



Universidad
Nacional
de Córdoba



UNIVERSIDAD NACIONAL DE CÓRDOBA

FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

ESCUELA DE POSGRADO

**“POLIMORFISMOS GENÉTICOS COMO FACTORES DE
RIESGO EN PACIENTES CON DESÓRDENES
POTENCIALMENTE MALIGNOS Y CÁNCER BUCAL”**

TESISTA:

OD. VICTORIANO ANDRÉS CARRICA

DIRECTOR:

PROF. DRA. ANA MARÍA ZÁRATE

CÓRDOBA, 2020



Esta obra está bajo una [Licencia Creative Commons Atribución-
NoComercial-CompartirIgual 4.0 Internacional](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/).



UNIVERSIDAD NACIONAL DE CÓRDOBA
FACULTAD DE ODONTOLOGÍA
ESCUELA DE POSGRADO

Trabajo de tesis para optar al título de Doctor en Odontología

POLIMORFISMOS GENÉTICOS COMO FACTORES DE RIESGO EN PACIENTES CON DESÓRDENES POTENCIALMENTE MALIGNOS Y CÁNCER BUCAL

Tesista: Od. Carrica Victoriano Andrés.

Director de tesis: Prof. Dra. Ana María Zárate.

Co-Director: Prof. Dr. Eduardo David Piemonte

Año 2020

Comisión De Seguimiento De Tesis (Res HCD 238/2017)

Prof. Dra. Morelatto, Rosana (Fac. de Odontología UNC)

Prof. Dr. Fonseca, Ismael (Fac. de Cs. Médicas UNC)

Jurado De Tesis (Res HCD 392/2019)

Prof. Dra. Morelatto, Rosana (Fac. de Odontología UNC)

Prof. Dr. Fonseca, Ismael (Fac. de Cs. Médicas UNC)

Prof. Dra. González Ma. Mercedes (Fac. de Odontología UNNE)

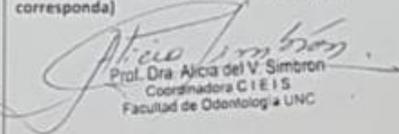
DEDICATORIA

A mis padres por todo lo que me brindaron en la vida
A mis sobrinos y alumnos ellos son el futuro al que dedico este trabajo.

AGRADECIMIENTOS

- ✓ A mi familia, por la comprensión y su apoyo en todo.
- ✓ A mi padre, por motivarme y guiarme en el camino de la Estomatología.
- ✓ A mi Mujer, por ayudarme y apoyarme en forma incondicional.
- ✓ A la Dra. Ana María Zarate, mi directora, por su generosidad al brindarme la oportunidad de compartir su capacidad y experiencia para poder concretar este trabajo.
- ✓ A mis compañeros de la Catedra de Estomatología A y B, por el apoyo incondicional.
- ✓ Al Dr. Dante Gustavo Secchi, Ricardo Caciva y Ángel talavera por su generosidad y guía en este arduo camino de la Estomatología.
- ✓ A mi Codirector Dr. Eduardo Piemonte por su ayuda y por ser guía durante el desarrollo de este trabajo.
- ✓ A la Doctora Mabel Brunotto, por sus correcciones y sugerencias.
- ✓ A la Dra. Morelatto Rosana por ser incondicional y prestar su ayuda en cualquier momento.
- ✓ A los miembros del Tribunal y Jurado de Tesis, por su permanente buena disposición y sus correcciones bien intencionadas que dieron brillo a este trabajo.
- ✓ A los alumnos que son los que me impulsan a seguir en formación permanente.
- ✓ A los pacientes que han sido parte de este trabajo.
- ✓ A todos los que en mayor o menor manera han aportado y ayudado para poder realizar dicho trabajo.
- ✓ Pero sin lugar a dudas, esta tesis doctoral es el resultado de un generoso trabajo en equipo. Generosidad de mis jefes, René Panico y Eduardo Piemonte; y de absolutamente todos mis compañeros de trabajo de la Cátedra de Estomatología "A". Generosidad de los Profesoras Silvia López de Blanc y Mabel Brunotto, que junto con sus colaboradores me abrieron las puertas de las Cátedras de Estomatología "B", Biología Celular "A" y el servicio de prevención, diagnóstico precoz y tratamiento de las enfermedades de la mucosa bucal permitiendo de esta manera, realizar un trabajo integrador. Y, por sobre todo, a la generosidad de la Dra. Ana María Zarate, Directora de esta Tesis, confió en mí para desarrollar este proyecto y estuvo siempre apoyándome con sus conocimientos.

CERTIFICADO DEL COMITÉ DE ÉTICA

			COMITÉ INSTITUCIONAL DE ETICA EN INVESTIGACION EN SALUD (CIEIS) FACULTAD DE ODONTOLOGIA. UNC	
ODO CAI-CIEIS N°:	17 T			
Título del Proyecto	Polimorfismos genéticos como factores de riesgo en pacientes con desórdenes potencialmente malignos y cáncer oral.			
Investigador responsable	Victoriano Andrés Carrica			
Trabajo Patrocinado	Describir brevemente: No es patrocinado.			
Investigación en personas no vulnerables.	Describir brevemente:			
Material biológico de origen humano.	El objetivo de este trabajo es determinar entre los polimorfismos de genes relacionados a la proliferación celular, al metabolismo de los carcinógenos y el desarrollo de desórdenes orales potencialmente malignos y cáncer bucal.			
Evaluación del Comité Institucional de Investigación en Salud	Resultado Evaluación:	Se le dio el Visto Bueno para ser evaluado por el CIEIS.		
		Fecha: 09/03/2017		
Resolución Final:				
<p>El CIEIS-Facultad de Odontología, en reunión plenaria, ha decidido APROBAR el protocolo de referencia, según consta en el Libro de Actas N° 101 con fecha 09 de mayo de 2017.</p> <p>La investigación cumple con las disposiciones y regulaciones provinciales nacionales e internacionales que salvaguardan los derechos de los participantes en la investigación clínica.</p> <p>El investigador responsable deberá notificar a este Comité en los formularios correspondientes:</p> <ul style="list-style-type: none"> • El inicio de la ejecución del estudio dentro de las 72 horas. • El informe de avance de reclutamiento anual en donde se incluirá el estado de progreso del protocolo y cualquier otra situación que modifique el curso de la investigación y/o revista mayor seguridad para los participantes. • Los eventos adversos serios dentro de los 10 días hábiles de ocurrido el evento. • Las enmiendas realizadas en el protocolo de manera oportuna y para su aprobación. • La suspensión o cancelación del estudio de manera inmediata. • El informe de finalización de la investigación. <p>De no cumplimentar con los requisitos solicitados, en un tiempo menor a 3 meses, se comunicará al CoEIS el no cumplimiento de los requisitos éticos necesarios para realizar los estudios planteados en el proyecto.</p>				
 		Firma Coordinador (o en su reemplazo quien corresponda)  Prof. Dra. Alicia del V. Simbrón Coordinadora CIEIS Facultad de Odontología UNC		Lugar y Fecha Córdoba, 09/05/17.
Comité Institucional de Ética en Investigación en Salud FACULTAD DE ODONTOLOGÍA - UNC				

INDICE

Comisión de Tesis	1
Jurado de Tesis	1
Dedicatoria	2
Agradecimientos	3
Certificado de Comité de Ética	4
Índice	5
Abreviaturas	7
Resumen	8
Abstract	10
Introducción	12
Marco Teórico	14
Cáncer Bucal	14
Factores de riesgo de cáncer bucal	14
Edad.....	14
Tabaco.....	15
Clasificación de la intensidad del consumo de tabaco.....	18
Alcohol.....	19
Mecanismo de acción.....	20
Acetaldehído.....	21
Efecto del alcohol en cavidad bucal.....	22
Clasificación de la intensidad del consumo de alcohol.....	23
Efecto conjunto del tabaco y el alcohol.....	25
Exposición a carcinógenos químicos ambientales y laborales.....	26
Polimorfismos genéticos relacionados al metabolismo de xenobióticos.....	28
Citocromo P450.....	29
Polimorfismo de CYP1A1.....	31
Glutación-S-Transferasa (GST).....	32
Polimorfismo de GSTM1.....	33
Proteína supresora de tumores: TP53.....	35
Desórdenes potencialmente malignos.....	38
Hipótesis	42
Objetivos	42
Materiales Y Métodos	42

Aspectos éticos.....	43
Población estudiada.....	43
Criterios de inclusión y exclusión.....	43
Procedimientos clínicos.....	44
Procedimientos de laboratorio.....	45
Aislamiento de ADN y genotipificación.....	46
Estudio de polimorfismos genéticos.....	46
Análisis estadísticos.....	48
Diseño metodológico.....	49
Resultados	50
Discusión	65
Conclusiones.....	72
Referencias bibliográficas.....	73
Producción Científica.....	86
Publicaciones.....	86
Presentaciones a Congresos.....	86
Proyectos de investigación y Financiamiento.....	89
Anexos.....	90
Anexo 1 (Consentimiento Informado).....	90
Anexo 2 (Historia Clínica).	93
Anexo 3 (Diseño Metodológico).....	105

ABREVIATURAS

AA: acetaldehído
ADH: alcohol deshidrogenasa
ADN: ácido desoxirribonucleico
AHH: aril hidrocarburo hidroxilasa
ALDH: acetaldehído deshidrogenasa
ARG: Arginina
BP: benzopirenos
CB: cáncer bucal
CCE: Carcinoma de células escamosas
CYP450: Citocromo P450
CE: Citología Exfoliativa
CYP1A1: Aril hidrocarburo hidroxilasa
DPM: Desórdenes potencialmente malignos
GSH: Glutación reducido
GSTM1: Glutación-s-transferasa
GSTs: Enzimas glutación transferasas
IARC: Agencia internacional para la investigación del cáncer.
IC: Intervalo de confianza.
LVP: Leucoplasia verrugosa proliferativa
MEH: Epóxido hidrolasa microsomal
OMS: Organización Mundial de la Salud.
OR: Odd ratio. Razón de probabilidades.
PAP: Papanicolaou.
PAH: Hidrocarburos aromático policíclicos.
PB: Pares de bases.
PCR: Reacción en Cadena de Polimerasa convencional
Pro: Prolina
Rb: Gen Retinoblastoma
SNP: Polimorfismo de un solo nucleótido
TP53: Gen TP53
VPH: Virus del papiloma humano.

RESUMEN

Introducción: El cáncer bucal forma parte de un importante grupo de patologías denominadas Enfermedades Crónicas no Trasmisibles y se caracteriza por que su prevalencia e incidencia cambia de acuerdo al área geográfica, ambas asociadas a factores genéticos, a hábitos y costumbres propios de cada región o cultura. En países en vías de desarrollo como la Argentina, se enfrentan grandes desafíos por responder al aumento en la tasa de mortalidad y morbilidad de los últimos años y en el tratamiento y cuidados posteriores de pacientes con cáncer en estadios avanzados, considerándose una de las principales causas de muerte. Sin embargo, no existen datos sobre la composición genética y las investigaciones sobre este tema podrían aportar conocimientos que mejoren las estrategias de prevención y reduzcan los costes de su tratamiento.

El presente estudio investiga si los polimorfismos relacionados al metabolismo de los carcinógenos y a la proliferación celular, actúan como factores de riesgo para los desórdenes potencialmente malignos (DPM) y el cáncer bucal (CB).

Objetivo: Investigar si los polimorfismos en el gen CYP1A1 y GSTM1 asociados al metabolismo de los xenobióticos y el gen TP53, asociado a la proliferación celular, actúan como factores de riesgo favoreciendo el desarrollo de DPM y CB; y a la vez determinar si el hábito del tabaquismo y el consumo de alcohol en presencia de estos mismos polimorfismos aumentan la probabilidad de estas patologías.

Material y métodos: Se estudiaron pacientes de ambos sexos, mayores de 18 años (n=140) con diagnóstico de CB, DPM y un grupo control constituido por pacientes que asistieron por demanda espontánea a la Cátedra de Estomatología "A" de la Facultad de Odontología de la UNC en el período 2016-2019. Se realizó aislamiento de ADN a partir citologías exfoliativas de mucosa clínicamente sana. Con una de las muestras se realizó un extendido citológico y se lo tiñó con coloración de PAP, para corroborar que la mucosa estuviera sana, la otra muestra se guardó en tubos Eppendorff estériles, en freezer a -20°C hasta su utilización para extracción de ADN y posterior aplicación de técnica de PCR convencional para los polimorfismos de los genes TP53 y GSTM1 y por RFLP-PCR utilizando enzima de restricción Msl para los polimorfismos de CYP1A1, utilizando los primers correspondientes. *Análisis estadísticos:* Los datos categóricos se describieron por frecuencias absolutas y relativas. Se realizó prueba de Fisher, Análisis de Correspondencia Múltiple y Regresión logística.

Resultados: En el presente estudio se observó un porcentaje significativamente mayor

de hombres (65.9%) en pacientes diagnosticados con CB ($p = 0.026$); las mujeres fueron mayoría no significativa en pacientes diagnosticados con DPM (62.3%). La lengua fue el área anatómica de más frecuente de aparición de CB y la mucosa yugal fue el lugar más frecuente de DPM.

En la población de estudio, en relación al polimorfismo del gen TP53 encontramos altas frecuencias del alelo G, coincidiendo con estudios anteriores realizados en poblaciones caucásicas y con estudios de Argentina en Córdoba (propio) y en Buenos Aires y otras regiones del país. El alelo C (variante mutada) está relacionado con CB y DPM principalmente por el aumento del genotipo heterocigota. Para el polimorfismo CYP1A1 no se encontró asociación significativa con el CB pero sí con los DPM. Para GSTM1 null se encontró una asociación estadísticamente significativa para el grupo con CB, y en el grupo de los DPM no se encontró asociación pero si un aumento en su frecuencia en relación al grupo control, donde se observó mayor frecuencia para el genotipo no null. Se encontró un patrón de asociación entre el CB y el alelo T (*wild type*) de CYP1A1. Los DPM se relacionan con el alelo C de CYP1A1, con el alelo null del gen GSTM1 (variante mutada), con los hábitos de fumar y consumo de alcohol la presencia del alelo C (variante mutada) del TP53, mientras que el grupo control mostró un patrón de relación con el alelo G de TP53.

La presencia de las variantes polimórficas de los polimorfismos de un solo nucleótido (SNPs) estudiados y el hábito de fumar fueron los dos factores asociados con el desarrollo de DPM.

Conclusiones: Nuestros resultados coinciden con los estudios realizados en poblaciones caucásicas; se sabe que existe una relación de SNP con la distribución geográfica. Estos estudios tienen beneficios potenciales al permitir la identificación de biomarcadores predictivos y grupos con mayor riesgo de CB y DPM para la implementación de una variedad de estrategias de atención médica. Sin embargo aún es necesario realizar estudios adicionales que incluyan un mayor número de pacientes y en diferentes regiones de Argentina.

