D:4D as predictors of prostate cancer ($p=0.001$; $p=0.002$, respectively). No association with $\Delta D-E$.
Salomão, 2014 [17]	Brazil	Case-control	Prostate	222	252	Digital photography	R2D:4D ^b	No association of R2D:4D with prostate cancer ($p=0.12$).
Auger, 2011 [22]	France	Case-control	Testicle	71	122	Digital caliper	R2D:4D ^b	No association of R2D:4D with testicle cancer ($p=0.18$).
Trabert, 2013 [23]	USA	Case-control	Testicle	246	236	Self-reported finger length	R2D:4D ^b L2D:4D ^a $\Delta D-E^d$	No association of R2D:4D and L2D:4D with cancer testicle (OR=1.12; OR=1.08, respectively).
Manning, 2001 [19]	England	Case-control	Breast	118	118	Digital caliper	R2D:4D ^b L2D:4D ^a	Both high R2D:4D and L2D:4D as predictors of breast cancer at an earlier age ($p=0.01$; $p=0.004$, respectively).
Muller, 2012 [20]	Australia	Cohort	Breast	573	8471	Hand scanner	R2D:4D ^b L2D:4D ^a $\Delta D-E^d$	High L2D:4D ($p=0.01$) and low $\Delta D-E$ ($p=0.02$) associated with breast cancer. No association in R2D:4D ($p=0.85$).
Mendes, 2016 [5]	Brazil	Case-control	Breast	100	100	Digital caliper	R2D:4D ^b L2D:4D ^a $\Delta D-E^d$	Both high R2D:4D and L2D:4D associated with breast cancer ($p<0.001$) as well as high $\Delta D-E$ ($p=0.032$).
Hong, 2014 [21]	China	Cohort	Breast	109	109	Hand scanner	R2D:4D ^b L2D:4D ^a	Both high R2D:4D and L2D:4D associated with breast cancer ($p<0.05$). No association with $\Delta D-E$.
Hopp, 2013 [6]	Brazil	Case-control	Gastric	57	59	Digital photography	R2D:4D ^b L2D:4D ^a $\Delta D-E^d$	High L2D:4D and low $\Delta D-E$ associated with gastric cancer, particularly in men ($p<0.005$ and $p<0.001$, respectively). No association of R2D:4D ($p=0.38$).
Sheng, 2016 [24]	China	Case-control	Gastric	94	91	Digital photography	R2D:4D ^b L2D:4D ^a $\Delta D-E^d$	Both low R2D:4D and L2D:4D ($p<0.01$ and $p<0.001$, respectively) associated with gastric cancer in Chinese men. No association with $\Delta D-E$ ($p=0.589$).
Gonçalves, 2017 [25]	Brazil	Case-control	Gastric	120	120	Digital caliper	R2D:4D ^b L2D:4D ^a $\Delta D-E^d$	High R2D:4D ($p=0.000$) and $\Delta D-E$ ($p=0.013$) associated with gastric cancer, particularly in women. No association with L2D:4D.
Wang, 2018 [26]	China	Case-control	Gastric	54	113	Digital photography	R2D:4D ^b L2D:4D ^a $\Delta D-E^d$	Both low R2D:4D and L2D:4D ($p<0.01$ and $p<0.05$, respectively) associated with gastric cancer in Chinese women. No association with $\Delta D-E$ ($p=0.385$).
Hopp, 2011 [27]	Brazil	Case-control	Oral	25	25	Digital photography	R2D:4D ^b	High R2D:4D associated with the risk of oral cancer ($p=0.03$).
Bunevicius, 2016 [30]	Lithuania	Case-control	Brain	85	106	Digital photography	R2D:4D ^b L2D:4D ^a $\Delta D-E^d$	Both low R2D:4D and L2D:4D associated with the risk of brain cancer ($p<0.001$). No difference between $\Delta D-E$.
Brabin, 2008 [29]	United Kingdom	Case-control	Cervix	95	120	Digital caliper	R2D:4D ^b L2D:4D ^a	High R2D:4D associated with CIN1 ^e ($p=0.004$) and CIN2/3 ^f ($p=0.005$). High L2D:4D associated with CIN1 ^e ($p=0.047$). High 2D:4D of combined hands ($p=0.006$ and $p=0.012$ for CIN1 ^e and CIN2/3 ^f , respectively).
Hopp, 2015 [28]	Brazil	Case-control	Colorretal	139	139	Digital photography	R2D:4D ^b L2D:4D ^a $\Delta D-E^d$	Both high R2D:4D and L2D:4D associated with colorectal cancer ($p=0.00001$ and $p=0.00005$, respectively). No difference between $\Delta D-E$.
Dias, 2018 [31]	Brazil	Case-control	Acute lymphoblastic leukemia	43	86	Digital caliper	R2D:4D ^b L2D:4D ^a $\Delta D-E^d$	No association of $\Delta D-E$ and R2D:4D or L2D:4D with acute lymphoblastic leukemia.

Abbreviations: ^aL2D:4D: left 2D:4D (ratio of the lengths of the index (2D) and ring (4D) fingers of the left hand), ^bR2D:4D: right 2D:4D, ^cD2-D4: index finger length minus ring finger length, ^d $\Delta D-E$: right hand 2D:4D minus left hand 2D:4D, ^eCIN1: cervical intraepithelial neoplasia grade 1 (low-grade), ^fCIN2/3: cervical intraepithelial neoplasia grade 2/3.

Table 2. Inclusion and exclusion criteria of selected articles

First author, year [reference]	Inclusion Criteria	Exclusion Criteria
Garcia-Cruz, 2012 [16]	Cases: individuals submitted to transrectal prostate biopsy guided by ultrasound due to elevation of PSA or abnormal digital rectal examination between February 2008 and February 2009. Controls: individuals with negative biopsy for prostate cancer.	Patients receiving Luteinizing Hormone-releasing hormone analogues or testosterone replacement therapy, or those with finger amputation.
Oh, 2012 [15]	Cases: individuals with low urinary tract symptoms of a tertiary university hospital aged 40 years or older, and positive biopsy for prostate cancer. Controls: individuals with low urinary tract symptoms from a tertiary university hospital aged 40 years or older, and negative biopsy for prostate cancer.	Not reported.
Muller, 2011 [13]	Cases: individuals participating in the Melbourne Collaborative Cohort Study between 2003 and 2009 with photocopied hands and prostate cancer. Controls: individuals participating in the Melbourne Collaborative Cohort Study between 2003 and 2009, age-matched with hands photocopied and non-prostate cancer.	Individuals with previous diagnosis of invasive prostate cancer or unknown primary tumor.
Rahman, 2011 [14]	Cases: individuals with prostate cancer under 80 years of age living in the United Kingdom between 1994 and 2009, from 3 referral hospitals. Controls: cancer-free individuals from the community evaluated by clinicians and without symptoms of the urinary tract according to the International Score of Prostatic Symptoms (score ≤ 7 and > 35).	Not reported.
Mendes, 2016 [18]	Cases: individuals diagnosed with prostate adenocarcinoma from the local referral service. Controls: healthy men, age-matched to the case group who received normal preventive examinations performed in the last year.	Individuals with a history of fractures of the fingers in any of the hands and/or with hormonal disorders. Individuals with benign prostatic hyperplasia.
Auger, 2011 [22]	Cases: individuals diagnosed with testicular cancer before the start of radio and/or chemotherapy. Controls: fertile men partners of pregnant women between April 2002 and December 2003, aged 20 to 39 years, born in France and residing in the reference hospital area.	Not reported.
Salomão, 2014 [17]	Cases: individuals over 40 during routine medical visits to the urology clinic. Controls: men with a serum PSA level < 1.5 ng/ml and normal digital rectal examination.	Individuals with deformities in the right hand.
Trabert, 2013 [23]	Cases: STEED participants enrolled between 2002 and 2005, men aged 18-45 years who had at least one serum sample stored in the U.S. Department of Defense Serum Repository (DoDSR, Silver Spring, MD). Controls: non-testicular cancer individuals matched to age at diagnosis, ethnicity and date serum donated within 30 days.	Not reported.
Manning, 2001 [19]	Cases: women with breast cancer from the Liverpool Royal University Hospital. Controls: women matched for sex and age with the index sample.	Subjects with digits affected by injury or disease.
Muller, 2012 [20]	Cases: women with a first diagnosis of invasive adenocarcinoma of the breast during follow up from baseline to 1 January 2010 and that their hands were photocopied. Controls: women without the diagnosis of breast cancer during follow up from baseline to 1 January 2010 and that their hands were photocopied.	Women with diagnosis of invasive breast cancer or unknown primary tumor prior to enrollment in the Cohort.
Mendes, 2016 [5]	Cases: women with breast cancer who had a confirmed diagnosis of invasive breast adenocarcinoma by histopathological report. Controls: healthy women evaluated annually by nurses and gynecologists for the prevention of breast and uterine cancer.	Women with breast cancer <i>in situ</i> . History of fractures in fingers of any hand and hormonal disorders.
Hong, 2014 [21]	Cases: women of Han ethnic group aged 30-60 years diagnosed with breast cancer histopathologically confirmed. Controls: healthy women of Han ethnic group matched by sex and age.	Not reported.
Hopp, 2013 [6]	Cases: individuals on oncological follow-up or chemotherapy treatment with gastric cancer. Controls: healthy subjects matched by sex and age.	Individuals with finger fractures and/or hormonal disorders.
Sheng, 2016 [24]	Cases: male native subjects with gastric cancer diagnosed. Controls: healthy male natives.	Not reported.
Gonçalves, 2017 [25]	Cases: patients with gastric cancer. Controls: healthy subjects.	History of fingers' fractures either in one or both hands and hormonal disorders.
Wang, 2018 [26]	Cases: women with gastric cancer diagnosed by clinical and histological analysis. Controls: healthy women who had an annual clinical examination at the hospital.	Not reported.
Hopp, 2011 [27]	Cases: men, aged 40-80, diagnosed with oral cancer, present or past, regardless of type and subsite. Controls: patients age-matched without present or past oral malignant or premalignant lesions.	Right index or ring finger fracture history and/or hormonal disorders.
Bunevicius, 2016 [30]	Cases: adult individuals admitted for elective primary brain tumor surgery from July 2010 to April 2011. Controls: healthy subjects matched by age and gender to brain tumor patients.	Individuals with suspected metastatic brain tumor or with a history of finger fractures or with hormonal disorders.
Brabin, 2008 [29]	Cases: women who underwent cervical smear confirmed by cytology/biopsy. Controls: HPV negative women with normal cervical smear, confirmed by cytology/biopsy, and ethnicity-matched.	Women with inadequate cervical smear.
Hopp, 2015 [28]	Cases: men and women, aged 40-80, in follow-up of cure or in chemotherapy treatment of colon or rectum cancer. Controls: healthy men and women matched by age and sex.	Individuals with a history of index or ring finger fracture and/or hormonal disturbances and/or with BMI ≥ 35 kg/m ² .
Dias, 2018 [31]	Cases: individuals aged 2-17 with acute lymphoblastic leukemia undergoing treatment. Controls: children free from cancer, with age and sex matched.	History of finger fractures and/or hormonal disorders, and/or presenting clinical syndromes resulting from chromosomal abnormalities, such as Down syndrome.