Palabras clave. Polimorfismo, TP53, CYP1A1, GSTM1, cáncer bucal, desórdenes potencialmente malignos, tabaco, alcohol.

ABSTRACT

Introduction: Oral cancer (OC) is part of an important group of pathologies called Non-Communicable Chronic Diseases and is characterized by the fact that its prevalence and incidence change according to the geographical area, associated with genetic factors, habits and customs of each region or culture. In developing countries such as Argentina, great challenges are faced in responding to the increase in the mortality and morbidity rate of the latter; however, there is no data on the genetic composition of the population that suffers from this disease, thus research on this topic could provide knowledge to improve prevention strategies and reduce treatment costs.

The present study investigates whether polymorphisms related to carcinogen metabolism and cell proliferation act as risk factors for potentially malignant disorders (PMD) and OC.

Objective: To investigate whether the polymorphisms in the CYP1A1 and GSTM1 genes associated with xenobiotic metabolism and the TP53 gene, related to cell proliferation, act as risk factors favoring the development of PMD and BC; and at the same time to determine if smoking and alcohol consumption in the presence of these same SNPs increase the probability of these pathologies.

Material and methods: It was studied patients of both sexes, older than 18 years (n = 140) with diagnosis of OC or PMD and a control group. Patients were attended by spontaneous request in the Chair of Stomatology "A" of the Faculty of Dentistry, Universidad Nacional de Córdoba, in the period 2016-2019. Two exfoliative cytologies of clinically healthy mucosa were performed. A cytological smear was made with one of the samples and it was stained with PAP staining, to confirm that the mucosa was healthy; the other sample was stored in sterile Eppendorff tubes, in a freezer at -20°C until its use for DNA extraction and subsequent application of the conventional PCR technique for the polymorphisms of the TP53 and GSTM1 genes and the RFLP-PCR technique using restriction enzyme MspI for the CYP1A1 polymorphisms, using the corresponding primers. **Statistical analysis:** Categorical data were described by absolute and relative frequencies. Fisher's test, Multiple Correspondence Analysis and logistic regression were performed.

Results: In the present study, a significantly higher percentage of men (65.9%) was observed in patients diagnosed with BC (p = 0.026); women were a non-significant majority in patients diagnosed with MPD (62.3%). The tongue was the anatomical area with the most frequent appearance of CB and the jugal mucosa was the most frequent site of PMD.

In the study population, in relation to the polymorphism of the TP53 gene, we found high frequencies of the G allele, coinciding with previous studies carried out in Caucasian

populations and with studies in Argentina in Córdoba and in Buenos Aires and other regions of the country. The C allele (mutated variant) is related to OC and PMD mainly due to the increase in the heterozygous genotype. For the CYP1A1 polymorphism, no significant association was found with OC but it was with PMD. For GSTM1 null, a statistically significant association was found for the group with OC, and in the group of PMD, no association was found, but an increase in its frequency in relation to the control group, where a higher frequency was observed for the non-null genotype. A pattern of association was found between OC and the T (wild type) allele of CYP1A1. The PMD are related to the C allele of CYP1A1, with the null allele of the GSTM1 gene (mutated variant), with smoking and alcohol consumption the presence of the C allele (mutated variant) of TP53, while the control group showed a pattern of relationship with the G allele of TP53.

The presence of polymorphic variants of the single nucleotide polymorphisms (SNPs) studied and smoking were the two factors associated with the development of PMD.

Conclusions: Our results coincide with the studies carried out in Caucasian populations; a SNP relationship with geographic distribution is known to exist. These studies have potential benefits in allowing the identification of predictive biomarkers and groups at increased risk of OC and PMD for the implementation of a variety of health care strategies. However, it is still necessary to carry out additional studies that include a greater number of patients and in different regions of Argentina.

Keywords. Polymorphism, TP53, CYP1A1, GSTM1, oral cancer, potentially malignant disorders, tobacco, alcohol

INTRODUCCIÓN

A nivel mundial, el cáncer es una de las principales causas de mortalidad y morbilidad; es considerado una de las diez patologías más frecuentes que causan la muerte en el mundo. La Organización Mundial de la Salud (OMS) estima que 7,6 millones de pacientes murieron durante el año 2016 y que alrededor de 84 millones morirán en los siguientes diez años si no se realizan acciones adecuadas al respecto (1,2). Se prevé que el número de nuevos casos aumente aproximadamente en un 70% en los próximos 20 años.

El cáncer bucal (CB) es la neoplasia maligna más frecuente en la región de cabeza y cuello, siendo el carcinoma de células escamosas (CCE) el que presenta mayor incidencia; es considerado uno de los seis cánceres más frecuentes, con una incidencia mundial anual superior a 300.000 casos (3). Esta enfermedad es una causa importante de muerte y morbilidad, con una supervivencia a los 5 años de menos del 50% en total. Representa entre el 2 al 5% del total de los cánceres de todo el organismo; su incidencia es menor al de otras neoplasias pero constituye un grave problema de salud poblacional debido a un aumento de su incidencia en los últimos años, tanto en la tasa de mortalidad como en la de morbilidad, debido principalmente al gran retraso diagnóstico que caracteriza a las primeras etapas de los casos de CB y a la falta de preparación de los profesionales de la salud (4).

La incidencia de CB en América Del Sur varía de acuerdo con los registros de cada país y las tasas más altas corresponden a Brasil. La mayoría de los tumores son diagnosticados tardíamente casi el 30% de los casos registrados, no incluye el estadio al momento del diagnóstico (5). En cuanto a la mortalidad en América del Sur por CB, varía desde 0,72 a 6,04/100.000 habitantes. Las bases de datos públicas y representativas de CB en esta región, son insuficientes y desactualizadas, generando estadísticas incompletas que no reflejan el verdadero problema de esta patología en nuestro continente (5).

En lo que respecta a la provincia de Córdoba, Argentina, según datos del Registro Provincial de Tumores, el CB y de orofaringe, no estuvo dentro de los diez tumores más frecuentes durante el periodo 2004-2013 (6). Según estos registros, en el periodo anteriormente mencionado, se diagnosticaron 466 mujeres con CB, de las cuales 181 fallecieron y 1043 varones, de los cuales 499 fallecieron. Si bien estas patologías presentan una baja prevalencia en relación con otras enfermedades, impactan negativamente en la calidad de vida de las personas, porque conducen a la muerte en un período relativamente corto de tiempo (6-7).

Se estima que el 43% del total de los cánceres se debe al consumo de tabaco, al consumo de alcohol, a dietas no saludables, a alteraciones emocionales y/o a la asociación a procesos infecciosos, como el virus del Papiloma Humano (VPH) entre otros (1-3).

El acceso a la cavidad bucal es simple, a diferencia de los órganos internos, lo que facilita la detección del CB a través de la inspección bucal; también es fácilmente diagnosticable a través de la biopsia y la citología exfoliativa de la mucosa bucal (8,9).

La prevención primaria se basa en el diagnóstico precoz y el tratamiento de los llamados desórdenes potencialmente malignos (DPM). Estos DPM son procesos benignos que presentan un mayor riesgo, estadísticamente significativo, de transformarse en cáncer tengan o no displasia o atipia epitelial. Los DPM más frecuentes de la mucosa bucal son la leucoplasia bucal, la fibrosis oral submucosa, las queilitis crónicas, algunos tipos de liquen plano bucal y otros (8).

Una de las principales causas del fracaso en el tratamiento del carcinoma de células escamosas bucal es que una proporción significativa de estos casos no son diagnosticados o tratados hasta que alcanzan un estado avanzado de desarrollo (9).

Es por ello que un gran número de estudios básico-clínicos, en general, se orientan a reconocer marcadores pronósticos de riesgo y/o de progresión tumoral a fin de mejorar las acciones de prevención, detección temprana y tratamiento; conociendo que los pacientes que son tempranamente diagnosticados requieren una terapéutica menos agresiva y presentan menor morbilidad en relación aquellos cuyo diagnóstico se realiza en etapas más avanzadas de la enfermedad. De este modo la identificación de predisposiciones genéticas individuales para el desarrollo de cáncer bucal constituye una estrategia importante porque permite el desarrollo de nuevas herramientas para la prevención y detección precoz de esta enfermedad. Los países en desarrollo como la Argentina no tienen datos sobre la composición genética. Las investigaciones sobre este tema son fundamentales para aportar conocimientos que mejoren las estrategias de prevención; toda esa información podría ser muy útil en establecer el impacto de los factores de riesgo sobre el CB e identificar los modificadores genéticos de riesgo en esta población, mejorando de esta manera, la calidad de vida de nuestros pacientes y reduciendo los costos de la terapia de esta enfermedad.

MARCO TEÓRICO

CANCER BUCAL

El cáncer es una enfermedad de etiología multifactorial, la mayor parte de los autores coinciden que en el 80 % de los casos se debe a factores exógenos o externos como el estilo de vida, las alteraciones emocionales, el consumo de alcohol en exceso, el hábito de fumar, entre otros, y un 20% a factores endógenos genéticos y epigenéticos los cuales, en conjunto, desarrollan en las células del organismo modificaciones moleculares en determinados genes, generando de esta forma eventos cruciales que activan la carcinogénesis, como la activación de oncogenes y la inactivación de genes supresores de tumores(10).

Como es conocido el CB es una patología muy compleja debido a su naturaleza multigénica y al número de agentes medio ambientales que representan un riesgo potencial para la población expuesta a éstos. En su desarrollo multietápico involucra una serie de pasos, cada uno caracterizado por una acumulación secuencial de distintos defectos genéticos seguidos de una proliferación por clonación; estos procesos se inician en un epitelio normal, posteriormente lo modifican a un epitelio hiperplásico, displásico, a un carcinoma in situ y finalmente a un carcinoma invasivo (3, 4,10).

FACTORES DE RIESGO DE CÁNCER BUCAL

Existen múltiples factores de riesgo de cáncer bucal relacionados a factores externos e internos. Entre ellos podemos mencionar la edad, dietas no saludables y la exposición a carcinógenos químicos como el tabaco y alcohol.

Edad

El cáncer bucal es frecuentemente una enfermedad de adultos mayores, y de todos los factores que pueden contribuir al desarrollo de CB es el factor que confiere el riesgo más alto (11,12), y posiblemente el más consistente. Aproximadamente el 90% de los pacientes con CB se diagnostican en mayores de 40 años, y más del 50% en individuos de más de 62 años (12-16). Aunque existe un incremento en las poblaciones más jóvenes, en menores de 40 años asociadas a la infección por el virus del papiloma humano (VPH), los pacientes que desarrollan esta enfermedad son significativamente

mayores y la edad avanzada tiene una repercusión particular sobre la supervivencia. No obstante, hay que tener en cuenta que el riesgo aumenta en gran medida a partir de los 44 años de edad (16,17). El proceso de la oncogénesis precisa como mínimo entre 5 a 6 mutaciones de los protooncogenes y de los genes supresores tumorales, las cuales sólo aparecen tras las acciones mantenidas de los carcinógenos durante largos períodos de latencia. Como resultado de lo expuesto, se explica que la gran mayoría de los cánceres (98%) aparezcan en adultos (18,19). La relación entre la mayor incidencia de CB en relación al aumento de edad puede deberse presuntamente a la exposición acumulada por largo tiempo a agentes carcinogénicos (tabaco, alcohol, nutrición inadecuada, virus, etc.), a la incorporación de alteraciones genéticas o epigenéticas del ADN mediante procesos dependientes de la replicación celular (aneuploidía, mutaciones, daño oxidativo, acortamiento de telómeros, inestabilidad genética etc.), como así también a la disminución de la capacidad de reparación del ADN, a la depresión de la inmunovigilancia y a la pérdida de la homeostasis proliferativa con sobre o sub expresión de proteínas reguladores del ciclo celular (9,20-22).

Tabaco

El hábito de fumar tabaco es uno de los principales factores de riesgo conocidos para cáncer bucal, el riesgo de padecer esta enfermedad en un fumador es 6 veces superior al de un no fumador (23). Se establece al tabaquismo como la adicción al tabaco provocada, principalmente, por uno de sus componentes activos, la nicotina. La acción de dicha sustancia condiciona el abuso de su consumo, pues la nicotina como tal no es cancerígena pero sí es adictiva. Cuando una persona inhala el humo de la combustión incompleta del tabaco, la nicotina que se encuentra en él se absorbe rápidamente en el torrente sanguíneo a través de los pulmones y la mucosa bucal y alcanza el cerebro en siete segundos. Una vez en el cerebro, la nicotina produce una sensación placentera que lleva a través del tiempo a la adicción (24-29,).

Cuando una persona inhala el humo del cigarrillo, la nicotina que se encuentra en él se absorbe rápidamente en el torrente sanguíneo a través de los pulmones y la mucosa bucal y alcanza el cerebro en siete segundos. Una vez en el cerebro, la nicotina produce una sensación placentera que lleva a través del tiempo a la adicción (24-26, 28, 29,). La nicotina aumenta el estado de alerta del usuario e intensifica el desempeño mental, la frecuencia cardíaca y la presión arterial, y disminuye el flujo sanguíneo al miocardio. Esta sustancia también estimula la liberación de epinefrina, que a su vez incita al sistema nervioso central a liberar beta endorfinas que pueden inhibir el dolor (24, 25).

A partir de los años 40 se iniciaron investigaciones para relacionar el tabaquismo con la aparición de determinadas enfermedades, principalmente respiratorias y pulmonares (28,30).

En términos generales, las complicaciones derivadas del consumo de tabaco se perciben a largo plazo. Es la acción prolongada y continuada de las distintas sustancias que componen los cigarrillos como la nicotina (31). El tabaco ha sido relacionado con al menos 17 tipos de cáncer, entre los cuales aparecen: cáncer colorrectal, cáncer de pulmón, cáncer de laringe, cáncer de faringe, cáncer de ovario, cáncer de cérvix, cáncer hepático, cáncer renal, leucemia mieloide aguda, cáncer de vejiga, cáncer de estómago y cáncer de esófago. Es considerado el principal factor de riesgo asociado al desarrollo de lesiones premalignas y del cáncer bucal, en especial del CCE. Se conoce que 8 de cada 10 pacientes con CB son fumadores de tabaco en sus diversas formas: cigarrillos, puros, tabaco de mascar, tabaco en pipa, etc.

Los componentes más carcinogénicos del tabaco son la N-nitroso-nor-nicotina, hidrocarburos aromáticos polinucleares y el polonium (metal altamente radioactivo), siendo perjudiciales localmente y favoreciendo la absorción de sustancias carcinógenas (32). La contribución del tabaco a la aparición de este tipo de tumores se debe a la gran mezcla de compuestos químicos que se encuentran tanto en el humo como en el tabaco que aún no ha sido quemado.

Los carcinógenos del tabaco penetran al organismo a través de las mucosas respiratoria y digestiva y por vía sanguínea llegan a todos los tejidos e impregnan y afectan a todas las células del organismo, incluidas las germinales.

La nicotina no es un carcinógeno, pero resulta citotóxico y puede actuar como co-factor en la carcinogénesis; esta sustancia es el principal alcaloide psicoactivo del tabaco y a través del tiempo es adictivo (24, 27-29). Estudios in vivo muestran que la nicotina en concentraciones tan bajas como al 2% pueden causar daño epitelial, y es capaz de producir alteraciones de la permeabilidad del epitelio a carcinógenos (28). Una persona que fuma 25 cigarrillos por día absorberá aproximadamente 0,43 mg nicotina/kg peso corporal (28). Más del 80% de la nicotina absorbida sufre metabolismo en el hígado y la cotinina es el principal metabolito (**Fig.1**). La concentración en sangre de cotinina en los fumadores es de 200-400 ng / ml (1.1-2.2 M) (33). Tanto la evidencia experimental in vitro a partir de estudios sobre cultivos celulares, como estudios in vivo en roedores y en seres humanos indican que la nicotina en sí, independientemente de otros constituyentes del tabaco, pueden estimular una serie de efectos de importancia en el desarrollo del cáncer (34,35). La nicotina afecta la circulación periférica, causando una vasoconstricción gingival importante, lo que disminuye el aporte de elementos de reparación por parte de la sangre al tejido gingival y, por consiguiente, se debilita la

capacidad de cicatrización y el aporte de oxígeno en los tejidos. También puede estar suprimido el sistema inmune, a causa de una reducción de la quimiotaxis y fagocitosis por parte de los leucocitos. Por lo anterior podemos pensar que un efecto similar se puede dar en cualquier otro sitio de la mucosa bucal y no sólo en el periodonto. El fumar se asocia clínicamente a bolsas profundas, formación de cálculo, pérdida de hueso alveolar, gingivitis ulceronecrotizante aguda y osteoporosis (36-38). Muchos estudios en ratas sugieren que la combinación simultánea de alcohol y tabaco tiene un efecto sinérgico en la progresión de la periodontitis, evidenciado por una destrucción ósea en la zona de furcación y un aumento de la gravedad de la enfermedad periodontal (39-42).

El humo del tabaco posee la propiedad de intervenir en todas y cada una de las etapas de la carcinogénesis bucal (10). El principal efecto sobre la carcinogénesis lo realiza la nicotina presente en el tabaco, ya que la dependencia que ella genera provee el nexo a través del cual los fumadores, y también los fumadores pasivos, son repetidamente expuestos a elementos carcinogénicos y genotóxicos asociados con el consumo de tabaco (39). Esta exposición repetida y prolongada provee los carcinógenos necesarios para que se produzca la carcinogénesis multietápica. Durante la etapa de iniciación y en el proceso de conversión, los hidrocarburos aromáticos policíclicos del humo del tabaco pueden producir eventos genéticos por formación de aductos de ADN y la consecuente sustitución de bases durante la replicación. Este mecanismo de mutaciones simples del ADN puede afectar a varios genes, como por ejemplo el TP53, y deriva en pérdida de heterocigosidad y de función de dicho gen (10, 43) **(Fig.1)**.

Los carcinógenos son activados por el citocromo P450, el cual y bajo circunstancias fisiológicas, produciría su metabolismo para posterior excreción. Sin embargo, ante acumulación de estos agentes de naturaleza química, la activación por parte del citocromo P450 permite que estos carcinógenos puedan interactuar con el ADN debido a su naturaleza electrofílica y afinidad de unión al mismo. De esta interacción entre los compuestos del tabaco y las bases nitrogenadas del material genético aparece la formación de aductos de ADN, los cuales constituyen uniones de los productos químicos al ADN que provocan daño e impiden la correcta y completa replicación del material genético, aumentando así la probabilidad de que aparezcan nuevas mutaciones que lleven al desarrollo de cáncer (10,43) **(Fig.1)**.

En circunstancias fisiológicas normales los sistemas de reparación del ADN se encargan de reparar estas estructuras y eliminarlas, pero si persisten a esta reparación y además se disponen en regiones donde se encuentran oncogenes tales como myc y ras o bien en regiones de genes supresores de tumores como TP53, esto provoca una pérdida de

control sobre el crecimiento celular, lo cual será la fase inicial de la formación de tumores (10).

También se han descrito otros mecanismos de acción relacionados fundamentalmente con la nicotina y derivados. Estos compuestos son capaces de unirse a la superficie celular, concretamente a receptores nicotínicos, activando diversas proteínas y factores que llevan a una disminución del proceso de apoptosis, junto con un aumento de la proliferación celular y transformación maligna de las células. Se ha descrito que la nicotina es capaz de activar el proceso de angiogénesis que favorece el mantenimiento y crecimiento tumoral. Cada uno de los procesos o mecanismos capaces de generar mutaciones en las células somáticas deja en el genoma de la misma una firma mutacional (44).

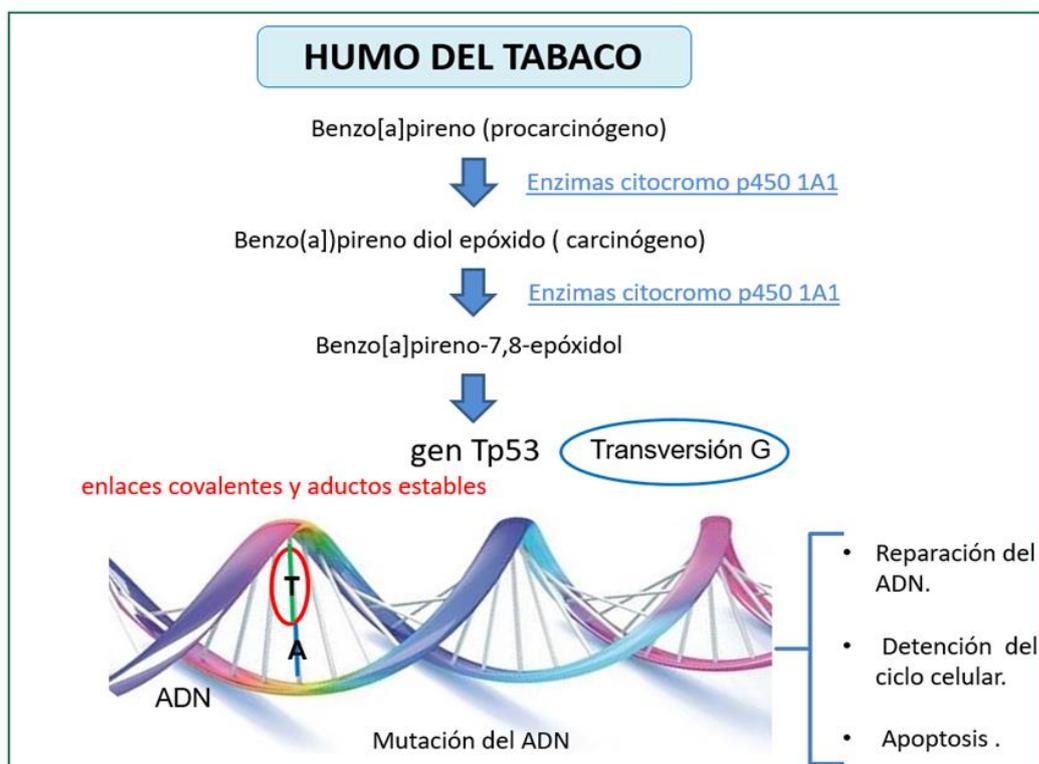


Figura 1. Acción de las enzimas del citocromo P450 (CYP1A1) en la activación de los hidrocarburos aromáticos policíclicos (benzopireno) y la formación de aductos o enlaces covalentes estables sobre la molécula de ADN, alterando la expresión y función del gen TP53.

1. Clasificación de la intensidad del consumo de tabaco

En la literatura científica suelen aparecer rangos de clasificación de la intensidad del consumo de tabaco, siendo éstos rangos variables según los autores y en muchos casos arbitrarios.

De acuerdo a la OMS (2003) los fumadores se clasifican en leves, moderados y severos en la siguiente escala:

- Fumador leve: consume menos de 5 cigarrillos diarios.
- Fumador moderado: fuma un promedio de 6 a 15 cigarrillos diarios.
- Fumador severo: fuma más de 16 cigarrillos por día en promedio.

Según Jovanovic A y col (45), categorizan al consumo de tabaco en cigarrillos por día en: fumador moderado de 1 a 20 y fumador intenso o “heavy” a aquellos fumadores de más de 20 cigarrillos/día. Blot W y col (46), consideraron pacientes de alto riesgo a aquellos que fumen 2 o más paquetes/día durante 20 años.

El nivel de exposición al tabaco tiene un efecto acumulativo, por lo que aparte del consumo actual o puntual es de gran interés reconocer el consumo a lo largo de toda la vida. Existe una relación dosis-efecto entre el hábito de fumar y el riesgo de CB, que es apreciable tanto en relación al promedio individual de cigarrillos fumados por día, como a la cantidad total de años de fumar, y a la cantidad total de cigarrillos fumados durante toda la vida (47, 48-53). Parecería que este es el método más aproximado para calcular el consumo acumulado (Esquema 1). Para los ex-fumadores el riesgo de padecer cáncer bucal disminuye a partir del momento del abandono del hábito, y se equipara al riesgo de los no fumadores aproximadamente diez años después (48, 50, 52,53).

Estar en contacto con el humo de cigarrillo también conlleva o implica riesgo, alcanzando 87% mayor probabilidad en aquellos que nunca han fumado, pero que han sido expuestos al mismo en forma pasiva o tabaquismo involuntario (54, 55). El hábito del tabaco en todas las formas son carcinogénicas y capaces de causar cáncer (47,55-58).

PROMEDIO INDIVIDUAL DE CIGARRILLOS FUMADOS POR DÍA X 365 (LA CANTIDAD DE DÍAS DEL AÑO) X CANTIDAD TOTAL DE AÑOS DE FUMAR = CANTIDAD TOTAL DE CIGARRILLOS FUMADOS DURANTE TODA LA VIDA
--

Esquema 1. Método para calcular el consumo acumulado

Alcohol

El alcohol es la droga más antigua de nuestra cultura, llamado alcohol etílico o etanol (CH₃-CH₂-OH) es el componente esencial de las bebidas alcohólicas, que en general, se obtiene por dos procesos de elaboración: la fermentación o descomposición de los azúcares contenidos en las distintas frutas y/o destilación, consistente en la depuración de las bebidas fermentadas (59-64). En la actualidad de acuerdo a su consumo, se la considera una bebida adictiva que constituye en nuestro país un serio problema sanitario

y social (65-67).

La Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer (IARC) de la OMS ha clasificado al alcohol como un carcinógeno del Grupo 1, similar al arsénico, el benceno y el asbesto (68).

El consumo de alcohol se refiere específicamente al consumo de alcohol etílico o etanol, a pesar de que existen otros alcoholes, como el metanol. En el contexto de los factores de riesgo de CB, los términos etanol y alcohol se utilizan como sinónimos, el término bebidas alcohólicas significa productos que contienen etanol y alcohólicos o consumidores de alcohol se refiere a quienes consumen bebidas con etanol (69).

1. Mecanismo de acción

Tras la ingesta de una bebida alcohólica, el etanol que forma parte de la misma es absorbido fundamentalmente a nivel del intestino delgado, y en menor proporción en el intestino grueso y en el estómago, llegando por vía portal al hígado y rápidamente transportado por la circulación a otros órganos, incluyendo el tracto digestivo. Debido a su solubilidad en agua, los niveles de etanol en saliva y en el contenido del intestino son iguales a los existentes en sangre y en el hígado. La eliminación por exhalación pulmonar y por excreción urinaria es mínima. El metabolismo del etanol se desarrolla en su mayor parte en el hígado. Dicho metabolismo se divide en dos etapas: la primera, consistente en la oxidación del etanol en acetaldehído, puede ser realizada por tres vías, la vía de la alcohol deshidrogenasa (ADH), la vía microsomal hepática y la vía catalasa. La segunda etapa se caracteriza por la oxidación del acetaldehído obtenido anteriormente, a acetato a través de la enzima acetaldehído deshidrogenasa (ALDH) impidiendo la actividad tóxica del primer metabolito. El acetato es posteriormente oxidado, resultando dióxido de carbono, ácidos grasos y agua, que se eliminara por bilis y orina (10, 64). Al igual que ocurre en el hígado, el metabolismo del etanol en la cavidad oral se caracteriza por una primera oxidación que lo transforma en acetaldehído a través de la ADH presente tanto en la microbiota bucal como en las células de la mucosa bucal, así como a través del citocromo P450 2E1 y P450 1A1 inducido por el etanol. Posteriormente el acetaldehído sufrirá una segunda oxidación vía ALDH, que lo transformará en acetato y agua (**fig. 2**).

La mayor parte del etanol se elimina a través de sus productos metabólicos, pero existe un escaso porcentaje, alrededor del 2 al 10 % del alcohol consumido, que es eliminado sin sufrir transformación en orina, heces, sudor y aire exhalado (59, 70, 71).

2. Acetaldehído

El acetaldehído (AA) es producido por el hígado (en su mayor proporción), mucosa gástrica, esofágica, mucosa bucal y la microbiota bucal producto de la descomposición del etanol. El hígado normalmente elimina el 99% del acetaldehído. Un hígado promedio puede procesar 7 gramos de etanol por hora. Por ejemplo, se necesitan 12 horas para eliminar el etanol producto del consumo de una botella de vino, dando 12 horas o más de exposición al acetaldehído (72).

Cuando las bebidas alcohólicas son ingeridas actúan a nivel de la cavidad bucal produciendo su primer metabolito, el AA, a través de la ADH presente tanto en la microflora como en las células de la mucosa oral. El papel de la microbiota oral en la oxidación del etanol ha sido estudiado extensamente por Homann y col (73-76) quienes han demostrado la producción de cantidades considerables de AA durante el consumo social de alcohol. En numerosos experimentos *in vitro* e *in vivo* en células cultivadas tanto eucariotas como procariotas y en modelos animales, se demostró que el AA posee un efecto directo tóxico, mutagénico y carcinogénico, capaz de formar aductos o enlaces covalentes estables con el ADN (77-81). Por tanto la acumulación de AA puede deberse a un aumento en la actividad de la ADH de la microbiota bucal, la ADH de las células de la mucosa bucal y del citocromo P4502E1, P4501A1 o a una disminución de la actividad enzimática por parte de la ALDH. Esto resulta en elevadas concentraciones de AA carcinogénico a lo largo de todo el tracto gastrointestinal. La mayor parte del metabolismo del alcohol es llevado a cabo en el hígado, pero se ha demostrado el metabolismo del mismo por ADH en mucosas gástrica, esofágica y oral, al igual que la actividad de la ALDH. Llamativamente, la actividad de la ALDH es menor que la actividad de la ADH bucal, y en comparación con el hígado, la detoxificación del acetaldehído por microorganismos y por las membranas mucosas es limitada, lo cual podría llevar a una acumulación de acetaldehído en tejidos orales (45, 82, 83).