6 CONCLUSÕES

Após a realização do presente estudo e de acordo com os objetivos específicos propostos pode-se concluir que:

1. Existe uma associação limítrofe entre o câncer no aparelho reprodutor feminino e o biomarcador 2D:4D exclusivamente à direita.
2. A agenesia dentária e a história familiar de fissuras labial e/ou palatina não sindrômica não estão estatisticamente associadas com o câncer no aparelho reprodutor feminino.
3. A maioria dos estudos que abordam a relação entre o biomarcador 2D:4D e diversos tipos de câncer demonstra uma associação estatisticamente significativa.
4. As diferenças metodológicas das diversas publicações científicas envolvendo a relação entre o biomarcador 2D:4D e determinados tipos de câncer limitaram a completa elucidação por meio de metanálise.

7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados deste estudo contribuem para destacar a participação do biomarcador digital (2D:4D) como tendo valor preditivo na avaliação do risco de câncer. Hipotetiza-se que as mulheres com câncer no aparelho reprodutor feminino com maior 2D:4D_D possam ter tido provavelmente uma maior exposição ao estrogênio e menor exposição à testosterona *in utero*. Embora a maioria dos estudos científicos mostre uma associação significativa entre 2D:4D e câncer (76% dos artigos científicos avaliados), deve-se considerar que a variedade de metodologias utilizadas nos estudos torna difíceis as comparações e justifica parcialmente as divergências dos seus resultados.

Estudos epidemiológicos que analisam câncer e outras alterações fornecem subsídios para relacionar características comuns entre ambas às condições de saúde. Nesse contexto, não foi possível afirmar a associação entre as malformações congênitas – agenesia dentária e fissura labial e/ou palatina não síndrômica – com o câncer no aparelho reprodutor feminino. A utilização de classificação subjetiva de cor da pele em uma população com três origens ancestrais deve ser vista como um possível viés ao se considerar a influência da etnia na ocorrência dessas condições de saúde. A ocorrência do câncer de útero e ovário na população levou ao agrupamento de três tipos de câncer no aparelho reprodutor feminino e também deve ser considerado como um possível fator limitante ao se ponderarem as diferenças entre suas etiopatogenias.

Estudos com metodologias semelhantes e amostras maiores e homogêneas são necessários para melhor entender as possíveis correlações entre 2D:4D, agenesia dentária e fissura labial e/ou palatina não síndrômica e os tipos de câncer que envolvem o aparelho reprodutor feminino.

REFERÊNCIAS

1. Allemani C, Matsuda T, Di Carlo V, Harewood R, Matz M, Nikšić M, et al. Global surveillance of trends in cancer survival 2000–14 (CONCORD-3): analysis of individual records for 37 513 025 patients diagnosed with one of 18 cancers from 322 population-based registries in 71 countries. *The Lancet*. 2018;391(10125):1023-75.
2. Ferlay J, Colombet M, Soerjomataram I, Mathers C, Parkin DM, Pineros M, et al. Estimating the global cancer incidence and mortality in 2018: GLOBOCAN sources and methods. *International journal of cancer*. 2019;144(8):1941-53.
3. Jemal A, Torre L, Soerjomataram I, Bray F. *THE CANCER ATLAS*. Third Edition ed. Atlanta: American Cancer Society; 2019.
4. INCA. Estimativa 2020: incidência de câncer no Brasil. Rio de Janeiro: Ministério da Saúde. Instituto Nacional de Câncer José de Alencar Gomes da Silva (INCA). Coordenação de Prevenção e Vigilância.; 2019. 120 p.
5. INCA. Estimativa 2018: incidência de câncer no Brasil. Saúde Md, editor. Rio de Janeiro: Ministério da Saúde. Instituto Nacional de Câncer José de Alencar Gomes da Silva (INCA). Coordenação de Prevenção e Vigilância.; 2017. 128 p.
6. Schiffman JD, Fisher PG, Gibbs P. Early detection of cancer: past, present, and future. *Am Soc Clin Oncol Educ Book*. 2015:57-65.
7. Manning JT, Scutt D, Wilson J, Lewis-Jones DI. The ratio of 2nd to 4th digit length: a predictor of sperm numbers and concentrations of testosterone, luteinizing hormone and oestrogen. *Hum Reprod*. 1998;13(11):3000-4.
8. Zheng Z, Cohn MJ. Developmental basis of sexually dimorphic digit ratios. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2011;108(39):16289-94.
9. Nicolas Hopp R, de Souza Lima NC, Filho JL, Filho MS, Lima CS, Jorge J. Digit ratio (2D:4D) is associated with gastric cancer. *Early human development*. 2013;89(5):327-9.
10. Hopp R, Lima N, Filho J, Sena-Filho M, Samuel R, Amaral J, et al. Digit Ratio (2D:4D) and cancer: What is known so far? *International Journal of Cancer Therapy and Oncology*. 2014;2(1).
11. Agha MM, Williams JI, Marrett L, To T, Zipursky A, Dodds L. Congenital abnormalities and childhood cancer. *Cancer*. 2005;103(9):1939-48.
12. Altmann AE, Halliday JL, Giles GG. Associations between congenital malformations and childhood cancer. A register-based case-control study. *British journal of cancer*. 1998;78(9):1244-9.
13. Hanson JW, Smith DW. The fetal hydantoin syndrome. *J Pediatr*. 1975;87(2):285-90.
14. Allen RW, Jr., Ogden B, Bentley FL, Jung AL. Fetal hydantoin syndrome, neuroblastoma, and hemorrhagic disease in a neonate. *JAMA*. 1980;244(13):1464-5.
15. Kuchler EC, Lips A, Tannure PN, Ho B, Costa MC, Granjeiro JM, et al. Tooth agenesis association with self-reported family history of cancer. *Journal of dental research*. 2013;92(2):149-55.
16. Bonds J, Pollan-White S, Xiang L, Mues G, D'Souza R. Is there a link between ovarian cancer and tooth agenesis? *Eur J Med Genet*. 2014;57(5):235-9.

17. Zhu JL, Basso O, Hasle H, Winther JF, Olsen JH, Olsen J. Do parents of children with congenital malformations have a higher cancer risk? A nationwide study in Denmark. *British journal of cancer*. 2002;87(5):524-8.
18. Waitzman NJ, Romano PS, Scheffler RM. Estimates of the economic costs of birth defects. *Inquiry*. 1994;31(2):188-205.
19. Wehby GL, Cassell CH. The impact of orofacial clefts on quality of life and healthcare use and costs. *Oral diseases*. 2010;16(1):3-10.
20. Agbenorku P. Orofacial Clefts: A Worldwide Review of the Problem. *ISRN Plastic Surgery*. 2013;2013:1-7.
21. Croen LA, Shaw GM, Wasserman CR, Tolarova MM. Racial and ethnic variations in the prevalence of orofacial clefts in California, 1983-1992. *Am J Med Genet*. 1998;79(1):42-7.
22. Mossey PA, Modell B. Epidemiology of oral clefts 2012: an international perspective. *Frontiers of oral biology*. 2012;16:1-18.
23. Warkany J, Nelson RC, Schraffenberger E. Congenital Malformations Induced in Rats by Maternal Nutritional Deficiency. *American Journal of Diseases of Children*. 1943;65(6):882-94.
24. Murray JC. Gene/environment causes of cleft lip and/or palate. *Clin Genet*. 2002;61(4):248-56.
25. Ludwig KU, Mangold E, Herms S, Nowak S, Reutter H, Paul A, et al. Genome-wide meta-analyses of nonsyndromic cleft lip with or without cleft palate identify six new risk loci. *Nat Genet*. 2012;44(9):968-71.
26. Jindal A, Vieira AR. Family history of cleft lip and palate in subjects diagnosed with leukemia. *Am J Med Genet A*. 2012;158A(3):678-9.
27. Taioli E, Ragin C, Robertson L, Linkov F, Thurman NE, Vieira AR. Cleft lip and palate in family members of cancer survivors. *Cancer investigation*. 2010;28(9):958-62.
28. Popoff DAV, Coelho MP, Martelli DRB, Saini R, Coletta RD, Martelli-Júnior H. Nonsyndromic oral clefts and risk of cancer: a systematic review. *Dentistry 3000*. 2013;1(1):12-8.
29. Steinwachs EF, Amos C, Johnston D, Mulliken J, Stal S, Hecht JT. Nonsyndromic cleft lip and palate is not associated with cancer or other birth defects. *Am J Med Genet*. 2000;90(1):17-24.
30. Martelli DR, Vieira AR, Fonseca AT, Coletta RD, Soares PB, Martelli-Junior H. Risk of nonsyndromic cleft lip and palate in relatives of women with breast cancer. *Am J Med Genet A*. 2014;164A(1):270-1.
31. Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, Siegel RL, Torre LA, Jemal A. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin*. 2018;68(6):394-424.
32. Torre LA, Islami F, Siegel RL, Ward EM, Jemal A. Global Cancer in Women: Burden and Trends. *Cancer epidemiology, biomarkers & prevention : a publication of the American Association for Cancer Research, cosponsored by the American Society of Preventive Oncology*. 2017;26(4):444-57.
33. WHO. World Cancer Report 2014. Lyon: World Health Organization, International Agency for Research on Cancer; 2014. p. 632.