Debido al importante papel que parece jugar el AA en el desarrollo del CB se considera que todas aquellas situaciones que determinen una acumulación del mismo, ya sea por aumento en su producción o por una disminución en su eliminación, aumentan el tiempo de exposición y suponen un mayor riesgo. La transformación de etanol a acetaldehído puede verse influenciada por factores ambientales (microbiota bucal) y susceptibilidad genética. Dicha susceptibilidad se basa en la existencia de polimorfismos genéticos para las enzimas encargadas de metabolizar tanto el etanol como el acetaldehído, de tal modo que aquellos sujetos con “alelos susceptibles” presentarán una alteración en su

función, conduciendo por este camino a una acumulación en la producción de AA (fig. 2) (82).

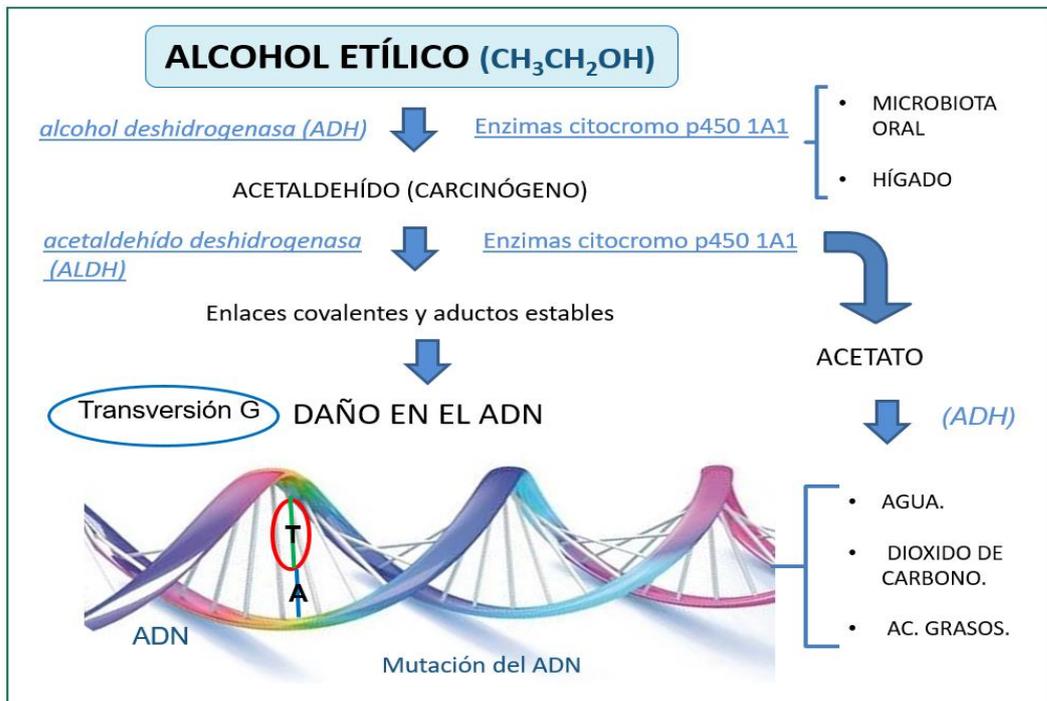


Figura 2. Metabolismo del etanol. *ADH*: alcohol deshidrogenasa; *ALDH*: acetaldehído deshidrogenasa; *CYP*: Citocromo P4501A1.

3. Efecto del alcohol en cavidad bucal

Se han propuesto distintas hipótesis que tratan de explicar la manera en la que el etanol o su metabolito acetaldehído actuarían como factores de riesgo en el desarrollo del CB. De acuerdo a los criterios expuestos por Figuero-Ruiz y col. estos efectos pueden clasificarse como locales o sistémicos (82).

A nivel local el etanol presenta un efecto solvente en la cavidad bucal, capaz de eliminar el contenido lipídico de la barrera que representa la mucosa bucal, formada por los lípidos derivados de la membrana que rodea los gránulos del estrato espinoso del epitelio (28, 83, 84, 85). Algunos autores han descrito que el alcohol produce aumento en la permeabilidad de la mucosa bucal, y aumento en la solubilidad de carcinógenos químicos como los hidrocarburos policíclicos y la nitrosornicotina, lo que podría permitir o facilitar la penetración de los mismos (28, 60, 70, 86, 87). Howie y col (83), en un estudio efectuado con material de autopsias, encontraron que la permeabilidad aumentó con alcohol tópico al 20%, pero cuando la concentración fue del 30% o más, el tejido se fijó y no aumentó la permeabilidad.

En otro estudio de Howie y en un estudio de Trigkas (86,88), ambos establecen que el

incremento en la permeabilidad se debería a un reordenamiento de los elementos constituyentes de la membrana celular permitiendo al etanol aumentar la penetración de moléculas de alto peso molecular sin que exista una variación en su componente lipídico (87, 89). Las zonas de mucosa de revestimiento como mucosa yugal, piso de boca, borde y cara ventral de lengua y paladar blando, son consideradas más permeables que las queratinizadas como paladar duro y encía (89,90).

A nivel sistémico el etanol tiene un efecto local sobre la mucosa bucal, produce atrofia de la misma, que puede estar asociada a un aumento de la regeneración celular, lo que supone un incremento en la susceptibilidad de dicho tejido frente a múltiples carcinógenos químicos. Este estado de hiperproliferación podría constituir el primer paso en la génesis del CB debido a que las células en continuo estado de replicación se aumenta la posibilidad de acumular mayores errores que podrían dar lugar a la aparición de mutaciones, e incluso debido a que las células en esa fase son más susceptibles a la acción de otros carcinógenos que podrían atravesar su membrana y generar daños irreversibles (45, 82, 91).

4. Clasificación de la intensidad del consumo de alcohol

El consumo de alcohol en exceso así como el tiempo de consumo, han sido relacionados con el CB. La OMS describe como consumo perjudicial de alcohol a aquél que conlleva consecuencias para la salud física y mental de la persona y está definido como “el consumo regular promedio de más de 40 g de alcohol al día en mujeres y de más de 60 g al día en hombres” (68). El consumo excesivo episódico o circunstancial (también llamado *binge drinking*), que puede resultar particularmente dañino para la salud, implica el consumo de por lo menos 60 g de alcohol en una sola ocasión (64, 92, 93).

Un estudio realizado por la OMS, ubica a la Argentina en segundo lugar en el continente americano en cantidad de ingesta de bebidas alcohólicas con 9,3 litros por habitante por año, siendo Chile el primero con 9,6 litros; en tanto que Venezuela figura en tercer puesto con 8,9 litros. A estos tres países le siguen Paraguay (8,8 l), Brasil (8,7 l), Perú (8,1 l), Panamá (8), Uruguay (7,6 l), Ecuador (7,2 l), México (7,2 l), República Dominicana (6,9 l), Colombia (6,2 l), Bolivia (5,9 l), Costa Rica (5,4 l), Cuba (5,2 l), Nicaragua (5 l), Honduras (4 l), Guatemala (3,8 l) y El Salvador (3,2 l).

Existe una relación dosis-efecto, cualquiera sea la unidad en que se haya medido el consumo de alcohol: gramos, volumen (%), onzas (94).

La Tabla 1 ha sido confeccionada según lo declarado como productos más consumidos y disponibles en comercios en Córdoba, Argentina, en octubre de 2016 por Caciva y col (95).

Tabla 1. Equivalencia en grados de alcohol según el tipo de bebida, en Córdoba Capital. (Según Caciva y col). (92).

BEBIDA	ALCOHOL% (RANGO)	GRAMOS POR LITRO MEDIANAS EN G/L	EQUIVALENTE A UN VASO/MEDIDA
VINO TINTO	12-14,5	130	150ml: 19,5gr
VINO BLANCO	8-13	125	150ml:19gr
CERVEZA	3,5-5,2	49	330ml: 16gr
FERNET	39-40	395	100ml:39gr
WHISKY	39-40	400	40ml: 16gr

Una de las formas más utilizadas para calcular la exposición al alcohol es a través de la unidad alcohólica (drink), de acuerdo con estos autores Pentenero y col. (96).

Se calcula la ingesta total de alcohol en gramos por día y el consumo aproximado de alcohol por años de vida propuesta por Caciva y col (95). Se categoriza según la intensidad del hábito, resultando: **Categoría 1 <200.000 g, categoría 2 entre 200.000-400.000 g y categoría 3 >400.000 g.**

Numerosos estudios epidemiológicos han atribuido diferente riesgo para el CB según el tipo de bebida alcohólica consumida. Algunos autores afirman que la cerveza y el vino serían más riesgosos que el whisky (97, 98); otros que la cerveza y el whisky serían más riesgosos que el vino (99), y otros afirman que el whisky más que la cerveza y el vino (100, 101). Finalmente Franceschi S y col (102), concluyen en que el licor y el vino son más riesgosos que la cerveza. Como acabamos de describir, los diferentes autores muestran controversias en sus resultados sobre cuáles de las bebidas alcohólicas, representan un mayor riesgo para el CB.

El consumo de bebidas alcohólicas tiene repercusión prácticamente en todo el organismo, manifestándose en todos los aparatos y sistemas: nervioso (63, 70, 103), cardiovascular (70, 103, 104), digestivo (70, 104), sexual (70, 103) y a nivel de la médula ósea (103). Los daños más importantes son los ocasionados a nivel del hígado, ya que metaboliza productos, que no sólo no van a poder ser utilizados como fuentes de energía, sino que van a constituir potenciales carcinógenos, entre ellos, el mismo etanol, que debido a la falta de transformación permanecerá más tiempo en sangre, actuando como un posible co-carcinógeno. La falta de una alimentación sana y equilibrada (103), y la elevada tendencia al vómito (70), predispone a los sujetos a déficits nutricionales, y en algunos casos, supone un estado de debilidad general del organismo, que presentará

mayor riesgo de patologías en general (105, 106). La depresión del sistema inmune asociada al consumo crónico de etanol contribuye a agravar esta situación.

Efecto conjunto del tabaco y el alcohol

El papel independiente del tabaco y el alcohol en relación al riesgo de CB parece estar claro, sin embargo el resultado de su asociación, permite ser explicado por tres modelos posibles: a) modelo aditivo, en el que se suman los efectos producidos por cada factor en forma independiente; b) modelo exponencial, según el cual los efectos se multiplicarían y c) modelo sinérgico o intermedio, apoyado por la mayor parte de los autores que consideran que el efecto producido por ambos factores, es superior a la simple suma de sus efectos de forma independiente (47,107,108-110). Se ha demostrado que el uso de tabaco tiene un efecto carcinogénico directo sobre el epitelio de la cavidad bucal, pero su asociación con alcohol aumentaría el riesgo en 6 a 15 veces, en relación a una persona que no tiene ninguno de estos hábitos tóxicos (44, 111-113).

La mucosa bucal presenta distintos niveles de permeabilidad en las distintas zonas de la cavidad bucal, siendo las zonas no queratinizadas las más permeables (piso de boca, bordes de lengua y mucosa yugal) (114). Se ha sugerido que el alcohol puede incrementar la penetración de otros carcinógenos a través de la mucosa bucal, por el incremento en su permeabilidad. Este aumento de la permeabilidad puede obedecer a dos fenómenos: atrofia epitelial y efecto solvente sobre la membrana fosfolipídica celular. Tanto en estudios experimentales sobre animales como en estudios de tejidos humanos, el consumo crónico de alcohol produce atrofia epitelial en la mucosa oral. Esta atrofia no se observa sólo en los tejidos expuestos directamente al alcohol, lo que sugiere que dicha atrofia obedece a un mecanismo sistémico. La disminución del espesor del epitelio de la mucosa oral facilitaría pues, la penetración de carcinógenos hacia la capa basal del mismo, en donde se ubican las células con capacidad mitótica, y por lo tanto más susceptibles a la acción de los mismos. La otra vía por la cual el alcohol puede afectar la mucosa oral es a través de un efecto directo del etanol en la membrana celular fosfolipídica. Al estar expuesta al alcohol, el efecto solvente de éste haría perder componentes a la membrana celular, haciéndola considerablemente más permeable, y permitiendo una penetración incrementada de carcinógenos a través de la mucosa bucal. Este mecanismo ha sido reproducido en estudios sobre animales, en los que el etanol permitió el mayor paso de nitrosomonocotina a través de mucosas no queratinizadas, especialmente la de piso de boca (45, 91). La atrofia que produce el etanol en la mucosa bucal, está asociada a un aumento de la regeneración celular, lo

que supone un incremento en la susceptibilidad de dicho tejido frente a otros carcinógenos químicos del tabaco (115- 118).

Exposición a carcinógenos químicos ambientales y laborales

La exposición a carcinógenos químicos ambientales o laborales, también llamados xenobióticos (del griego, *xenos* -extraño y bio-vida) han mostrado un aumento significativo del riesgo para CB. Entre las sustancias implicadas se pueden destacar hidrocarburos aromáticos policíclicos, fármacos, residuos del tabaco y el alcohol, pesticidas, herbicidas, fertilizantes, combustibles, aceites minerales, monóxido de carbono, asbestos, pinturas, lacas, barnices, solventes, polvo de metal, madera y cemento, nitrosaminas, arsénico (119–124). Más de treinta sustancias y mezclas químicas a las que numerosos individuos pueden resultar expuestos por motivos laborales, han sido evaluadas por la agencia internacional para la investigación del cáncer (IARC) como poseedoras de evidencia suficiente de carcinogenicidad en humanos (125). Estas exposiciones ocupacionales tienden a estar concentradas entre pequeños grupos de personas que han estado crónicamente expuestas a altos niveles. Muchas veces la exposición no puede ser definida con claridad en cuanto al agente químico, por lo que se relata en muchos estudios la circunstancia de exposición. Estas incluyen exposiciones en el lugar de trabajo, como la industria del caucho o producción de carbón, así como también la exposición a metales, petroquímicos, aminas aromáticas específicas, etc. (126). El riesgo de cáncer bucal asociado a exposición ocupacional aumenta a medida que se incrementa el tiempo de exposición hasta los 10 años, a partir de lo cual ya no se presentan aumentos significativos (127).

Los carcinógenos ambientales y laborales, dada su amplia diversidad, pueden presentar efectos iniciadores y/o promotores de la carcinogénesis. La combinación de exposiciones a factores de riesgo laborales y no laborales, como también la interacción de diferentes factores laborales, pueden tener un efecto sinérgico sobre el riesgo de cáncer. Es muy probable que el riesgo de cáncer resultante de factores laborales sea modulado por factores del huésped como capacidad de reparación de ADN y activación e inactivación enzimática por enzimas que metabolizan xenobióticos (XMEs). La interacción entre estos factores y la alta exposición a tabaco y alcohol que presentan dichos individuos puede impactar en el riesgo de cáncer (43, 121, 128).

Gran parte de estos compuestos están sujetos a metabolismo (alteración química) en el cuerpo humano, siendo el hígado el órgano principal donde esto ocurre; en ocasiones, un xenobiótico puede excretarse sin cambio. Cerca de 30 enzimas catalizan las reacciones que participan en el metabolismo de los xenobióticos; sin embargo, la gran

mayoría de estos residuos son metabolizados por dos familias de enzimas principalmente, el citocromo P450 (CYP450) y las enzimas glutatión S-transferasas (GSTs), N-acetiltransferasas, etc. El metabolismo de xenobióticos puede dividirse en dos fases (**Figura 3**). (43, 128, 129) En la fase 1, la reacción más común es una hidroxilación, catalizada por miembros de una clase de enzimas denominadas monooxigenasas o citocromo P450. La hidroxilación puede terminar la acción de un fármaco, aunque este no es siempre el caso. Además de la hidroxilación, esta enzima cataliza una variedad asombrosamente amplia de reacciones, inclusive las que implican desaminación, deshalogenación, desulfuración, epoxidación, peroxigenación y reducción (43, 128). En la fase 2, los compuestos hidroxilados u otros producidos en la fase 1 se convierten por acción de enzimas específicas a varios metabolitos polares por conjugación con ácido glucurónico, sulfato, acetato, glutatión o por metilación. El propósito global de las dos fases del metabolismo de xenobióticos es incrementar su solubilidad en agua (polaridad) y así facilitar su excreción del cuerpo. Los xenobióticos muy hidrófobos persistirían en el tejido adiposo casi de manera indefinida si no se convirtieran a formas más polares. En ciertos casos, las reacciones metabólicas de la fase 1 convierten xenobióticos inactivos a compuestos biológicamente activos. En este caso, los xenobióticos originales se denominan "profármacos" o "procarcinógenos". En otros ejemplos, reacciones fase 1 adicionales (como reacciones de hidroxilación ulteriores) convierten los compuestos activos a otros menos reactivos o a formas inactivas, antes de la conjugación. Aún en otros casos, son las propias reacciones de conjugación las que convierten los productos activos de las reacciones de fase 1 a especies menos activas o inactivas, que a continuación se excretan en la orina o bilis. En muy pocos casos, la conjugación puede de hecho incrementar la actividad biológica de un xenobiótico (43, 128, 129).

La expresión y regulación coordinada de estas enzimas de la fase I y II determina el tiempo de exposición de los diferentes residuos tóxicos cancerígenos en el organismo (43, 128). La expresión y la función de estas enzimas metabólicas puede estar alterada por polimorfismos en los genes que codifican para eso, por lo tanto el incremento o disminución de la activación o desintoxicación de los componentes carcinogénicos (43, 128-130).

El término "detoxificación" se usa en ocasiones para referirse a muchas de las reacciones que ocurren en el metabolismo de xenobióticos. Sin embargo, no es siempre un término apropiado debido a que, como se describió, en algunos casos las reacciones a las que se sujetan los xenobióticos en realidad incrementan su actividad biológica y su toxicidad (129).

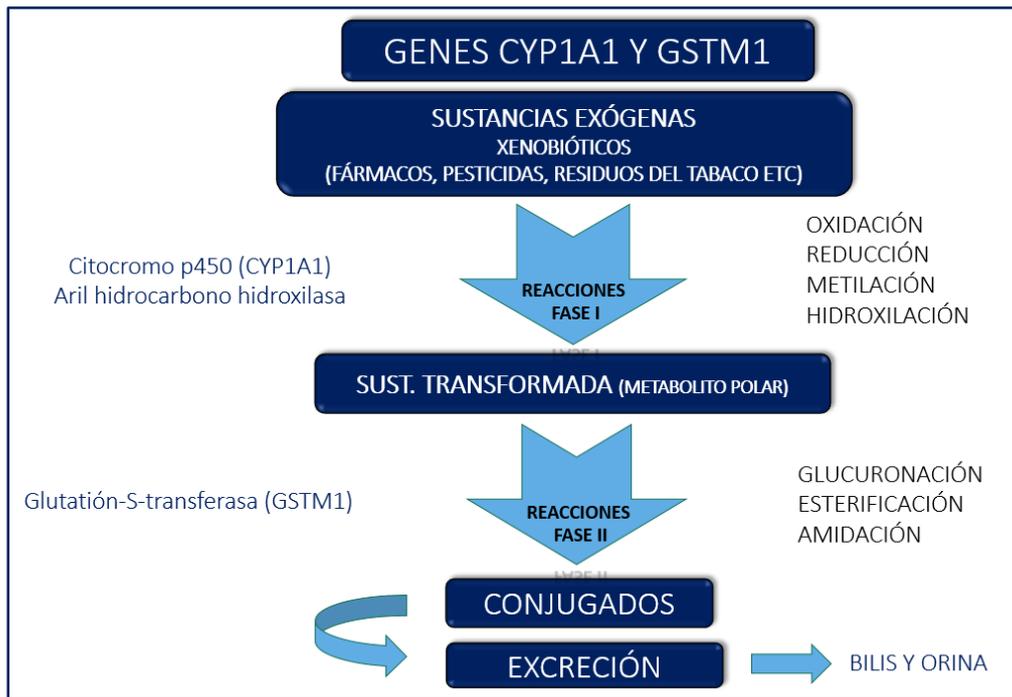


Figura 3. Fases del metabolismo de los xenobióticos

GENES Y POLIMORFISMOS GENÉTICOS RELACIONADOS AL METABOLISMO DE XENOBIÓTICOS

Aproximadamente el 99.9% de la secuencia del ADN de dos individuos diferentes es la misma. Una proporción significativa de las diferencias encontradas en los individuos, es decir, sus diferencias fenotípicas y/o susceptibilidades a ciertas enfermedades, radica en el 0.1% de variación; a este tipo de variaciones genéticas se les conoce como polimorfismos genéticos, los cuales representan diferentes formas en las secuencias de ADN. Los polimorfismos genéticos hacen referencia a la existencia, en una población, de múltiples alelos de un gen y representan una variación en la secuencia de un lugar determinado del ADN entre los individuos de una población, presente en más del 1% de la misma (129,131, 132).

Hay varios tipos de polimorfismos (inserciones, deleciones, cambios en el número de secuencias repetidas), pero los más frecuentes son los polimorfismos de un solo nucleótido (SNP). La variabilidad fenotípica de cada individuo, así como la susceptibilidad o la resistencia individual a distintas enfermedades radica principalmente en los SNP, y en menor grado a inserciones, deleciones, secuencias repetidas y/o arreglos cromosómicos. El genoma humano no es una estructura pasiva debido a que el ADN está expuesto a un sin número de alteraciones que pueden dar como resultado

la aparición de enfermedades. El estudio de estas variaciones tiene diversas aplicaciones en el campo de la medicina así como en el desarrollo de investigaciones biológicas y de evolución. Los polimorfismos de genes pueden ocurrir en cualquier región del genoma. La mayoría de los polimorfismos son silenciosos, lo que significa que no alteran la función o la expresión de un gen (4, 129, 131,132). Una variante polimórfica de un gen puede conducir a la expresión anormal y a la producción de una forma anormal de la proteína; esta anomalía puede causar o estar asociada con la enfermedad. Los polimorfismos han recibido mucha atención recientemente como un posible factor de susceptibilidad genética para varios tipos de cánceres, incluyendo el CCE (43, 131-147)

Citocromo P450

El Citocromo CYP450 es una familia de hemoproteínas presentes en una gran variedad de especies, desde bacterias hasta mamíferos. Son las enzimas responsables del metabolismo de una gran variedad de xenobióticos (fármacos, pesticidas, esteroides y alcaloides) y de la degradación de sustancias producidas por el propio organismo (esteroides, sales biliares, vitaminas liposolubles A y D, alcaloides endógenos, etc.) de las que se han identificado más de 2.000 isoformas. Fueron descritas a finales de los años cincuenta del siglo pasado durante el desarrollo de estudios de pigmentos que se encontraban en las células hepáticas y a las que se les llamó citocromos (del griego *bitos*, células y *romo*, color) (129, 148). En 1964 Omura y Soto identificaron un pigmento que se encontraba presente en los microsomas hepáticos de diferentes mamíferos, que al ser reducidos por nicotinamida adenina dinucleótido fosfato (NADPH) eran capaces de unirse al CO, mostrando un pico de absorbancia en el espectro de luz ultravioleta (UV) de 450 nm. De allí deriva su nombre Citocromo P450 (P por pigmento y 450 por la absorbancia en UV a 450 nm) (129, 148).

Los CYP en el humano son proteínas asociadas a las membranas citoplasmática, mitocondrial y del retículo endoplásmico, donde actúan metabolizando cientos de sustancias endógenas y exógenas. La mayoría de los CYP actúan sobre varios sustratos, pudiendo algunas de ellas catalizar varios tipos de reacciones. In vivo, estos sustratos incluyen a los xenobióticos o a componentes tóxicos derivados de metabolismo, como es el caso de la bilirrubina. Las enzimas del citocromo P450 están presentes en la mayoría de los tejidos del organismo, jugando un papel fundamental en la síntesis de hormonas (incluyendo estrógenos y testosterona), colesterol o vitamina D3, aun cuando son las CYP del hígado las más estudiadas (129, 148, 149).

Por otra parte, el CYP constituye el mayor complejo enzimático involucrado en el metabolismo de los fármacos en nuestro organismo, al jugar un papel fundamental en la fase oxidativa del metabolismo (conocida como fase I). Algunos de estos fármacos tienen la capacidad de aumentar o disminuir la actividad de las enzimas (fenómenos conocidos como inducción enzimática e inhibición enzimática, respectivamente). Eso tiene una trascendencia fundamental en la valoración de las interacciones de fármacos entre sí. Por ejemplo, si un fármaco inhibe la enzima que degrada a un segundo fármaco, en presencia de ambos el segundo fármaco aumentará sus niveles en sangre y, subsiguientemente, las posibilidades de ocasionar patologías por sobredosis. De forma inversa, si lo que hace es inducir el metabolismo, las concentraciones del segundo fármaco disminuirán, estando por debajo de los niveles terapéuticos, factor de vital importancia por ejemplo en los antibióticos. Esto conlleva a que sea necesario un completo conocimiento de las enzimas implicadas en el metabolismo de los fármacos utilizados en el ser humano para evitar errores de ventana terapéutica o de efectos secundarios. Especialmente los laboratorios farmacéuticos están muy interesados en estos estudios por las posibilidades que presentan (129, 148, 149).

Todas las isoenzimas de CYP en la misma familia tienen por lo menos una semejanza estructural de 40%, mientras que los miembros de una subfamilia tienen semejanza estructural de por lo menos 60%(129, 148, 149).

Los CYP450 se pueden clasificar de acuerdo con la forma de captar los electrones del NADPH en cuatro diferentes clases (129, 148-150):

- **Clase 1.** La encontramos en la membrana de las mitocondrias las cuales captan los electrones de ferredoxina. También catalizan diferentes pasos en la biosíntesis de hormonas esteroideas y la vitamina D3 en mamíferos.
- **Clase II.** Son de las CYP más común en los eucariontes, se encuentran en la cara externa del retículo endoplásmico. Reciben los electrones directamente del NADPH dependiente de CYP450 reductasa, que es una diflavoproteína.
- **Clase III.** No requieren un donador de electrones, por lo cual son autosuficientes. Catalizan las reacciones de deshidratación de alquil-hidroperóxidos y alquil-peróxidos inicialmente generados por dioxigenasas.
- **Clase IV.** Reciben los electrones directamente de NADPH.

Las enzimas de la clase I y II de todos los organismos participan en la detoxificación o en la activación de xenobióticos. Contribuyen en los procesos de carcinogénesis, son determinantes en el metabolismo, tolerancia selectividad y compatibilidad de drogas y

pesticidas. Las clases III y IV se consideran como los restos más ancestrales de las formas de CYP450 involucradas en la detoxificación de especies de oxígeno no activo. En los seres humanos el CYP450 está bien estudiado por su papel central en la fase metabólica de los xenobióticos y su importancia farmacológica en la interacción de los medicamentos en la respuesta interindividual (43, 130, 131, 150).

La CYP1A1 es una de las enzimas del citocromo P450 más importantes en la detoxificación de xenobióticos, como AHH; se localiza a nivel del retículo endoplásmico, en especial en células de la mucosa respiratoria y su expresión es inducida por hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP), presentes entre otras sustancias en el humo del tabaco. Esta enzima tiene un importante rol en su activación metabólica, por ejemplo, la oxidación de benzo[a]pireno es catalizada por CYP1A1 para formar benzo[a]pireno-7,8-epóxido, que puede oxidarse adicionalmente por la enzima epóxido hidrolasa (EH) para formar dihidrodiol de benzo[a]pireno-7,8 y finalmente, CYP1A1 cataliza este intermedio para formar benzo [a] pireno-7,8-dihidrodiol-9,10-epóxido, que es un carcinógeno. Estos hidrocarburos una vez hidroxilados interaccionan sobre el ADN celular formando aductos o enlaces covalentes estables en diferentes protooncogenes como el myc y el gen supresor TP53, lo que puede provocar mutaciones a través de errores en la replicación del mismo (10, 43, 130).

Además, se ha demostrado que el supresor tumoral TP53 afecta la expresión de CYP1A1, modulando así la activación metabólica de varios carcinógenos ambientales como los HAP (10,43).

Se ha comprobado que las personas fumadoras que por motivos genéticos tienen una alta actividad de esta enzima, están más predispuestas a la aparición de cáncer de pulmón Y mamas que aquellas con una baja actividad de la misma (43, 151-157).

Polimorfismos de CYP1A1

Cuando las enzimas del Citocromo presentan alteraciones en su estructura génica es posible la alteración de su actividad. Cuando estas variaciones se presentan en los genes que codifican para ella pueden alterar su funcionalidad, ocasionando la disminución de hasta 90% de la función de la enzima o, en algunos casos, aumentando su función (43, 130, 131, 153-159).

Se han identificado varios polimorfismos en CYP1A1, algunos de los cuales conducen a una actividad AHH más altamente inducible (43, 153-159). Uno de ellos es aquel ubicado en el exón 7, donde se cambia una T (en el alelo wild type) por C, generando un nuevo sitio de clivaje por la enzima de restricción MspI. Se presentan así tres genotipos diferentes asociados a estos alelos, que darán un patrón de bandas

características (**Figura 4**). Este polimorfismo está asociado con un mayor riesgo de cáncer relacionado al tabaco, como los cánceres bucales y de pulmón.