34. Barbosa MBA, Bittencourt AR, Oliveira ACFd, Linhares AA, Pires AA, Assis APd, et al. *Ações de enfermagem para o controle do câncer: uma proposta de integração ensino-serviço*. 3. ed. ed. Rio de Janeiro: Instituto Nacional de Câncer (INCA); 2008. p. 624.
35. Society AC. *Cancer Facts & Figures 2020*. Atlanta.: Society American Cancer; 2020. 76 p.
36. Islami F, Goding Sauer A, Gapstur SM, Jemal A. Proportion of Cancer Cases Attributable to Excess Body Weight by US State, 2011-2015. *JAMA Oncology*. 2019;5(3):384-92.
37. Pennington KP, Walsh T, Harrell MI, Lee MK, Pennil CC, Rendi MH, et al. Germline and somatic mutations in homologous recombination genes predict platinum response and survival in ovarian, fallopian tube, and peritoneal carcinomas. *Clin Cancer Res*. 2014;20(3):764-75.
38. Xu Y, Zheng Y. The digit ratio (2D:4D) in China: A meta-analysis. *American journal of human biology : the official journal of the Human Biology Council*. 2015;27(3):304-9.
39. Lutchmaya S, Baron-Cohen S, Raggatt P, Knickmeyer R, Manning JT. 2nd to 4th digit ratios, fetal testosterone and estradiol. *Early human development*. 2004;77(1-2):23-8.
40. Brown WM, Hines M, Fane BA, Breedlove SM. Masculinized finger length patterns in human males and females with congenital adrenal hyperplasia. *Horm Behav*. 2002;42(4):380-6.
41. Buck JJ, Williams RM, Hughes IA, Acerini CL. In-utero androgen exposure and 2nd to 4th digit length ratio-comparisons between healthy controls and females with classical congenital adrenal hyperplasia. *Hum Reprod*. 2003;18(5):976-9.
42. Ciumas C, Linden Hirschberg A, Savic I. High fetal testosterone and sexually dimorphic cerebral networks in females. *Cereb Cortex*. 2009;19(5):1167-74.
43. Okten A, Kalyoncu M, Yaris N. The ratio of second- and fourth-digit lengths and congenital adrenal hyperplasia due to 21-hydroxylase deficiency. *Early human development*. 2002;70(1-2):47-54.
44. Honekopp J, Watson S. Meta-analysis of digit ratio 2D:4D shows greater sex difference in the right hand. *American journal of human biology : the official journal of the Human Biology Council*. 2010;22(5):619-30.
45. Berenbaum SA, Bryk KK, Nowak N, Quigley CA, Moffat S. Fingers as a marker of prenatal androgen exposure. *Endocrinology*. 2009;150(11):5119-24.
46. Brown WM, Finn CJ, Breedlove SM. Sexual dimorphism in digit-length ratios of laboratory mice. *Anat Rec*. 2002;267(3):231-4.
47. Honekopp J, Bartholdt L, Beier L, Liebert A. Second to fourth digit length ratio (2D:4D) and adult sex hormone levels: new data and a meta-analytic review. *Psychoneuroendocrinology*. 2007;32(4):313-21.
48. Garcia-Cruz E, Huguet J, Piqueras M, Ribal MJ, Alcaraz A. Second to fourth digit ratio, adult testosterone level and testosterone deficiency. *BJU international*. 2012;109(2):266-71.
49. Durdiaková J, Celec P, Laznibatová J, Minárik G, Lakatošová S, Kubranská A, et al. Differences in salivary testosterone, digit ratio and empathy between intellectually gifted and control boys. *Intelligence*. 2015;48:76-84.
50. Durdiakova J, Lakatosova S, Kubranska A, Laznibatova J, Ficek A, Ostatnikova D, et al. Mental rotation in intellectually gifted boys is affected by the androgen receptor CAG repeat polymorphism. *Neuropsychologia*. 2013;51(9):1693-8.

51. Durdiakova J, Celec P, Laznibatova J, Minarik G, Ostatnikova D. Testosterone metabolism: a possible biological underpinning of non-verbal IQ in intellectually gifted girls. *Acta Neurobiol Exp (Wars)*. 2016;76(1):66-74.
52. Zhang K, Yang X, Zhang M, Wang C, Fang P, Xue M, et al. Revisiting the relationships of 2D:4D with androgen receptor (AR) gene and current testosterone levels: Replication study and meta-analyses. *J Neurosci Res*. 2020;98(2):353-70.
53. Manning JT. Resolving the role of prenatal sex steroids in the development of digit ratio. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2011;108(39):16143-4.
54. Manning JT, Fink B, Neave N, Caswell N. Photocopies yield lower digit ratios (2D:4D) than direct finger measurements. *Arch Sex Behav*. 2005;34(3):329-33.
55. Bailey AA, Hurd PL. Finger length ratio (2D:4D) correlates with physical aggression in men but not in women. *Biol Psychol*. 2005;68(3):215-22.
56. Pokrywka L, Rachon D, Suchecka-Rachon K, Bitel L. The second to fourth digit ratio in elite and non-elite female athletes. *American journal of human biology : the official journal of the Human Biology Council*. 2005;17(6):796-800.
57. Robertson J, Zhang W, Liu JJ, Muir KR, Maciewicz RA, Doherty M. Radiographic assessment of the index to ring finger ratio (2D:4D) in adults. *J Anat*. 2008;212(1):42-8.
58. Hall LS, Love CT. Finger-length ratios in female monozygotic twins discordant for sexual orientation. *Arch Sex Behav*. 2003;32(1):23-8.
59. Rahman AA, Lophatananon A, Stewart-Brown S, Harriss D, Anderson J, Parker T, et al. Hand pattern indicates prostate cancer risk. *British journal of cancer*. 2011;104(1):175-7.
60. Allaway HC, Bloski TG, Pierson RA, Lujan ME. Digit ratios (2D:4D) determined by computer-assisted analysis are more reliable than those using physical measurements, photocopies, and printed scans. *American journal of human biology : the official journal of the Human Biology Council*. 2009;21(3):365-70.
61. Fink B, Manning JT. Direct versus indirect measurement of digit ratio: New data from Austria and a critical consideration of clarity of report in 2D:4D studies. *Early human development*. 2018;127:28-32.
62. Robinson SJ, Manning JT. The ratio of 2nd to 4th digit length and male homosexuality. *Evol Hum Behav*. 2000;21(5):333-45.
63. Voracek M, Offenmuller D. Digit ratios (2D:4D and other) and relative thumb length: a test of developmental stability. *Percept Mot Skills*. 2007;105(1):143-52.
64. Voracek M, Dressler SG. High (feminized) digit ratio (2D : 4D) in Danish men: a question of measurement method? *Hum Reprod*. 2006;21(5):1329-31; author reply 31-2.
65. Dressler SG, Voracek M. No association between two candidate markers of prenatal sex hormones: digit ratios (2D:4D and other) and finger-ridge counts. *Dev Psychobiol*. 2011;53(1):69-78.
66. Costas L, Papadopoulou E, Perez-Gomez B, Basagaña X, Alarcon F, Casabonne D, et al. Reliability of 2D:4D measurements using a direct method suitable for clinical settings. *Personality and Individual Differences*. 2013;55(3):339-42.

67. Kim S-I, Cho K-J. Difference of Second to Fourth Digit Ratio according to the Methods of Measuring Length. *Korean Journal of Physical Anthropology*. 2013;26:25.
68. Gremba A, Weinberg SM. Measuring digit lengths with 3D digital stereophotogrammetry: A comparison across methods. *American journal of human biology : the official journal of the Human Biology Council*. 2018;30(4):e23133.
69. Shaw AZ, Kotowski MR, Boster FJ, Levine TR. The Effect of Prenatal Sex Hormones on the Development of Verbal Aggression. *Journal of Communication*. 2012;62(5):778-93.
70. Ribeiro E, Neave N, Morais RN, Manning JT. Direct Versus Indirect Measurement of Digit Ratio (2D:4D). *Evolutionary Psychology*. 2016;14(1).
71. Caswell N, Manning JT. A comparison of finger 2D:4D by self-report direct measurement and experimenter measurement from photocopy: methodological issues. *Arch Sex Behav*. 2009;38(1):143-8.
72. Rogers P, Caswell N, Brewer G. 2D:4D digit ratio and types of adult paranormal belief: An attempted replication and extension of Voracek (2009) with a UK sample. *Personality and Individual Differences*. 2017;104:92-7.
73. Li G, Sun K, Guo J, Li S, Li B, Cao J, et al. Prognostic significance of the digit ratio after hormone therapy for prostate cancer: a prospective multicenter study. *Sci Rep*. 2017;7(1):5229.
74. Manning JT, Stewart A, Bundred PE, Trivers RL. Sex and ethnic differences in 2nd to 4th digit ratio of children. *Early human development*. 2004;80(2):161-8.
75. Manning JT, Henzi P, Venkatramana P, Martin S, Singh D. Second to fourth digit ratio: ethnic differences and family size in English, Indian and South African populations. *Ann Hum Biol*. 2003;30(5):579-88.
76. Knickmeyer RC, Woolson S, Hamer RM, Konneker T, Gilmore JH. 2D:4D ratios in the first 2 years of life: Stability and relation to testosterone exposure and sensitivity. *Horm Behav*. 2011;60(3):256-63.
77. McFadden D, Loehlin JC, Breedlove SM, Lippa RA, Manning JT, Rahman Q. A reanalysis of five studies on sexual orientation and the relative length of the 2nd and 4th fingers (the 2D:4D ratio). *Arch Sex Behav*. 2005;34(3):341-56.
78. Loehlin JC, McFadden D, Medland SE, Martin NG. Population differences in finger-length ratios: ethnicity or latitude? *Arch Sex Behav*. 2006;35(6):739-42.
79. Manning JT, Churchill AJ, Peters M. The effects of sex, ethnicity, and sexual orientation on self-measured digit ratio (2D:4D). *Arch Sex Behav*. 2007;36(2):223-33.
80. Dias VO, Santos ML, Mendes PHC, Fonseca CAD, Martelli DRB, de Andrade RS, et al. Association between Hand Digit Ratio (2D : 4D) and Acute Lymphoblastic Leukemia. *Dis Markers*. 2018;2018:4938725.
81. Stolten M, Ledet E, Dotiwala A, Luk E, Sartor O. Alternative Digit Ratios and Their Relationship to Prostate Cancer. *Clinical genitourinary cancer*. 2016;14(2):149-52.
82. Mendes PH, Martelli DR, de Melo Costa S, Goncalves E, Macedo CP, Silveira MF, et al. Comparison of digit ratio (2D:4D) between Brazilian men with and without prostate cancer. *Prostate cancer and prostatic diseases*. 2016;19(1):107-10.