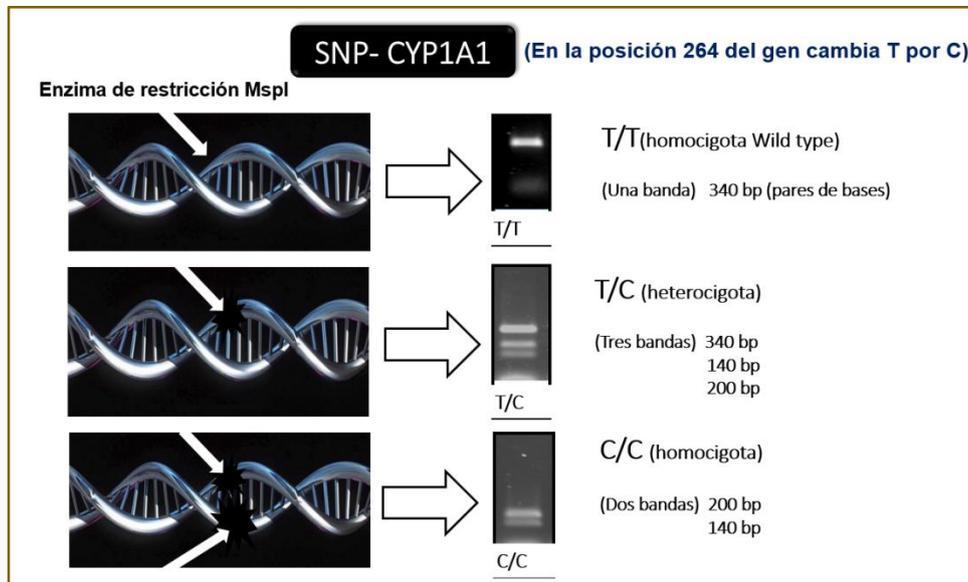


Figura 4. Genotipos de la variante polimórfica del gen CYP1A1.

Ciertas variantes del genotipo del gen CYP1A1 causan una mayor actividad enzimática que jugaría un rol importante en la susceptibilidad individual de riesgo de padecer cáncer; estas formas altamente inducibles de CYP1A1 están asociadas con un mayor riesgo de cáncer de pulmón en los fumadores (43, 131, 153-159).

Glutación- s -transferasa (GST)

Las GST que juegan un papel importante, principalmente en la segunda fase del metabolismo de los xenobióticos, puesto que son capaces de metabolizar un amplio rango de estructuras químicas al catalizar la conjugación del glutatión reducido (GSH) con compuestos electrolíticos como carcinógenos, toxinas ambientales y productos del estrés oxidativo, para hacer que estos compuestos sean más solubles en agua (electrofilicos) facilitando su excreción por bilis u orina (132,157).

Estas enzimas han sido implicadas en la detoxificación y biotransformación de muchos xenobióticos, incluidos varios carcinógenos y un número considerable de medicamentos.

Las GST representan una superfamilia de enzimas presentes en todos los organismos aerobios. Existen tres familias principales que se encuentran ampliamente distribuidas en la naturaleza. De acuerdo con su localización celular se clasifican en citosólicas, mitocondriales y microsomales. Son expresadas en células del hígado, pulmón,

corazón, intestino, eritrocitos y linfocitos (129, 132, 160). Por otra parte, estas enzimas se han encontrado implicadas en la síntesis de ligandos que se acoplan a receptores de superficie celular y en la inhibición de los mismos. De igual forma, este tipo de enzimas puede interactuar con proteínas tipo quinasas que participan en las vías de transducción de señales (132, 161, 162).

Dentro de las GST, la familia más compleja y ampliamente estudiada es la citosólica, constituida por proteínas diméricas con subunidades que van desde 199 a 244 aminoácidos de longitud. De acuerdo con la homología en la secuencia de aminoácidos, especificidad del sustrato y el punto isoeléctrico, se han agrupado en cinco clases designadas como GSTA (α), GSTM (μ), GSTP (π), GSTT (θ) y GSTO (ω) cuyos genes se encuentran localizados en los cromosomas 6p12, 1q13.3, 11q13, 22q11.2, y 10q24.3, respectivamente (132, 161, 162). Cada una de las clases de GST presentan distintas isoformas codificadas por varios genes: la clase α está codificada por GSTA1, GSTA2, GSTA3 y GSTA4; la clase π por el gen GSTP1, mientras que la clase θ consiste de dos genes como GSTT1 y GSTT2 (133, 135). De igual forma, la clase μ esta codificada por cinco genes que dan lugar a distintas isoformas como son GSTM1, GSTM2, GSTM3, GSTM4 y GSTM5 (132).

Polimorfismos del gen GSTM1

Los genes que codifican las enzimas GST son polimórficos; esas variantes han sido asociadas con aumento en la susceptibilidad a enfermedades inflamatorias como el asma, alergias y artritis reumatoide, además con el riesgo a padecer diversos tipos de cáncer como: tiroides, mama, pulmón o próstata, y cáncer bucal (43, 130-132, 165-173) así como enfermedades cardiovasculares entre otras.

El gen que codifica la enzima GSTM1 se encuentra localizado en el cromosoma 1p13.3 del ser humano (136.) Este gen presenta diversos tipos de polimorfismos que han sido caracterizados, los cuales incluyen cambios en una sola base nitrogenada originando los alelos GSTM1 A y GSTM1 B, duplicaciones del gen GSTM1*1x2 y una delección que da origen al genotipo identificado como GSTM1 0 o alelo nulo (132, 168, 169, 173).

Dentro de los polimorfismos mejor estudiados se encuentran las delecciones del gen GSTM1 (llamadas comúnmente alelo nulo); este polimorfismo en estado homocigota lleva a la pérdida total de la actividad enzimática y es detectado por la ausencia del fragmento que corresponde al gen una vez que se amplifica mediante PCR la región donde se encuentra **(Figura 5)** (132, 170,171).



Figura 5. Polimorfismo del gen GSTM1, donde se observaría la presencia o la ausencia de la proteína.

Estudios realizados en poblaciones caucásicas demuestran que la delección del gen GSTM1, que ocurre por una recombinación desigual entre dos regiones altamente conservadas de 4.2 Kb que se ubican en los extremos 5' y 3' del gen respectivamente, lleva a la pérdida de un segmento de aproximadamente 18 Kb. La recombinación se produce por la unión de los dos segmentos repetidos que flanquean el gen, específicamente en una región "hot spot" de aproximadamente 23 Kb que no codifica para la proteína (**Figura 6**) (164, 172, 173).

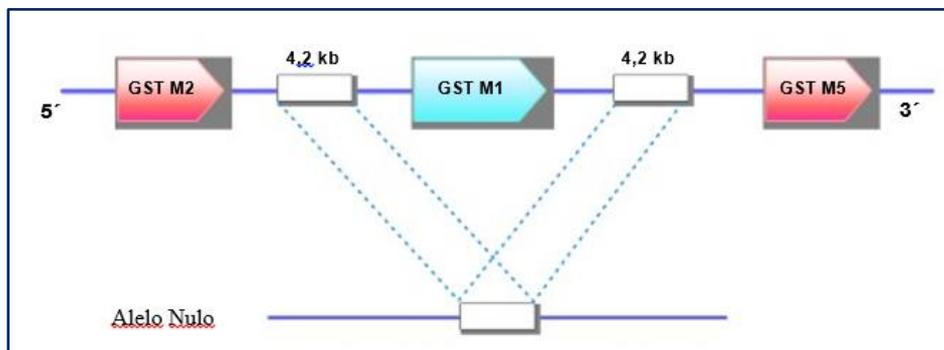


Figura 6. Mecanismo de la delección del gen GSTM1. Modificado de Timofeeva y cols

La presencia de estos polimorfismos afecta la actividad antioxidante de estas proteínas (43, 160-173) por consiguiente, los individuos que carecen de esta vía interna de defensa contra agentes tóxicos pueden incrementar potencialmente la susceptibilidad a varios tipos de cáncer, por una disminución en la habilidad de desintoxicar cancerígenos tales como benzo[a]pyrene-7,8-diolepoxide, la forma activa del benzo[a]pireno, o el acetaldehído, aumentando de esta manera el tiempo de exposición a los mismos.

Proteína supresora de tumores: TP53

En la especie humana, el gen P53 o TP53, también llamado el "guardián del genoma", se encuentra en el brazo corto del cromosoma 17 (17p13) y codifica un factor de transcripción nuclear de 43.7 KDa. El gen TP53 es un gen supresor tumoral que desempeña un papel importante en apoptosis y control del ciclo celular, es esencial para regular el ciclo de células cuyo ADN ha sido dañado por agentes del medio ambiente. Un TP53 defectuoso podría permitir que las células anormales proliferen aumentando el riesgo de cáncer y se ha observado que alrededor de un 50 % de todos los tumores humanos contienen mutaciones en TP53 (174, 175).

La integridad del genoma es crucial para la supervivencia y reproducción de toda la vida en la tierra, y la es constantemente amenazada por una variedad de injurias de genotóxicos, con decenas de miles de eventos dañinos que ocurren en cada célula diariamente (174-176). La reparación errónea puede provocar mutaciones que potencialmente conducen a una función genética alterada, que a su vez puede dar lugar al desarrollo del cáncer (174 -178).

La proteína TP53 es una fosfoproteína formada por 393 aminoácidos y 3 dominios (174):

- Dominio amino - terminal: implicado en la activación de factores de transcripción.
- Dominio central: que reconoce la secuencia específica del ADN (región más conservada de la proteína).
- Un dominio carboxilo-terminal: donde se encuentra la zona de tetramerización, ya que se une al DNA en forma de tetrámero.

El 80% de las mutaciones puntuales de TP53 que se detectan en los cánceres humanos están localizadas en el dominio de unión a ADN de la proteína (174).

Las principales funciones de esta proteína son:

- Quiescencia o detención transitoria del ciclo celular:

Detención del ciclo celular en el punto de control G1/S mediada por TP53, cuando se reconoce el daño en el ADN, para evitar su replicación. Puede considerarse la respuesta principal cuando se produce daño en el ADN. La detención del ciclo celular en la transición G1/S se debe a la transcripción dependiente de TP53 del inhibidor de CDKs o también, cinasa dependiente de ciclina (CDC) denominado CDKN1A/p21. La activación de p21 inhibe los complejos CDK-ciclina y evita la fosforilación de pRb, de manera que el factor de transcripción E2F permanece inactivo, y se impide la progresión

de la célula hacia la fase S (de síntesis del ADN). Esta "pausa" en la progresión del ciclo celular da tiempo a reparar los daños producidos en el ADN (177).

- Activación de enzimas de reparación del ADN:

El gen TP53 activa las enzimas de reparación del ADN para reparar los daños detectados. Uno de sus genes diana transcripcionales, *TP53R2*, codifica para una reductasa de ribonucleótidos, que es importante en la replicación y reparación del ADN. También interacciona directamente con la endonucleasa AP y la enzima ADN polimerasa que están implicados en la reparación por escisión. TP53 además induce ciertas proteínas, como GADD45 (por *growth arrest and DNA damage*) que colaboran en la reparación del ADN. Si el daño se repara correctamente, TP53 estimula la síntesis de Mdm2, activando su autodestrucción y la progresión en el ciclo celular. Si el daño no puede ser reparado, la célula puede entrar en apoptosis o en senescencia, ambos inducidos por TP53 (177-180).

- Entrada en senescencia:

Iniciación del proceso de senescencia, que es una parada permanente en el ciclo celular, caracterizada por cambios específicos en la morfología y en la expresión génica, que la diferencian de la quiescencia o parada celular reversible. La entrada en senescencia requiere la activación de TP53 y/o pRb y la expresión de mediadores como inhibidores de CDK, y suele ser irreversible. Como todas las respuestas mediadas por TP53, la entrada en senescencia puede inducirse por la presencia de diferentes tipos de estrés, como hipoxia, acortamiento de los telómeros o señalización oncogénica (177-180).

- Activación de la apoptosis:

La entrada en apoptosis es el último mecanismo protector, si el daño en el ADN es irreparable, para evitar la proliferación de las células que contienen ADN anormal. TP53 activa la expresión de genes pro-apoptosis, como BAX o PUMA. Sin embargo, no está claro cómo decide la célula si debe reparar su ADN o entrar en apoptosis. Parece que TP53 presenta mayor afinidad por los promotores de los genes de reparación del ADN que por los promotores de los genes pro-apoptosis, de manera que primero se activa la reparación del ADN, pero si ésta no es efectiva y TP53 continúa acumulándose, se activarían los genes pro-apoptosis (174).

En resumen, TP53 enlaza los procesos de daño en el ADN con reparación, parada en el ciclo celular y apoptosis. Es por ello que recibe el nombre de "guardián del genoma". Si una célula pierde la función de TP53, el daño en el ADN no se repara, se acumula en las células hijas y éstas entran directamente en la ruta hacia la tumorigénesis (174, 182). Se ha demostrado que la senescencia y la apoptosis celular actúan como barrera contra la transformación maligna tanto en mucosa sana como en desórdenes potencialmente malignos (174, 181). Ambos mecanismos, trabajan como vías que evitan la proliferación incontrolada de células transformadas al detener la progresión del ciclo celular, sin embargo, ambas vías pueden potencialmente agotar las reservas de células madre y progenitoras, promoviendo así degeneración tisular e insuficiencia orgánica, que son ambas características del envejecimiento.

Polimorfismos de TP53

En los últimos años, se ha prestado mucha atención al polimorfismo del codón 72 Arg / Pro de TP53 (mutación TP53Arg72Pro) (178-181). Dado que las mutaciones conducen a un aumento del riesgo a cáncer que no siempre se relaciona con la herencia familiar, el papel de los polimorfismos de un solo nucleótido en TP53Arg72Pro origina tres genotipos diferentes arginina/arginina (G/G) wild type, variante polimórfica arginina /prolina (G/C) y la variante prolina/ prolina (C/C) (**Figura 7**). Estas formas de TP53 difieren en su capacidad para inducir apoptosis y detención del crecimiento celular. La variante CC posee una mayor capacidad para transactivar p21 e inducir la detención del crecimiento, mientras que la variante GG es un mejor inductor de la transcripción, y promueve la apoptosis más eficientemente. Recientemente, este polimorfismo ha sido asociado a varios tipos de cáncer, como el CB (181-183) cáncer gástrico (184), así como con otras neoplasias malignas, como el cáncer de pulmón (184), esófago (184), colon-recto (184), mama (185), vejiga (186) y cuello uterino (187).

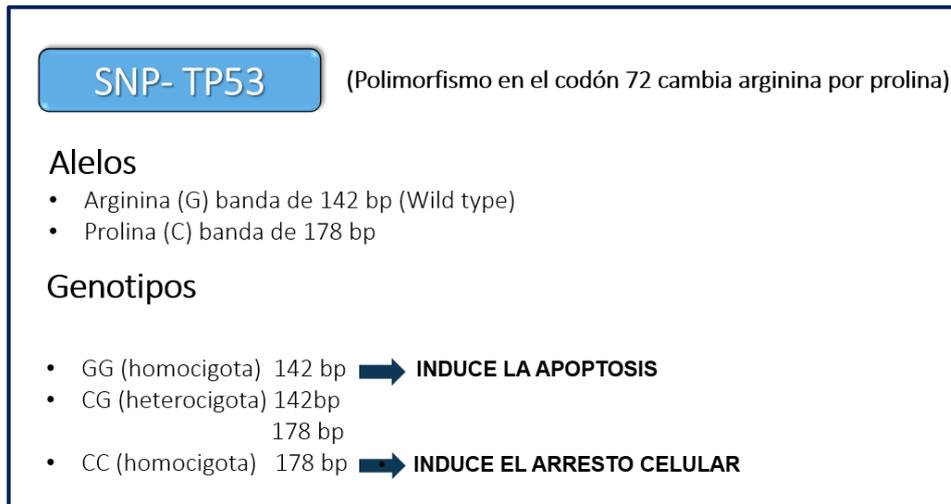


Figura 7. Variantes polimórficas del codón 72 del gen TP53.

Desórdenes potencialmente malignos (DPM)

Las lesiones cancerizables o DPM, son procesos benignos que presentan un mayor riesgo, estadísticamente significativo, de transformarse en cáncer, tengan o no displasia o atipia epitelial (8,188). Los DPM, más frecuentes, de ubicación intrabucal reconocidos por la OMS son las leucoplasias, algunos tipos de líquen plano bucal, la fibrosis oral submucosa, las eritroplasias y las palatitis nicotínicas por fumar invertido (188). Esta clasificación no incluye a otras patologías con una alta incidencia de transformación maligna, como las úlceras traumáticas crónicas de la cavidad bucal, y con un menor riesgo, las candidiasis crónicas (8,189).

Actualmente la leucoplasia es definida por la OMS como una placa blanca de riesgo cuestionable habiendo excluido otras enfermedades o desórdenes conocidos que no acarrearán riesgo. Se trata de un término solamente clínico, e histopatológicamente puede variar desde la atrofia, hiperplasia o displasia (188). Dos formas clínicas principales son reconocidas por la OMS: leucoplasia homogénea, con bajo riesgo de transformación maligna, y leucoplasia no-homogénea, con un alto riesgo de transformación maligna. Esta última puede incluir las variantes de leucoplasia moteada, eritroleucoplasia, leucoplasia nodular, leucoplasia verrugosa y leucoplasia verrugosa proliferativa (190). La tasa de transformación maligna de la leucoplasia varía entre 0,13 a 17,5 %, con una tasa anual promedio de 2 a 3 % (190,191).

La leucoplasia Verrugosa Proliferativa (LVP) es una forma rara y agresiva de leucoplasia bucal que posee un origen discutido e incierto. Múltiples sitios orales pueden estar involucrados y antes de sufrir transformación maligna pueden pasar muchos años hasta

incluso algunas décadas (192, 193). Fue descrita por primera vez en 1985 por Hansen y col. Estos autores las definían como lesiones blancas (mancha, queratosis o verrugosidad) distribuidas en dos o más sectores de la cavidad bucal y que clínicamente e histológicamente son típicas lesiones de leucoplasia. Los hallazgos clínicos consisten en manchas blancas solitarias o multifocales, de crecimiento lento, persistente e irreversible, las cuales se extienden progresivamente involucrando diversos sectores de la mucosa bucal. Su localización más frecuente es en la encía, en los procesos alveolares y en el paladar duro y blando, a diferencia de la leucoplasia típica (del fumador), que se localiza en la mayoría de los casos en el tercio anterior de la mucosa yugal (192-194).

El diagnóstico temprano de la LVP puede ser difícil, porque las lesiones iniciales son asintomáticas, inocuas en apariencia pero no así en su comportamiento, sólo un porcentaje muy reducido de pacientes consulta por sensación de rugosidad y/o leves molestias (195, 196). Es considerada una enfermedad progresiva de largo tiempo de evolución, que presenta un comportamiento biológico agresivo y que debido a su alta probabilidad de recidiva y su alta tasa de transformación maligna, obliga a la utilización de todo el arsenal terapéutico disponible muchas veces con frustrantes resultados a pesar del tipo de tratamiento utilizado. Una de las diferencias más significativas que presenta con respecto a la leucoplasia convencional, es que se observa con mayor frecuencia en el sexo femenino, en una proporción 4:1, y que el consumo de tabaco no parece tener influencia como posible agente etiológico (195-197). El riesgo de transformación maligna de LVP es de un promedio que varía de 70%-87%, mientras que en la leucoplasia convencional, el rango de transformación maligna varía entre 0,13 y 17,5 %. Las lesiones muestran continuos cambios microscópicos que van desde hiperqueratosis epitelial hasta carcinomas espinocelulares, con etapas intermedias de displasias seguidos por carcinomas verrugosos (197). Hasta el momento no existen pruebas de tratamientos efectivos para la prevención de la transformación maligna de la LVP ya que presenta un comportamiento refractario a los distintos tratamientos utilizados (195-197). Los autores enfatizan la importancia del seguimiento clínico minucioso de por vida de estos pacientes y la realización de un examen periódico detallado clínico e histológico de este tipo de lesiones, con el fin de detectar signos de malignidad precozmente: incremento de la consistencia de la lesión, presencia de hemorragias esporádicas, aumento del eritema de la base o de neoformación vascular. El liquen plano bucal (LPB) es una enfermedad inflamatoria crónica de etiología desconocida, aunque reportes recientes vinculan su aparición a infección por VPH. De acuerdo a los reportes, entre el 0,4 al 6,5 % de los pacientes con liquen plano bucal desarrollan carcinoma de células escamosas bucales a largo plazo (190, 191, 198, 199).

Mientras la OMS clasifica al liquen plano bucal como un DPM, todavía es materia de debate cuáles son los mecanismos que generan el aumento de riesgo de cáncer en mucosa bucal. La hipótesis actual que conecta al liquen plano bucal con el carcinoma de células escamosas es el efecto de la inflamación crónica sobre el daño genético y epigenético que participan en la carcinogénesis bucal (10, 190, 191, 198).

La infección por *Cándida*, principalmente *C. Albicans*, es la infección micótica oportunista más frecuente en mucosa bucal. La presencia de varias especies de *Cándida* en el CB y los DPM es muy frecuente, aproximadamente en el 30% de los casos (200). Tanto en pacientes con CB, como con DPM, la severidad de la displasia se relaciona con una mayor colonización por *Cándida* (200, 201). En pacientes con leucoplasias bucales, la infección por *Cándida* se relaciona con la presencia de lesiones múltiples en vez de únicas, con mayor recurrencia de lesiones y con mayor grado de displasia (201, 202). Desde los reportes iniciales de asociación entre candidiasis, cáncer y precáncer bucal, varias teorías han sido debatidas teniendo en cuenta el rol de la *Cándida* en el desarrollo y transformación de los DPM. Ciertos factores que producen inmunosupresión pueden conducir a la activación de varios biotipos de *Cándida*, aumentando su potencialidad para sintetizar nitrosaminas. Estas nitrosaminas pueden entonces actuar sobre el epitelio normal conduciendo a la displasia y posterior desarrollo a carcinoma bucal. Puede considerarse que la *Cándida* en asociación con el tabaco puede aumentar el proceso de carcinogénesis, y que posee un rol causal indirecto en el CB (203). Con similar criterio se ha postulado que *Cándida albicans* aislada de DPM de cavidad bucal puede producir cantidades mutagénicas de acetaldehído. El tabaquismo y el alcoholismo pueden favorecer cambios adaptativos que resultan en la sobreestimulación del metabolismo de acetaldehído por *Cándida* (204). Además, el incremento de TP53 en candidiasis hiperplásica bucal crónica sugiere un incremento en el potencial para cambios malignos del epitelio, por encima de tejidos normales (1205). Sin embargo, basado en la evidencia disponible, la habilidad de la *Cándida* para producir neoplasia directamente sin participación de otros factores no es clara, sino que pareciera actuar sólo en conjunto con otros cofactores (203).

El cáncer bucal forma parte de un importante grupo de patologías denominadas Enfermedades Crónicas no Trasmisibles y se caracteriza por que su prevalencia e incidencia cambia de acuerdo al área geográfica, ambas asociadas a factores genéticos, a hábitos y costumbres propias de cada región o cultura. En países en vías de desarrollo como la Argentina, se enfrentan grandes desafíos por responder al aumento en la tasa de mortalidad y morbilidad de los últimos años y en el tratamiento y cuidados posteriores de pacientes con cáncer en estadios avanzados, considerándose una de las principales causas de muerte. Sin embargo, no existen datos sobre la composición genética y las

investigaciones sobre este tema podrían aportar conocimientos que mejoren las estrategias de prevención. Toda esa información podría ser muy útil en establecer el impacto de los factores de riesgo sobre el CB e identificar los modificadores genéticos de riesgo en esta población, mejorando de esta manera, la calidad de vida de nuestros pacientes y reducir los costos de la terapia de esta enfermedad. Si bien existen trabajos que estudian estos polimorfismos en diferentes poblaciones humanas, ninguno se ha realizado en nuestra provincia. Por ello, resulta de interés estudiar estos polimorfismos y relacionarlos con diferentes factores de riesgo para el desarrollo de CB y DPM, tales como el tabaco y el alcohol.

Hipótesis

Los polimorfismos de los genes TP53, CYP1A1 y GSTM1 están asociados a mayor riesgo de contraer cáncer bucal y desórdenes potencialmente malignos.

Objetivo general

Determinar y evaluar la relación entre los polimorfismos de genes relacionados a la proliferación celular y al metabolismo de los carcinógenos con el desarrollo de desórdenes potencialmente malignos y cáncer bucal.

Objetivos específicos

- Evaluar los genotipos y frecuencias alélicas del polimorfismo del gen TP53, codón 72 en pacientes con desórdenes potencialmente malignos y cáncer bucal.
- Evaluar los genotipos y frecuencias alélicas de los polimorfismos de los genes CYP1A1 y GSTM1 en pacientes con desórdenes potencialmente malignos y cáncer bucal.
- Investigar si el hábito del tabaquismo y el consumo de alcohol en presencia de los polimorfismos de los genes CYP1A1, GSTM1 y TP53 aumentan el riesgo en el desarrollo de DPM y CB.

MATERIALES Y MÉTODOS

Aspectos éticos

Este estudio se realizó de acuerdo con la declaración de Helsinki y fue aprobado por el Comité de Investigación y Ética del Ministerio de Salud de la provincia de Córdoba (No. 1378-[http://www.cba.gov.ar / listado-de-investigaciones-registradas /](http://www.cba.gov.ar/listado-de-investigaciones-registradas/)) y de la Facultad de Odontología UNC (ODO CAI-CIEIS N° 17T, libro de actas N°101 con fecha 09 de mayo de 2017); todos los pacientes firmaron los formularios de consentimiento informado (**Anexo 1**).

Población estudiada

Se realizó un diseño de tipo observacional-transversal. Se incorporaron pacientes (n=140), adultos (mayores de 18 años), de ambos sexos y de edades comprendidas entre 18 y 85 años que concurrieron por demanda espontánea al Consultorio externo de la Cátedra "A" de Estomatología de la Facultad de Odontología, Universidad Nacional de Córdoba y al servicio de prevención, diagnóstico precoz y tratamiento de las enfermedades de la mucosa bucal, en el período comprendido entre los años 2016-2019.

Se establecieron tres grupos de estudio:

- Grupo de Cáncer Bucal (**gCB**): Pacientes con diagnóstico clínico e histopatológico de Carcinoma de Células Escamosas (CCE). (Según clasificación internacional de enfermedades (CIE-10 C06-C06).
- Grupo de Desórdenes potencialmente malignos (**gDPM**): según los criterios descritos por Warnakulasuriya et al. 2020 (188, 206).
- Grupo Control (**gC**): Los controles fueron pacientes que concurrieron al mismo lugar de atención que los casos, pero con diagnóstico de patologías diferentes de CB o DPM.

Los controles seleccionados y los pacientes con DPM / CB correspondieron a la misma región geográfica (**Anexo 2 y 3**).

Los criterios de exclusión fueron: pacientes con patologías sistémicas que involucran algún desorden del sistema inmunitario y/o discrasias sanguíneas, que hubieran recibido terapia antineoplásica o tratamiento con drogas inmunomoduladoras o inmunosupresoras, como corticoterapias o quimioterapias que pudieran modificar la

clínica de las lesiones bucales. Además pacientes con enfermedades sistémicas, alcoholismo crónico, consumo de drogas y cánceres en otras localizaciones.

Tabla 2. Criterios y puntos de corte para las variables estudiadas

Variable	Categoría	Punto de corte
Diagnóstico	Control: 0 Cáncer bucal: 1 DPM:2	De acuerdo a criterio de DPM de Warnakulasuriya et al. (Warnakulasuriya S, Johnson NW, van der Waal I. Nomenclature and classification of potentially malignant disorders of the oral mucosa. J Oral PatholMed 2007; 36: 575–80)
Sexo	Masculino: 0 Femenino:1	De acuerdo a fenotipo biológico
Edad	≤ a 45 años: 0 ≥ a 45 años:1	Según Moreno-López LA, Esparza-Gómez GC, González-Navarro A, Cerero-Lapiedra R, González-Hernández MJ, Domínguez-Rojas V. Risk of oral cáncer associated with tobacco smoking, alcohol consumption and oral hygiene: a case-control study in Madrid, Spain. Oral Oncol 2000; 36:170-4.
Hábitos	No presenta: 0 Tabaco: 1 Alcohol: 2 Tabaco y alcohol: 3 Otro: 4	Vía anamnesis Tabaco: consumo actual de al menos un cigarrillo por día durante un periodo de un año como mínimo). Alcohol: consumo actual de al menos dos bebidas alcohólicas por semana durante un periodo de un año como mínimo
Polimorfismos TP53	Alelo wild type (G): 0 una banda de 142bp Variante(C): 1 una banda de 178bp	Según Saleem S, Azhar A, Hameed A, Khan MA, Abbasi ZA, Quereshi NR, Ajmal M. P53 (Pro72Arg) polymorphism associated with the risk of oral squamous cell carcinoma in Punjab, India. Oral Oncol. 2013; 49(8):818-23.
Polimorfismos CYP1A1	Alelo wild type (T): 0 una banda de 340bp Variante: 1 (C): 2 bandas, 200bp y 140bp.	Según Deepika Shuklaa, AlkaDineshKaleb, SeemaHallikerimathb, SubbiahVivekanandhanc, YerramallaVenkatakanthaiahc. Genetic polymorphism of drug metabolizing enzymes (GSTM1 and CYP1A1) as risk factors for oral premalignant lesions and oral cancer. Biomed Pap Med Fac UnivPalackyOlomoucCzechRepub. 2012; 156(3):253–9
Polimorfismos GSTM1	Alelo wild type: una banda de 300bp: 0 Variante: ausencia de alelo, no hay banda: 1	Según Deepika Shuklaa, AlkaDineshKaleb, SeemaHallikerimathb, SubbiahVivekanandhanc, YerramallaVenkatakanthaiahc. Genetic polymorphism of drug metabolizing enzymes (GSTM1 and CYP1A1) as risk factors for oral premalignant lesions and oral cancer. Biomed Pap Med Fac UnivPalacky Olomouc Czech Repub. 2012; 156(3):253–9.