83. Hong L, Zhan-Bing M, Zhi-Yun S, Xiao-Xia S, Jun-Li Z, Zheng-Hao H. Digit ratio (2D:4D) in Chinese women with breast cancer. *American journal of human biology : the official journal of the Human Biology Council*. 2014;26(4):562-4.
84. Wang L, Lu H, Li KK, Bai CY, Ma ZB. Digit ratio (2D:4D) in Chinese women with gastric cancer. *American journal of human biology : the official journal of the Human Biology Council*. 2018;30(3):e23109.
85. Sheng Y, Qian W, Wang L, Huo Z, Lu H, Yu H, et al. Decreased digit ratio (2D:4D) and gastric cancer in Chinese men. *Early human development*. 2016;103:109-12.
86. Muller DC, Giles GG, Manning JT, Hopper JL, English DR, Severi G. Second to fourth digit ratio (2D:4D) and prostate cancer risk in the Melbourne Collaborative Cohort Study. *British journal of cancer*. 2011;105(3):438-40.
87. Muller DC, Baglietto L, Manning JT, McLean C, Hopper JL, English DR, et al. Second to fourth digit ratio (2D:4D), breast cancer risk factors, and breast cancer risk: a prospective cohort study. *British journal of cancer*. 2012;107(9):1631-6.
88. Garcia-Cruz E, Piqueras M, Huguet J, Ribal MJ, Vilaseca A, Gosalbez D, et al. Higher second fourth digit ratio predicts higher incidence of prostate cancer in prostate biopsy. *Archivos espanoles de urologia*. 2012;65(9):816-21.
89. Manning JT, Leinster SJ. re: The ratio of 2nd to 4th digit length and age at presentation of breast cancer: a link with prenatal oestrogen? *The Breast*. 2001;10(4):355-7.
90. Oh JK, Kim KH, Jung H, Yoon SJ, Kim TB. Second to fourth digit ratio: its relationship with core cancer volume and Gleason score in prostate biopsy. *International braz j urol : official journal of the Brazilian Society of Urology*. 2012;38(5):611-9.
91. Auger J, Eustache F. Second to fourth digit ratios, male genital development and reproductive health: a clinical study among fertile men and testis cancer patients. *International journal of andrology*. 2011;34(4 Pt 2):e49-58.
92. Bunevicius A, Tamasauskas S, Deltuva VP, Tamasauskas A, Sliuzys A, Bunevicius R. Digit ratio (2D:4D) in primary brain tumor patients: A case-control study. *Early human development*. 2016;103:205-8.
93. Brabin L, Roberts SA, Farzaneh F, Fairbrother E, Kitchener HC. The second to fourth digit ratio (2D:4D) in women with and without human papillomavirus and cervical dysplasia. *American journal of human biology : the official journal of the Human Biology Council*. 2008;20(3):337-41.
94. Trabert B, Graubard BI, Erickson RL, Zhang Y, McGlynn KA. Second to fourth digit ratio, handedness and testicular germ cell tumors. *Early human development*. 2013;89(7):463-6.
95. Mendes P, Gomes ACdC, Soares P, Gonçalves E, Macedo CP, Silveira MF, et al. Digit ratio (2D:4D) is associated with breast cancer. *International Journal of Cancer Therapy and Oncology*. 2016;4(3).
96. Nicolas Hopp R, Jorge J. Right hand digit ratio (2D:4D) is associated with oral cancer. *American journal of human biology : the official journal of the Human Biology Council*. 2011;23(3):423-5.
97. Hopp RN, Lima NCdS, Filho MS, Filho JLF, Jorge J. Digit Ratio is Associated with Colorectal Cancer. *Journal of Gastrointestinal & Digestive System*. 2015;05(01).

98. Gonçalves E, Viana Veloso GG, Paranaíba LMR, Mendes PHC, Martelli DRB, Silveira MF, et al. Hand digit ratio (2d:4d) and gastric cancer risk: a cross-sectional study among southeastern Brazilians. *Journal of Xiangya Medicine*. 2017;2:1-.
99. Salomao L, Figueiredo RT, Oliveira Santos R, Damiao R, da Silva EA. From palmistry to anthropometry: can 2nd to 4th digit length (2D:4D) predict the risk of prostate cancer? *Urologia internationalis*. 2014;93(3):257-61.
100. Hopp RN, Jorge J. Right hand digit ratio (2D:4D) is associated with prostate cancer: Findings of an admixed population study. *Journal of Solid Tumors*. 2012;2(1).
101. Honekopp J. No Evidence that 2D:4D is Related to the Number of CAG Repeats in the Androgen Receptor Gene. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2013;4:185.
102. Manning JT, Bundred PE, Flanagan BF. The ratio of 2nd to 4th digit length: a proxy for transactivation activity of the androgen receptor gene? *Medical hypotheses*. 2002;59(3):334-6.
103. Manning JT, Bundred PE, Newton DJ, Flanagan BF. The second to fourth digit ratio and variation in the androgen receptor gene. *Evolution and Human Behavior*. 2003;24(6):399-405.
104. Giovannucci E, Stampfer MJ, Krithivas K, Brown M, Dahl D, Brufsky A, et al. The CAG repeat within the androgen receptor gene and its relationship to prostate cancer. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1997;94(7):3320-3.
105. Stanford JL, Just JJ, Gibbs M, Wicklund KG, Neal CL, Blumenstein BA, et al. Polymorphic repeats in the androgen receptor gene: molecular markers of prostate cancer risk. *Cancer Res*. 1997;57(6):1194-8.
106. Nunes FD, de Almeida FC, Tucci R, de Sousa SC. Homeobox genes: a molecular link between development and cancer. *Pesquisa odontologica brasileira = Brazilian oral research*. 2003;17(1):94-8.
107. Takahashi Y, Hamada J, Murakawa K, Takada M, Tada M, Nogami I, et al. Expression profiles of 39 HOX genes in normal human adult organs and anaplastic thyroid cancer cell lines by quantitative real-time RT-PCR system. *Exp Cell Res*. 2004;293(1):144-53.
108. Chua CW, Chiu YT, Yuen HF, Chan KW, Wang X, Ling MT, et al. Differential expression of MSX2 in nodular hyperplasia, high-grade prostatic intraepithelial neoplasia and prostate adenocarcinoma. *APMIS*. 2010;118(12):918-26.
109. McGlynn KA, Trabert B. Adolescent and adult risk factors for testicular cancer. *Nat Rev Urol*. 2012;9(6):339-49.
110. Trabert B, Chen J, Devesa SS, Bray F, McGlynn KA. International patterns and trends in testicular cancer incidence, overall and by histologic subtype, 1973-2007. *Andrology*. 2015;3(1):4-12.
111. Eblaghie MC, Song SJ, Kim JY, Akita K, Tickle C, Jung HS. Interactions between FGF and Wnt signals and Tbx3 gene expression in mammary gland initiation in mouse embryos. *J Anat*. 2004;205(1):1-13.
112. Chakravarty G, Moroz K, Makridakis NM, Lloyd SA, Galvez SE, Canavello PR, et al. Prognostic significance of cytoplasmic SOX9 in invasive ductal carcinoma and metastatic breast cancer. *Experimental biology and medicine (Maywood, NJ)*. 2011;236(2):145-55.
113. Breedlove SM. Minireview: Organizational hypothesis: instances of the fingerpost. *Endocrinology*. 2010;151(9):4116-22.

114. Hurd PL, Vaillancourt KL, Dinsdale NL. Aggression, digit ratio and variation in androgen receptor and monoamine oxidase a genes in men. *Behav Genet.* 2011;41(4):543-56.
115. Freedman ND, Chow WH, Gao YT, Shu XO, Ji BT, Yang G, et al. Menstrual and reproductive factors and gastric cancer risk in a large prospective study of women. *Gut.* 2007;56(12):1671-7.
116. Ohtani M, Garcia A, Rogers AB, Ge Z, Taylor NS, Xu S, et al. Protective role of 17 beta -estradiol against the development of Helicobacter pylori-induced gastric cancer in INS-GAS mice. *Carcinogenesis.* 2007;28(12):2597-604.
117. Chandanos E, Lindblad M, Jia C, Rubio CA, Ye W, Lagergren J. Tamoxifen exposure and risk of oesophageal and gastric adenocarcinoma: a population-based cohort study of breast cancer patients in Sweden. *British journal of cancer.* 2006;95(1):118-22.
118. Terry MB, Gaudet MM, Gammon MD. The epidemiology of gastric cancer. *Semin Radiat Oncol.* 2002;12(2):111-27.
119. Scully C, Bagan J. Oral squamous cell carcinoma: overview of current understanding of aetiopathogenesis and clinical implications. *Oral diseases.* 2009;15(6):388-99.
120. dos Santos ML, Sibov TT, Nishimoto IN, Kowalski LP, Miracca EC, Nagai MA. The CAG repeat polymorphism in the androgen receptor gene (AR) and its relationship to head and neck cancer. *Oral Oncol.* 2004;40(2):177-82.
121. De Souza Setubal Destro MF, Bitu CC, Zecchin KG, Graner E, Lopes MA, Kowalski LP, et al. Overexpression of HOXB7 homeobox gene in oral cancer induces cellular proliferation and is associated with poor prognosis. *Int J Oncol.* 2010;36(1):141-9.
122. Viswanathan SR, Powers JT, Einhorn W, Hoshida Y, Ng TL, Toffanin S, et al. Lin28 promotes transformation and is associated with advanced human malignancies. *Nat Genet.* 2009;41(7):843-8.
123. Kabat GC, Etgen AM, Rohan TE. Do steroid hormones play a role in the etiology of glioma? *Cancer epidemiology, biomarkers & prevention : a publication of the American Association for Cancer Research, cosponsored by the American Society of Preventive Oncology.* 2010;19(10):2421-7.
124. Gu S, Papadopoulou N, Nasir O, Foller M, Alevizopoulos K, Lang F, et al. Activation of membrane androgen receptors in colon cancer inhibits the prosurvival signals Akt/bad in vitro and in vivo and blocks migration via vinculin/actin signaling. *Mol Med.* 2011;17(1-2):48-58.
125. Rudolph A, Toth C, Hoffmeister M, Roth W, Herpel E, Jansen L, et al. Expression of oestrogen receptor beta and prognosis of colorectal cancer. *British journal of cancer.* 2012;107(5):831-9.
126. Al-Ani AH, Antoun JS, Thomson WM, Merriman TR, Farella M. Hypodontia: An Update on Its Etiology, Classification, and Clinical Management. *BioMed research international.* 2017;2017:9378325.
127. Hosseini S, Jahangir S, Eslaminejad MB. Tooth tissue engineering. *Biomaterials for Oral and Dental Tissue Engineering* 2017. p. 467-501.
128. Kulkarni M, Agrawal T, Kheur S. Tooth agenesis: newer concept. *J Clin Pediatr Dent.* 2011;36(1):65-9.

129. Juuri E, Balic A. The Biology Underlying Abnormalities of Tooth Number in Humans. *Journal of dental research*. 2017;96(11):1248-56.
130. Thesleff I. Current understanding of the process of tooth formation: transfer from the laboratory to the clinic. *Aust Dent J*. 2014;59 Suppl 1:48-54.
131. Ye X, Attai AB. Genetic Basis of Nonsyndromic and Syndromic Tooth Agenesis. *J Pediatr Genet*. 2016;5(4):198-208.
132. Lindor NM, Win AK, Gallinger S, Daftary D, Thibodeau SN, Silva R, et al. Colorectal cancer and self-reported tooth agenesis. *Hered Cancer Clin Pract*. 2014;12(1):7.
133. Kirac D, Eraydin F, Avcilar T, Ulucan K, Ozdemir F, Guney AI, et al. Effects of PAX9 and MSX1 gene variants to hypodontia, tooth size and the type of congenitally missing teeth. *Cell Mol Biol (Noisy-le-grand)*. 2016;62(13):78-84.
134. Matalova E, Fleischmannova J, Sharpe PT, Tucker AS. Tooth agenesis: from molecular genetics to molecular dentistry. *Journal of dental research*. 2008;87(7):617-23.
135. Fekonja A, Cretnik A, Takac I. Hypodontia prevalence and pattern in women with epithelial ovarian cancer. *Angle Orthod*. 2014;84(5):810-4.
136. De Coster PJ, Marks LA, Martens LC, Huysseune A. Dental agenesis: genetic and clinical perspectives. *Journal of oral pathology & medicine : official publication of the International Association of Oral Pathologists and the American Academy of Oral Pathology*. 2009;38(1):1-17.
137. Yin W, Bian Z. The Gene Network Underlying Hypodontia. *Journal of dental research*. 2015;94(7):878-85.
138. McKeown HF, Robinson DL, Elcock C, al-Sharood M, Brook AH. Tooth dimensions in hypodontia patients, their unaffected relatives and a control group measured by a new image analysis system. *Eur J Orthod*. 2002;24(2):131-41.
139. Ezoddini AF, Sheikhha MH, Ahmadi H. Prevalence of dental developmental anomalies: a radiographic study. *Community Dent Health*. 2007;24(3):140-4.
140. Baccetti T. A controlled study of associated dental anomalies. *Angle Orthod*. 1998;68(3):267-74.
141. Camilleri S. Maxillary canine anomalies and tooth agenesis. *Eur J Orthod*. 2005;27(5):450-6.
142. Kere J, Srivastava AK, Montonen O, Zonana J, Thomas N, Ferguson B, et al. X-linked anhidrotic (hypohidrotic) ectodermal dysplasia is caused by mutation in a novel transmembrane protein. *Nat Genet*. 1996;13(4):409-16.
143. Adaimy L, Chouery E, Megarbane H, Mroueh S, Delague V, Nicolas E, et al. Mutation in WNT10A is associated with an autosomal recessive ectodermal dysplasia: the odonto-onycho-dermal dysplasia. *Am J Hum Genet*. 2007;81(4):821-8.
144. Karsten A, Larson M, Larson O. Length of the cleft in relation to the incidence of hypodontia of the second premolar and to inheritance of cleft lip and palate in children with isolated cleft palate. *Scand J Plast Reconstr Surg Hand Surg*. 2005;39(5):283-6.
145. Lourenco Ribeiro L, Teixeira Das Neves L, Costa B, Ribeiro Gomide M. Dental anomalies of the permanent lateral incisors and prevalence of hypodontia outside the cleft area in complete

unilateral cleft lip and palate. *The Cleft palate-craniofacial journal : official publication of the American Cleft Palate-Craniofacial Association.* 2003;40(2):172-5.

146. Yin W, Bian Z. Hypodontia, a prospective predictive marker for tumor? *Oral diseases.* 2016;22(4):265-73.
147. Polder BJ, Van't Hof MA, Van der Linden FP, Kuijpers-Jagtman AM. A meta-analysis of the prevalence of dental agenesis of permanent teeth. *Community Dent Oral Epidemiol.* 2004;32(3):217-26.
148. Mattheeuws N, Dermaut L, Martens G. Has hypodontia increased in Caucasians during the 20th century? A meta-analysis. *Eur J Orthod.* 2004;26(1):99-103.
149. Stavropoulos D, Bartzela T, Bronkhorst E, Mohlin B, Hagberg C. Dental agenesis patterns of permanent teeth in Apert syndrome. *Eur J Oral Sci.* 2011;119(3):198-203.
150. Letra A, Menezes R, Granjeiro JM, Vieira AR. Defining subphenotypes for oral clefts based on dental development. *Journal of dental research.* 2007;86(10):986-91.
151. Cardoso EF, Martelli DR, Machado RA, Coletta RD, de Souza JD, Barbosa FT, et al. Nonsyndromic cleft lip and palate, gastric cancer and tooth agenesis. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal.* 2018;23(1):e44-e8.
152. Letra A, Menezes R, Granjeiro JM, Vieira AR. AXIN2 and CDH1 polymorphisms, tooth agenesis, and oral clefts. *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol.* 2009;85(2):169-73.
153. van den Boogaard MJ, Dorland M, Beemer FA, van Amstel HK. MSX1 mutation is associated with orofacial clefting and tooth agenesis in humans. *Nat Genet.* 2000;24(4):342-3.
154. Ritwik P, Patterson KK. Diagnosis of Tooth Agenesis in Childhood and Risk for Neoplasms in Adulthood. *Ochsner J.* 2018;18(4):345-50.
155. Bonczek O, Balcar VJ, Sery O. PAX9 gene mutations and tooth agenesis: A review. *Clin Genet.* 2017;92(5):467-76.
156. Tan B, Wang J, Song Q, Wang N, Jia Y, Wang C, et al. Prognostic value of PAX9 in patients with esophageal squamous cell carcinoma and its prediction value to radiation sensitivity. *Mol Med Rep.* 2017;16(1):806-16.
157. Chalothorn LA, Beeman CS, Ebersole JL, Kluemper GT, Hicks EP, Kryscio RJ, et al. Hypodontia as a risk marker for epithelial ovarian cancer: a case-controlled study. *Journal of the American Dental Association (1939).* 2008;139(2):163-9.
158. Hlouskova A, Bielik P, Bonczek O, Balcar VJ, Sery O. Mutations in AXIN2 gene as a risk factor for tooth agenesis and cancer: A review. *Neuro Endocrinol Lett.* 2017;38(3):131-7.
159. Williams MA, Biguetti C, Romero-Bustillos M, Maheshwari K, Dinckan N, Cavalla F, et al. Colorectal Cancer-Associated Genes Are Associated with Tooth Agenesis and May Have a Role in Tooth Development. *Sci Rep.* 2018;8(1):2979.
160. Beard C, Purvis R, Winship IM, Macrae FA, Buchanan DD. Phenotypic confirmation of oligodontia, colorectal polyposis and cancer in a family carrying an exon 7 nonsense variant in the AXIN2 gene. *Familial cancer.* 2019;18(3):311-5.
161. Paranjyothi MV, Kumaraswamy KL, Begum LF, Manjunath K, Litha, Basheer S. Tooth agenesis: A susceptible indicator for colorectal cancer? *J Cancer Res Ther.* 2018;14(3):527-31.

162. Lammi L, Arte S, Somer M, Jarvinen H, Lahermo P, Thesleff I, et al. Mutations in AXIN2 cause familial tooth agenesis and predispose to colorectal cancer. *Am J Hum Genet.* 2004;74(5):1043-50.
163. Callahan N, Modesto A, Meira R, Seymen F, Patir A, Vieira AR. Axis inhibition protein 2 (AXIN2) polymorphisms and tooth agenesis. *Archives of oral biology.* 2009;54(1):45-9.
164. Marvin ML, Mazzoni SM, Herron CM, Edwards S, Gruber SB, Petty EM. AXIN2-associated autosomal dominant ectodermal dysplasia and neoplastic syndrome. *Am J Med Genet A.* 2011;155a(4):898-902.
165. Fekonja A, Cretnik A, Zerdoner D, Takac I. Hypodontia phenotype in patients with epithelial ovarian cancer. *Radiol Oncol.* 2015;49(1):65-70.
166. Gawron-Jakubek W, Spaczynska J, Pitynski K, Loster BW. Coexistence of tooth agenesis and ovarian cancer - a systematic literature review. *Ginekol Pol.* 2019;90(12):707-10.
167. Mossey PA, Little J, Munger RG, Dixon MJ, Shaw WC. Cleft lip and palate. *Lancet.* 2009;374(9703):1773-85.
168. Davis JS, Ritchie HP. Classification of Congenital Clefts of the Lip and Palate. *Journal of the American Medical Association.* 1922;79(16):1323-7.
169. Spina V. A proposed modification for the classification of cleft lip and cleft palate. *Cleft Palate J.* 1973;10:251-2.
170. Kernahan DA. The striped Y--a symbolic classification for cleft lip and palate. *Plastic and reconstructive surgery.* 1971;47(5):469-70.
171. Silva Filho OG, Ferrari Junior FM, Rocha DL, Freitas JAS. Classificação das fissuras lábio-palatais: breve histórico, considerações clínicas e sugestão de modificação / Classification of cleft lip and palate: brief review, clinical considerations and suggestion of modification. *Rev bras cir.* 1992;82(2):59-65.
172. Brito LA, Meira JG, Kobayashi GS, Passos-Bueno MR. Genetics and management of the patient with orofacial cleft. *Plast Surg Int.* 2012;2012:782821.
173. Luijsterburg AJ, Rozendaal AM, Vermeij-Keers C. Classifying common oral clefts: a new approach after descriptive registration. *The Cleft palate-craniofacial journal : official publication of the American Cleft Palate-Craniofacial Association.* 2014;51(4):381-91.
174. Yu Y, Zuo X, He M, Gao J, Fu Y, Qin C, et al. Genome-wide analyses of non-syndromic cleft lip with palate identify 14 novel loci and genetic heterogeneity. *Nat Commun.* 2017;8:14364.
175. Mossey PA, Little J, Steegers-Theunissen R, Molloy A, Peterlin B, Shaw WC, et al. Genetic Interactions in Nonsyndromic Orofacial Clefts in Europe-EUROCRAN Study. *The Cleft palate-craniofacial journal : official publication of the American Cleft Palate-Craniofacial Association.* 2017;54(6):623-30.
176. Harville EW, Wilcox AJ, Lie RT, Vindenes H, Abyholm F. Cleft lip and palate versus cleft lip only: are they distinct defects? *American journal of epidemiology.* 2005;162(5):448-53.
177. Leslie EJ, Marazita ML. Genetics of cleft lip and cleft palate. *Am J Med Genet C Semin Med Genet.* 2013;163C(4):246-58.

178. Ludwig KU, Ahmed ST, Bohmer AC, Sangani NB, Varghese S, Klamt J, et al. Meta-analysis Reveals Genome-Wide Significance at 15q13 for Nonsyndromic Clefting of Both the Lip and the Palate, and Functional Analyses Implicate GREM1 As a Plausible Causative Gene. *PLoS Genet.* 2016;12(3):e1005914.
179. Beriaghi S, Myers SL, Jensen SA, Kaimal S, Chan CM, Schaefer GB. Cleft lip and palate: association with other congenital malformations. *J Clin Pediatr Dent.* 2009;33(3):207-10.
180. Dixon MJ, Marazita ML, Beaty TH, Murray JC. Cleft lip and palate: understanding genetic and environmental influences. *Nat Rev Genet.* 2011;12(3):167-78.
181. Mossey P, Ee C. *Global Registry and Database on Craniofacial Anomalies.* 2003.
182. Nazer HJ, Cifuentes OL. [Congenital malformations in Latin America in the period 1995-2008]. *Rev Med Chil.* 2011;139(1):72-8.
183. Leck I, Lancashire RJ. Birth prevalence of malformations in members of different ethnic groups and in the offspring of matings between them, in Birmingham, England. *J Epidemiol Community Health.* 1995;49(2):171-9.
184. Bezerra JF, Oliveira GH, Soares CD, Cardoso ML, Ururahy MA, Neto FP, et al. Genetic and non-genetic factors that increase the risk of non-syndromic cleft lip and/or palate development. *Oral diseases.* 2015;21(3):393-9.
185. Bille C, Winther JF, Bautz A, Murray JC, Olsen J, Christensen K. Cancer risk in persons with oral cleft--a population-based study of 8,093 cases. *American journal of epidemiology.* 2005;161(11):1047-55.
186. Martelli-Junior H, Porto LV, Martelli DR, Bonan PR, Freitas AB, Della Coletta R. Prevalence of nonsyndromic oral clefts in a reference hospital in the state of Minas Gerais, Brazil, between 2000-2005. *Braz Oral Res.* 2007;21(4):314-7.
187. Sperber GH. Cleft lip and palate: from origin to treatment. In: Wyszynski DF. ed. New York: Oxford University Press; 2002.
188. Thomason HA, Dixon MJ. Craniofacial Defects and Cleft Lip and Palate. *Encyclopedia of Life Sciences.* 2009.
189. Cobourne MT. Construction for the modern head: current concepts in craniofacial development. *J Orthod.* 2000;27(4):307-14.
190. Trainor PA, Krumlauf R. Hox genes, neural crest cells and branchial arch patterning. *Curr Opin Cell Biol.* 2001;13(6):698-705.
191. Kerrigan JJ, Mansell JP, Sengupta A, Brown N, Sandy JR. Palatogenesis and potential mechanisms for clefting. *J R Coll Surg Edinb.* 2000;45(6):351-8.
192. Jiang R, Bush JO, Lidral AC. Development of the upper lip: morphogenetic and molecular mechanisms. *Dev Dyn.* 2006;235(5):1152-66.
193. Molina-Solana R, Yanez-Vico RM, Iglesias-Linares A, Mendoza-Mendoza A, Solano-Reina E. Current concepts on the effect of environmental factors on cleft lip and palate. *International journal of oral and maxillofacial surgery.* 2013;42(2):177-84.

194. Jahanbin A, Shadkam E, Miri HH, Shirazi AS, Abtahi M. Maternal Folic Acid Supplementation and the Risk of Oral Clefts in Offspring. *J Craniofac Surg*. 2018;29(6):e534-e41.
195. Li S, Chao A, Li Z, Moore CA, Liu Y, Zhu J, et al. Folic acid use and nonsyndromic orofacial clefts in China: a prospective cohort study. *Epidemiology*. 2012;23(3):423-32.
196. Li Z, Liu J, Ye R, Zhang L, Zheng X, Ren A. Maternal passive smoking and risk of cleft lip with or without cleft palate. *Epidemiology*. 2010;21(2):240-2.
197. Julian Little, Amanda Cardy, Munger RG. Tobacco smoking and oral clefts: a meta-analysis. *Bulletin of the World Health Organization* 2004. p. 213-7.
198. Wyszynski DF, Duffy DL, Beaty TH. Maternal cigarette smoking and oral clefts: a meta-analysis. *The Cleft palate-craniofacial journal : official publication of the American Cleft Palate-Craniofacial Association*. 1997;34(3):206-10.
199. Bille C, Olsen J, Vach W, Knudsen VK, Olsen SF, Rasmussen K, et al. Oral clefts and life style factors--a case-cohort study based on prospective Danish data. *Eur J Epidemiol*. 2007;22(3):173-81.
200. Stott-Miller M, Heike CL, Kratz M, Starr JR. Increased risk of orofacial clefts associated with maternal obesity: case-control study and Monte Carlo-based bias analysis. *Paediatr Perinat Epidemiol*. 2010;24(5):502-12.
201. Munger RG, Tamura T, Johnston KE, Feldkamp ML, Pfister R, Carey JC. Plasma zinc concentrations of mothers and the risk of oral clefts in their children in Utah. *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol*. 2009;85(2):151-5.
202. Shahrukh Hashmi S, Gallaway MS, Waller DK, Langlois PH, Hecht JT, National Birth Defects Prevention S. Maternal fever during early pregnancy and the risk of oral clefts. *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol*. 2010;88(3):186-94.
203. Boyles AL, DeRoo LA, Lie RT, Taylor JA, Jugessur A, Murray JC, et al. Maternal alcohol consumption, alcohol metabolism genes, and the risk of oral clefts: a population-based case-control study in Norway, 1996-2001. *American journal of epidemiology*. 2010;172(8):924-31.
204. Bell JC, Raynes-Greenow C, Turner RM, Bower C, Nassar N, O'Leary CM. Maternal alcohol consumption during pregnancy and the risk of orofacial clefts in infants: a systematic review and meta-analysis. *Paediatr Perinat Epidemiol*. 2014;28(4):322-32.
205. Yin X, Li J, Li Y, Zou S. Maternal alcohol consumption and oral clefts: a meta-analysis. *The British journal of oral & maxillofacial surgery*. 2019;57(9):839-46.
206. Boyles AL, Wilcox AJ, Taylor JA, Meyer K, Fredriksen A, Ueland PM, et al. Folate and one-carbon metabolism gene polymorphisms and their associations with oral facial clefts. *Am J Med Genet A*. 2008;146A(4):440-9.
207. Ito K, Hanaoka T, Tamura N, Sasaki S, Miyashita C, Araki A, et al. Association Between Maternal Serum Folate Concentrations in the First Trimester and the Risk of Birth Defects: The Hokkaido Study of Environment and Children's Health. *J Epidemiol*. 2019;29(4):164-71.
208. Bufalino A, Ribeiro Paranaiba LM, Nascimento de Aquino S, Martelli-Junior H, Oliveira Swerts MS, Coletta RD. Maternal polymorphisms in folic acid metabolic genes are associated with nonsyndromic cleft lip and/or palate in the Brazilian population. *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol*. 2010;88(11):980-6.

209. Rozendaal AM, van Essen AJ, te Meerman GJ, Bakker MK, van der Biezen JJ, Goorhuis-Brouwer SM, et al. Periconceptional folic acid associated with an increased risk of oral clefts relative to non-folate related malformations in the Northern Netherlands: a population based case-control study. *Eur J Epidemiol.* 2013;28(11):875-87.
210. Ibarra-Lopez JJ, Duarte P, Antonio-Vejar V, Calderon-Aranda ES, Huerta-Beristain G, Flores-Alfaro E, et al. Maternal C677T MTHFR polymorphism and environmental factors are associated with cleft lip and palate in a Mexican population. *J Investig Med.* 2013;61(6):1030-5.
211. Little J, Cardy A, Munger RG. Tobacco smoking and oral clefts: a meta-analysis. *Bull World Health Organ.* 2004;82(3):213-8.
212. Saleem K, Zaib T, Sun W, Fu S. Assessment of candidate genes and genetic heterogeneity in human non syndromic orofacial clefts specifically non syndromic cleft lip with or without palate. *Heliyon.* 2019;5(12):e03019.
213. Ludwig KU, Bohmer AC, Bowes J, Nikolic M, Ishorst N, Wyatt N, et al. Imputation of orofacial clefting data identifies novel risk loci and sheds light on the genetic background of cleft lip +/- cleft palate and cleft palate only. *Hum Mol Genet.* 2017;26(4):829-42.
214. Leslie EJ, Carlson JC, Shaffer JR, Butali A, Buxo CJ, Castilla EE, et al. Genome-wide meta-analyses of nonsyndromic orofacial clefts identify novel associations between FOXE1 and all orofacial clefts, and TP63 and cleft lip with or without cleft palate. *Human genetics.* 2017;136(3):275-86.
215. Aylward A, Cai Y, Lee A, Blue E, Rabinowitz D, Haddad J, Jr., et al. Using Whole Exome Sequencing to Identify Candidate Genes With Rare Variants In Nonsyndromic Cleft Lip and Palate. *Genet Epidemiol.* 2016;40(5):432-41.
216. da Silva HPV, Oliveira GHM, Ururahy MAG, Bezerra JF, de Souza KSC, Bortolin RH, et al. Application of high-resolution array platform for genome-wide copy number variation analysis in patients with nonsyndromic cleft lip and palate. *J Clin Lab Anal.* 2018;32(6):e22428.
217. Wang M, Pan Y, Zhang Z, Wang L. Three polymorphisms in IRF6 and 8q24 are associated with nonsyndromic cleft lip with or without cleft palate: evidence from 20 studies. *Am J Med Genet A.* 2012;158A(12):3080-6.
218. Birnbaum S, Ludwig KU, Reutter H, Herms S, de Assis NA, Diaz-Lacava A, et al. IRF6 gene variants in Central European patients with non-syndromic cleft lip with or without cleft palate. *Eur J Oral Sci.* 2009;117(6):766-9.
219. Beaty TH, Murray JC, Marazita ML, Munger RG, Ruczinski I, Hetmanski JB, et al. A genome-wide association study of cleft lip with and without cleft palate identifies risk variants near MAFB and ABCA4. *Nat Genet.* 2010;42(6):525-9.
220. Leslie EJ, Carlson JC, Shaffer JR, Feingold E, Wehby G, Laurie CA, et al. A multi-ethnic genome-wide association study identifies novel loci for non-syndromic cleft lip with or without cleft palate on 2p24.2, 17q23 and 19q13. *Hum Mol Genet.* 2016;25(13):2862-72.
221. Assis Machado R, de Toledo IP, Martelli-Junior H, Reis SR, Neves Silva Guerra E, Coletta RD. Potential genetic markers for nonsyndromic oral clefts in the Brazilian population: A systematic review and meta-analysis. *Birth Defects Res.* 2018;110(10):827-39.
222. Zuccherro TM, Cooper ME, Maher BS, Daack-Hirsch S, Nepomuceno B, Ribeiro L, et al. Interferon regulatory factor 6 (IRF6) gene variants and the risk of isolated cleft lip or palate. *N Engl J Med.* 2004;351(8):769-80.

223. Sivertsen A, Wilcox AJ, Skjaerven R, Vindenes HA, Abyholm F, Harville E, et al. Familial risk of oral clefts by morphological type and severity: population based cohort study of first degree relatives. *BMJ*. 2008;336(7641):432-4.
224. Beaty TH, Ruczinski I, Murray JC, Marazita ML, Munger RG, Hetmanski JB, et al. Evidence for gene-environment interaction in a genome wide study of nonsyndromic cleft palate. *Genet Epidemiol*. 2011;35(6):469-78.
225. Mertens AC, Wen W, Davies SM, Steinbuch M, Buckley JD, Potter JD, et al. Congenital abnormalities in children with acute leukemia: a report from the Children's Cancer Group. *J Pediatr*. 1998;133(5):617-23.
226. Bjorge T, Cnattingius S, Lie RT, Tretli S, Engeland A. Cancer risk in children with birth defects and in their families: a population based cohort study of 5.2 million children from Norway and Sweden. *Cancer epidemiology, biomarkers & prevention : a publication of the American Association for Cancer Research, cosponsored by the American Society of Preventive Oncology*. 2008;17(3):500-6.
227. Botto LD, Flood T, Little J, Fluchel MN, Krikov S, et al. e. Cancer Risk in Children and Adolescents with Birth Defects: A Population-Based Cohort Study. *PloS one*. 2013;8.
228. Bui AH, Ayub A, Ahmed MK, Taioli E, Taub PJ. Association Between Cleft Lip and/or Cleft Palate and Family History of Cancer: A Case-Control Study. *Annals of plastic surgery*. 2018;80(4 Suppl 4):S178-S81.
229. Vieira AR, Khaliq S, Lace B. Risk of cancer in relatives of children born with isolated cleft lip and palate. *Am J Med Genet A*. 2012;158A(6):1503-4.
230. Menezes R, Marazita ML, Goldstein McHenry T, Cooper ME, Bardi K, Brandon C, et al. *AXIS* inhibition protein 2, orofacial clefts and a family history of cancer. *Journal of the American Dental Association (1939)*. 2009;140(1):80-4.
231. Goncalves E, Martelli DR, Coletta RD, Vieira AR, Caldeira AP, Martelli H, Jr. Risk of leukemia in first degree relatives of patients with nonsyndromic cleft lip and palate. *Braz Oral Res*. 2014;28:1-3.
232. De Alvarenga Diniz Fonseca C, Reis Barbosa Martelli D, Freitas Almeida IL, Hassen Sales G, Soares de Andrade R, Oliveira Dias V, et al. Absence of history of oral cleft in first-degree relatives of patients with prostate cancer. *Dentistry 3000*. 2019;7(1).
233. Lima LS, Silverio Mde O, Swerts MS, Aquino SN, Martelli DR, Martelli-Junior H. Frequency of cancer in first-degree relatives of patients with cleft lip and/or palate in the Brazilian population. *Brazilian dental journal*. 2013;24(3):200-3.
234. Dietz A, Pedersen DA, Jacobsen R, Wehby GL, Murray JC, Christensen K. Risk of breast cancer in families with cleft lip and palate. *Annals of epidemiology*. 2012;22(1):37-42.
235. Andrade Filho PA, Letra A, Cramer A, Prasad JL, Garlet GP, Vieira AR, et al. Insights from studies with oral cleft genes suggest associations between WNT-pathway genes and risk of oral cancer. *Journal of dental research*. 2011;90(6):740-6.
236. de Freitas EM, Machado RA, de Moura Santos E, de Matos FR, Galvao HC, Miranda Soares PB, et al. Polymorphisms associated with oral clefts as potential susceptibility markers for oral and breast cancer. *Archives of oral biology*. 2019;99:9-14.

237. Frebourg T, Oliveira C, Hochain P, Karam R, Manouvrier S, Graziadio C, et al. Cleft lip/palate and CDH1/E-cadherin mutations in families with hereditary diffuse gastric cancer. *Journal of medical genetics*. 2006;43(2):138-42.
238. Machado RA, de Freitas EM, de Aquino SN, Martelli DR, Swerts MS, Reis SR, et al. Clinical relevance of breast and gastric cancer-associated polymorphisms as potential susceptibility markers for oral clefts in the Brazilian population. *BMC medical genetics*. 2017;18(1):39.
239. Obermair F, Rammer M, Burghofer J, Malli T, Schossig A, Wimmer K, et al. Cleft lip/palate and hereditary diffuse gastric cancer: report of a family harboring a CDH1 c.687 + 1G > A germline mutation and review of the literature. *Familial cancer*. 2019;18(2):253-60.
240. Song Y, Zhang S. Association of CDH1 promoter polymorphism and the risk of non-syndromic orofacial clefts in a Chinese Han population. *Archives of oral biology*. 2011;56(1):68-72.
241. Li S, Wang C, Liu X, Hua S, Liu X. The roles of AXIN2 in tumorigenesis and epigenetic regulation. *Familial cancer*. 2015;14(2):325-31.
242. Wang SH, Li N, Wei Y, Li QR, Yu ZP. beta-catenin deacetylation is essential for WNT-induced proliferation of breast cancer cells. *Mol Med Rep*. 2014;9(3):973-8.
243. Wang X, Goode EL, Fredericksen ZS, Vierkant RA, Pankratz VS, Liu-Mares W, et al. Association of genetic variation in genes implicated in the beta-catenin destruction complex with risk of breast cancer. *Cancer epidemiology, biomarkers & prevention : a publication of the American Association for Cancer Research, cosponsored by the American Society of Preventive Oncology*. 2008;17(8):2101-8.
244. Jiang B, Zhu K, Shao H, Bao C, Ou J, Sun W. Lack of association between the CDH1 polymorphism and gastric cancer susceptibility: a meta-analysis. *Sci Rep*. 2015;5:7891.
245. van der Post RS, Vogelaar IP, Carneiro F, Guilford P, Huntsman D, Hoogerbrugge N, et al. Hereditary diffuse gastric cancer: updated clinical guidelines with an emphasis on germline CDH1 mutation carriers. *Journal of medical genetics*. 2015;52(6):361-74.
246. Park K, Kim K, Rho SB, Choi K, Kim D, Oh SH, et al. Homeobox Msx1 interacts with p53 tumor suppressor and inhibits tumor growth by inducing apoptosis. *Cancer Res*. 2005;65(3):749-57.
247. Sagorny K, Chapellier M, Laperrousaz B, Maguer-Satta V. [BMP and cancer: the Yin and Yang of stem cells]. *Med Sci (Paris)*. 2012;28(4):416-22.
248. Guan Y, Yao H, Zheng Z, Qiu G, Sun K. MiR-125b targets BCL3 and suppresses ovarian cancer proliferation. *International journal of cancer*. 2011;128(10):2274-83.
249. Wang H, Qiu T, Shi J, Liang J, Wang Y, Quan L, et al. Gene expression profiling analysis contributes to understanding the association between non-syndromic cleft lip and palate, and cancer. *Mol Med Rep*. 2016;13(3):2110-6.
250. Chiquet BT, Blanton SH, Burt A, Ma D, Stal S, Mulliken JB, et al. Variation in WNT genes is associated with non-syndromic cleft lip with or without cleft palate. *Hum Mol Genet*. 2008;17(14):2212-8.
251. Cardoso ML, Bezerra JF, Oliveira GH, Soares CD, Oliveira SR, de Souza KS, et al. MSX1 gene polymorphisms in non-syndromic cleft lip and/or palate. *Oral diseases*. 2013;19(5):507-12.

252. Dunkhase E, Ludwig KU, Knapp M, Skibola CF, Figueiredo JC, Hosking FJ, et al. Nonsyndromic cleft lip with or without cleft palate and cancer: Evaluation of a possible common genetic background through the analysis of GWAS data. *Genom Data*. 2016;10:22-9.
253. Maher B. Personal genomes: The case of the missing heritability. *Nature*. 2008;456(7218):18-21.
254. DATASUS. População Residente - Estudo de estimativas populacionais por Município, Idade e Sexo 2000-2019 - Brasil Portal do Saúde Ministério da Saúde/DATASUS Departamento de Informática do SUS, Brasil. DATASUS. Tecnologia da Informação a Serviço do SUS; 2018 [Available from: <http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/deftohtm.exe?popsvs/cnv/popbr.def>].

APÊNDICES

APÊNDICE A – Termo de consentimento livre e esclarecido

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MONTES CLAROS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE
MESTRADO E DOUTORADO

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO PARA PARTICIPAÇÃO EM PESQUISA

Titulo da pesquisa: Relação entre a razão digital 2D:4D, agenesia dental e histórico familiar de fissuras orais em pacientes com câncer de útero e/ou ovário.

Instituição promotora: Universidade Estadual de Montes Claros – UNIMONTES/MG.

Coordenador: Prof. Dr. Hercilio Martelli Júnior.

Atenção: Antes de aceitar participar ou autorizar a participação nessa pesquisa, é importante que você leia e compreenda a seguinte explicação sobre os procedimentos propostos. Essa declaração descreve o objetivo, metodologia/procedimentos, justificativa, benefícios, desconfortos e riscos e danos do estudo. Também descreve os procedimentos alternativos que estão disponíveis a você e o seu direito de sair do estudo a qualquer momento. Nenhuma garantia ou promessa pode ser feita sobre os resultados do estudo.

1-Objetivo: Avaliar a relação da razão digital 2D:4D e da agenesia dental em pacientes com câncer uterino e/ou de ovário e a ocorrência de fissura labial e/ou palatina em familiares de primeiro grau dessas pacientes.

2-Metodologia/procedimentos: Serão aplicados questionários ao final do atendimento clínico abordando aspectos relativos a informações sócio-demográficas e história pessoal de agenesia dental e familiar de fissura labial e ou palatina não síndrômica em parentes de 1º grau e mensurados com paquímetro os dedos indicador e anelar de ambas as mãos.

3-Justificativa: O desenvolvimento de estudos que busquem conhecer melhor a etiologia de doenças e agravos por meio da identificação dos fatores associados à ocorrência dos mesmos é justificado uma vez tais resultados podem servir de subsídio para sua prevenção.

4-Benefícios: Os resultados irão proporcionar um melhor conhecimento da etiopatogênese das fissuras labiopalatais, contribuindo para a prevenção de novos casos.

5-Desconfortos e riscos: Será realizada a medição do comprimento dos dedos indicador e anelar das mãos direita e esquerda, através de um paquímetro. Este exame não oferece qualquer risco aos mesmos, porém caso haja algum incômodo ou similar, os examinadores estarão prontamente atentos e à disposição para suspensão do exame e qualquer intervenção clínica necessária para o completo bem estar dos sujeitos da pesquisa. As entrevistas podem causar algum desconforto psicológico, que será minimizado mediante o treinamento do entrevistador. A Avaliação clínica dental não apresenta riscos e nos casos que houver necessidade de complementação da avaliação com a radiografia odontológica será utilizada técnica digital para que a dose de radiação envolvida seja ainda menor, quando comparado aos exames médicos em geral.

6-Danos: Não existem.

7-Metodologia/procedimentos alternativos disponíveis: Não existem.

8-Confidencialidade das informações: Os dados individuais não serão divulgados em nenhuma hipótese.

9-Compensação/indenização: Não se aplica.

10-Outras informações pertinentes: Não existem.

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MONTES CLAROS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE
MESTRADO E DOUTORADO

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO PARA PARTICIPAÇÃO EM PESQUISA

11- Consentimento: Li e entendi as informações precedentes. Tive oportunidade de fazer perguntas e todas as minhas dúvidas foram respondidas a contento. Este formulário está sendo assinado voluntariamente por mim, indicando meu consentimento para participar nesta pesquisa, até que eu decida o contrário. Receberei uma cópia assinada deste consentimento.

_____	_____	_____
Nome do participante	Assinatura do Participante	Data
_____	_____	_____
Nome do Coordenador da Pesquisa	Assinatura do Coord. da Pesquisa	Data
_____	_____	_____
Nome da Testemunha	Assinatura da testemunha	Data

APÊNDICE B – Instrumento de coleta de dados na entrevista

Prezada Senhora, com o objetivo de determinar a proporção entre o segundo e quarto dígitos das mãos, a frequência de agenesia dentária e fissura labial e/ou palatina não sindrômica em familiares de pacientes (primeiro grau: pai, mãe, filho e irmãos) com histórico de câncer de útero ou ovário, a Universidade Estadual de Montes Claros está realizando a pesquisa intitulada “Relação entre a razão digital 2D:4D, agenesia dentária e história familiar de fissuras orais em pacientes com câncer de útero ou ovário”. A senhora pode participar respondendo a este questionário que dura cerca de 10 minutos? SIM__ ou NÃO__

1. Nome:		
2. Tipo de Câncer: 0. Ovário () 1. Colo de útero () 2. Corpo do útero () 3. Não tem história ()	3. Local Atendimento: 	5. Data da Entrevista: ____ / ____ / ____
	4. N° Prontuário: 	6. Data Nascimento: ____ / ____ / ____ Idade () anos
7. Nacionalidade: 0. Brasileiro (); 1. Outra nacionalidade () _____		
8. Naturalidade: 	0. Montes Claros (); 1. Outra () _____	
9. Cor da pele: 	0. Leucoderma (); 1. Xantoderma (); 2. Melanoderma (); 3. Feoderma ().	
10. Consanguinidade entre os pais? 	0. Sim (); 1. Não (); 2. Não se aplica (); 99. Não sabe informar ().	
11. Histórico de outro tipo de câncer? 	0. Sim () 1. Não () 2. Não se aplica (); 99. Não sabe informar ().	
12. Tem histórico de fissura labial e/ou palatina não-sindrômica (FL/PNS) na família? 	0. Sim () 1. Não () 99. Não sabe informar ().	
13. Se tem histórico positivo para FL/PNS, especifique o grau de parentesco. 	0. Pai (); 1. Mãe (); 2. Irmão (a) (); 3. Filho (a) ();	55. Não se aplica (); 99. Não sabe informar (). 999. Outros:

14. Tipo de FL/PNS	0. Fissura labial unilateral (); 1. Fissura labial bilateral (); 2. Fissura labiopalatina unilateral (); 3. Fissura labiopalatina bilateral (); 4. Fissura palatina (); 55. Não se aplica (); 99. Não sabe informar ().	
15. Presença de agenesia dentária (is)	0. Sim (); 1. Não (); 99. Não sabe informar ().	
16. Se sim:	0. () ICS 1. () ICI 2. () ILS 3. () ILI 4. () CS 5. () CI 6. () 1° PMS 7. () 1° PMI 8. () 2° PMS 9. () 2° PMI	10. () 1° MS 11. () 1° MI 12. () 2° MS 13. () 2° MI 55. () Não se aplica; 99. () Não sabe informar.
17. Raio X:	0. Sim (); 1. Não ()	
18. Se sim:	0. Ausência de germe () 1. Dente incluso () Qual dente? _____	
19. Relação 2D:4D Primeira medida MÃO DIREITA: Comprimento do dedo indicador: _____ Comprimento de dedo anelar: _____	20. Relação 2D:4D Primeira medida MÃO ESQUERDA: Comprimento do dedo indicador: _____ Comprimento de dedo anelar: _____	
Segunda medida MÃO DIREITA: Comprimento do dedo indicador: _____ Comprimento de dedo anelar: _____	Segunda medida MÃO ESQUERDA: Comprimento do dedo indicador: _____ Comprimento de dedo anelar: _____	

ANEXOS

ANEXO A – Parecer do comitê de ética e pesquisa

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE
MONTES CLAROS -
UNIMONTES



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Relação entre a razão digital 2D:4D, agenesia dental e histórico familiar de fissuras orais em pacientes com câncer de útero e/ou ovário.

Pesquisador: Hercílio Martelli Junior

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 72445817.3.0000.5146

Instituição Proponente: Universidade Estadual de Montes Claros - UNIMONTES

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 2.227.760

Apresentação do Projeto:

Trata-se de estudo epidemiológico, transversal, caso-controle, que avaliará a correlação entre a razão digital 2D:4D, a ocorrência parental de fissuras labial e/ou palatina e a presença de agenesia dental em pacientes com câncer uterino ou de ovário e no grupo controle. O local do estudo será o serviço de referência em oncologia do

Norte de Minas Gerais. Serão eleitas pacientes com câncer de útero e/ou ovário através da confirmação pelo exame de anatomia patológica e/ou da imunohistoquímica. O grupo controle será composto por mulheres sem histórico pessoal de qualquer tipo de câncer no passado e na atualidade e/ou qualquer quadro sindrômico. O emparelhamento da amostra será por faixa etária e cor na relação de 2:1. Serão coletadas informações de dados sociais, demográficos e clínicos por meio de questionário estruturado e uma figura padrão. A proporção digital será calculada a partir da medição do comprimento dos dedos indicador e anelar através do paquímetro digital. Será realizado o exame clínico intra-bucal da paciente e a confirmação radiológica panorâmica, quando necessário.

Objetivo da Pesquisa:

Avaliar a relação da razão digital 2D:4D e da agenesia dental em pacientes com câncer uterino ou de ovário e a ocorrência de fissura labial e/ou palatina em familiares de primeiro grau dessas

Endereço: Av. Dr. Rui Braga s/n-Camp Univers Prof^o Darcy Rib
Bairro: Vila Mauricéia **CEP:** 39.401-089
UF: MG **Município:** MONTES CLAROS
Telefone: (38)3229-8180 **Fax:** (38)3229-8103 **E-mail:** smelocosta@gmail.com

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE
MONTES CLAROS -
UNIMONTES



Continuação do Parecer: 2.227.760

pacientes.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos:

Os procedimentos das entrevistas e medição digital podem causar desconforto, que será minimizado mediante o treinamento do entrevistador. Em caso de necessidade da tomada radiográfica será utilizada a técnica digital para que a dose de radiação seja ainda menor, quando comparada aos exames médicos em geral.

Benefícios:

Os resultados poderão fornecer evidências adicionais da identificação de biomarcadores, no caso da razão digital 2D:4D, como fatores preditivos para o risco de desenvolvimento de câncer e favorecer a proposição do uso de um método barato e de fácil aplicação que auxilie no desenvolvimento de estratégias em programas de rastreamento de câncer.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Pesquisa relevante para melhor elucidar a relação entre razão digital 2D:4D, agenesia dental em pacientes com câncer uterino ou de ovário e a ocorrência de fissura labial e/ou palatina.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Adequados.

Recomendações:

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

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Aprovado.

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.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_P	02/08/2017		Aceito

Endereço: Av. Dr Rui Braga s/n-Camp Univers Prof^o Darcy Rib
Bairro: Vila Mauricéia **CEP:** 39.401-089
UF: MG **Município:** MONTES CLAROS
Telefone: (38)3229-8180 **Fax:** (38)3229-8103 **E-mail:** smeloocosta@gmail.com

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE
MONTES CLAROS -
UNIMONTES



Continuação do Parecer: 2.227.760

Básicas do Projeto	ETO_951805.pdf	13:42:31		Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLEPAG2.pdf	02/08/2017 13:40:06	Hercilio Martelli Junior	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLEPAG1.pdf	02/08/2017 13:37:31	Hercilio Martelli Junior	Aceito
Folha de Rosto	FOLHADEROSTOASSINADA.pdf	02/08/2017 13:21:51	Hercilio Martelli Junior	Aceito
Outros	ANEXO.pdf	28/06/2017 13:05:37	Hercilio Martelli Junior	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	PROJETODOUTORADOCLAUDIADINIZ.pdf	28/06/2017 12:55:49	Hercilio Martelli Junior	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

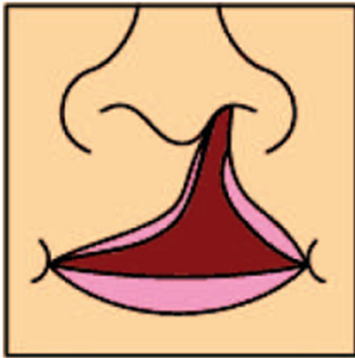
MONTES CLAROS, 18 de Agosto de 2017

Assinado por:

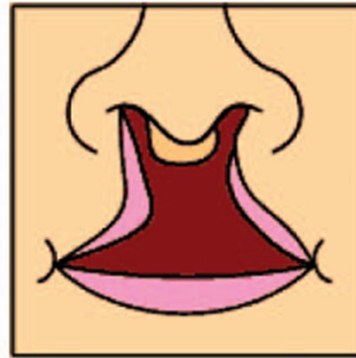
SIMONE DE MELO COSTA
(Coordenador)

Endereço: Av. Dr Rui Braga s/n-Camp Univers Profº Darcy Rib
Bairro: Vila Maurícioa CEP: 39.401-089
UF: MG Município: MONTES CLAROS
Telefone: (38)3229-8180 Fax: (38)3229-8103 E-mail: smeloocosta@gmail.com

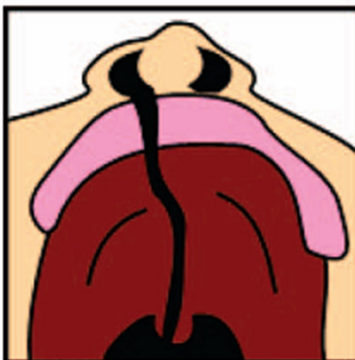
ANEXO B – Figura padrão ilustrativa das fissurais orais



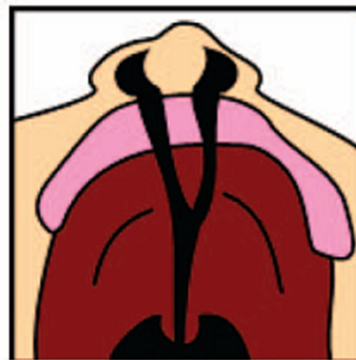
Fissura labial, unilateral



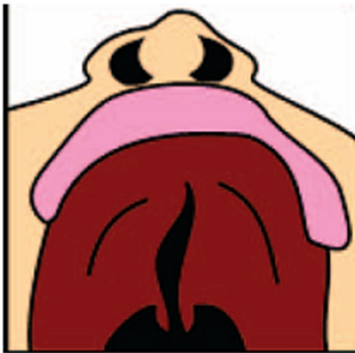
Fissura labial, bilateral



Fissura labiopalatina, unilateral



Fissura labiopalatina, bilateral



Fissura palatina

Fonte: Taioli *et al.*, 2004