Procedimientos clínicos

1. *Examen clínico médico-odontológico:* A cada paciente se le realizó examen clínico y toma de fotografías en un sillón odontológico standard. El relevamiento de las condiciones clínicas de la cavidad bucal se realizó mediante el uso de instrumental exploratorio de rutina, siguiendo los protocolos estomatológicos ya establecidos por la Cátedra “A” de Estomatología. Luego de la firma del consentimiento informado por parte de cada paciente, se completó la historia clínica (**Anexo 2**), en la que se registraron los siguientes datos, obtenidos mediante anamnesis directa: datos personales, demográficos, clínicos, antecedentes personales patológicos y no patológicos, hábitos

de consumo de tabaco y alcohol.

Se consideró *fumador* al individuo que fumó ocasional o regularmente por más de un año. El *consumo de tabaco* fue establecido mediante anamnesis determinando cuántos años duró el período de mayor consumo diario de tabaco y el promedio diario de cigarrillos durante dicho período. Luego se estableció cuántos cigarrillos diarios fumó el paciente antes y después del período de mayor consumo, y cuántos años duraron los períodos anterior y posterior al de mayor consumo. Para cada período se multiplicó el promedio diario de consumo de tabaco por los años de duración de dicho período, y el resultado fue multiplicado por 365 para obtener el subtotal de cigarrillos fumados en cada período. Los subtotales fueron sumados para obtener así el consumo total de tabaco, expresado en número de cigarrillos (207) (**Tabla 3**).

Tabla 3: Categorización del tabaco según intensidad

CATEGORÍA	CIGARRILLOS CONSUMIDOS
1	< 100.000
2	100.000-200.000
3	>200.000

Se consideró *bebedor* al individuo que tomaba alcohol ocasional o regularmente por más de un año, independientemente del tipo de bebida. Por el contrario, *no bebedor* fue aquel que no consume ni consumió alcohol habitualmente, o consume ocasionalmente hasta un vaso de bebida semanal por menos de un año (208).

Con respecto al consumo de alcohol: una unidad alcohólica (drink) por día se consideró como exposición al alcohol, de acuerdo con Pentenero y col. (208). Se estimó la ingesta total de alcohol en gramos por día y el consumo aproximado de alcohol por años de vida según Caciva y col. (95) (**Tabla 4**).

Tabla 4: Categorización del Alcohol según intensidad

Categoría	Consumo de Alcohol en g
1	< 200.000
2	200.000-400.000
3	>400.000

2. *Biopsia*: Se realizó biopsia, para estudios anatomopatológicos que confirmaran el diagnóstico clínico. Previamente se solicitaron estudios de laboratorio y complementarios, que confirmen el estado general del paciente.

3. *Citología exfoliativa*: A cada paciente se les realizaron dos citologías exfoliativas (CE) utilizando cytobrush (Medibrush Plus ®; Medical Engineering, Argentina), de mucosa clínicamente sana. Con una de las muestras se realizó un extendido citológico y se lo tiñó con coloración de PAP (**Figura 8**), para corroborar que la mucosa estuviera sana. La otra muestra se guardó en tubos Eppendorff estériles, en freezer a -20°C hasta su utilización para extracción de ADN y posterior aplicación de técnica de PCR.

Procedimientos de laboratorio

1. Aislamiento de ADN y genotipificación

El aislamiento del ADN se realizó a partir de las muestras de mucosa bucal sana, corroboradas por la tinción de Papanicolaou, según protocolo de Zarate y col (209).

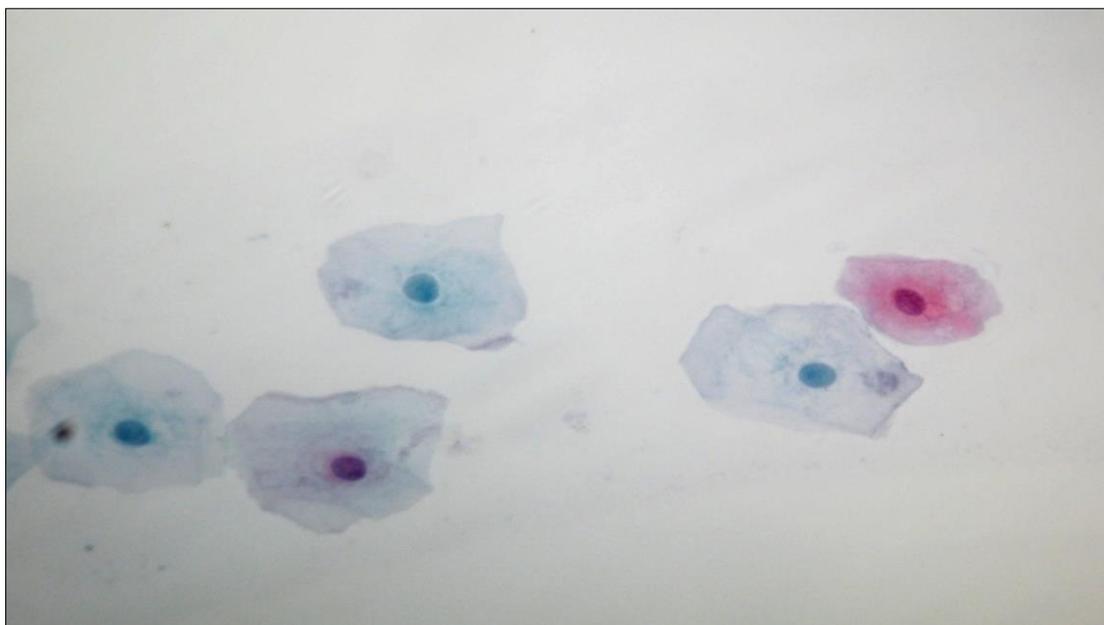


Figura 8. Fotomicrografía de células epiteliales exfoliadas del sector de piso de boca. Coloración de Papanicolaou (MO 400x).

2. Estudio de polimorfismos genéticos

Al ADN extraído de las CE de todos los pacientes, se les realizaron estudios de polimorfismos de los genes: TP53 (polimorfismo ubicado en el codón 72); CYP1A1 (polimorfismo del exón 7) y GSTM1 (polimorfismo ausente o presente).

El ADN genómico (150 ng en cada caso) para TP53, se amplificó mediante PCR convencional, utilizando los siguientes primers correspondiente para la detección de la variante Pro72y Arg72 (**Tabla 5**). El alelo salvaje (wild-type) se presenta como una banda de 142 bp y la variante como una banda de 178 bp.

El ADN genómico (150ng) para análisis genotípico de GSTM1 se amplificó por PCR convencional, utilizando los primers correspondientes (**Tabla 5**). El alelo salvaje (wild-type) se determina por una banda de 300 bp y en las muestras que presentaron la variable polimórfica, como el gen está ausente, no se observa ninguna banda (43).

Para **CYP1A1** (rs 4646903; T > C en la región no codificante 3', el ADN genómico (150ng) fue amplificado por RFLP-PCR, utilizando los primers correspondientes (Tabla 5). El producto de PCR para CYP1A1 fue digerido utilizando enzima de restricción MspI (Invitrogen Thermo Fisher) a 37°C por 3hs. El alelo salvaje (wild-type) se presenta como una banda de 340bp, la variante como dos bandas de 200 y 140 bp. Los individuos homocigotas (TT), muestran una banda de 340 bp, los heterocigotas (TC) tres bandas de 340, 200 y 140 bp y la variable homocigota (CC), dos bandas una de 200 y 140bp (43).

En todos los casos, la amplificación por PCR se realizó en termociclador (Cycler de Bio Rad) utilizando el siguiente protocolo: 5 min a 95°C, 30 segundos (seg) a 95°C, 30 seg a 60°C -55°C dependiendo del SNP y 45 seg a 72°C durante 35 ciclos, con un adicional 5 min a 72°C después del último ciclo. Los productos de la PCR se separaron en un gel de agarosa TBE (Tris / Borato / EDTA) al 3% y se tiñeron con bromuro de etidio. Para determinar el tamaño del fragmento de ADN, se utilizó un patrón de ADN (Thermo Scientific™ Gene Ruler 100 pb, EE. UU.). El control negativo se realizó mediante la reacción que tenía todos los reactivos excluyendo el ADN molde (**Tabla 5**).

Tabla 5. Primers utilizados para los estudios de los polimorfismos de los genes TP53, CYP1A1 y GSTM1

POLIMORFISMOS	PRIMERS
TP53: El polimorfismo se determinó por PCR convencional.	Forma prolina: Sense 5 GCCAGAGGCTGCTCCCC3 Antisense 5 CGTGCAAGTCACAGACTT3 Forma arginina: Sense 5 TCCCCCTTGCCGTCCCAA-3 Antisense 5 CTGGTGCAGGGGCCACGC3
CYP1A1: Se utilizó PCR-RFLP y enzima de restricción MspI una vez obtenido el producto de amplificación.	Sense 5-CAG-TGAAGAGGT-GTA-GCC-GCT-3 Antisense 5-TAG-GAG-TCTGTCTC-ATG-CCT-3
GSTM1: El polimorfismo se determinó por PCR convencional.	Sense 5-CTG-CCCTAC-TTGATT-GAT-GGG-3 Antisense 5-CTG-GAT-TGTAGC-AGA-TCATGC-3

Análisis estadísticos

El nivel de significación estadística se estableció en $p \leq 0,05$. Los datos categóricos se describieron por frecuencias absolutas y relativas y las variables cuantitativas se describieron mediante la mediana y el rango. La prueba de Fisher se utilizó para evaluar la asociación bivariada de variables (Tabla de contingencia 2x2), Odds Ratios (OR) y sus respectivos Intervalos de Confianza de 95% (IC 95%). Las asociaciones múltiples, entre las variables estudiadas y los genotipos de los SNP, para visualizar grupos similares fueron realizadas mediante Análisis de correspondencia múltiple y regresión logística. Los datos fueron analizados por el software Infostat versión 2019, Centro de Transferencia Infostat, FCA, Nacional de Córdoba, Argentina. URL <http://www.infostat.com.ar> y el software R (www.r-project.org) (210).

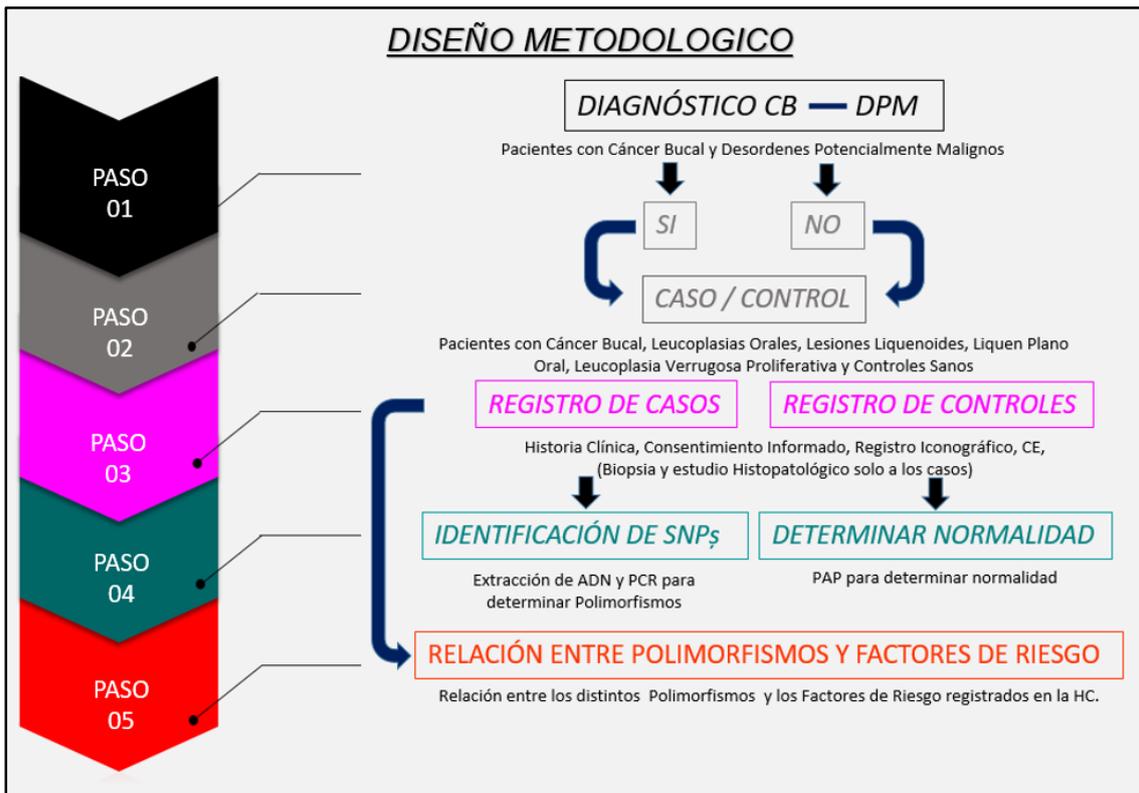


Figura 9: Diseño Metodológico. Estudio transversal de pacientes adultos de ambos sexos que concurren por demanda espontánea a la Cátedra “A” de Estomatología de la Facultad de Odontología, Universidad Nacional de Córdoba. Los datos clínicos, genéticos y medio ambientales se registran mediante Historia Clínica según criterios propios (10, 209, 211, 2012). Los objetivos de este estudio están aprobados por el Comité de Ética e Investigación del Adulto- Hospital Córdoba- n° 1378 (COEIS-CIEIS de la Provincia de Córdoba <http://www.cba.gov.ar/wp-content/4p96humuzp/2012/07/INFORME-INVESTIGACIONES-2014-WEB.pdf>). Se excluyen pacientes con corticoterapias o quimioterapias que modifiquen la clínica de las lesiones bucales y/o con enfermedades sistémicas, consumo de drogas, patologías sistémicas y cánceres de otras localizaciones (**Anexo 3**).

Resultados

En el período 2016-2019 se estudiaron un total de 140 pacientes con lesiones compatibles de CB 29% (n = 41), DPM 44% (n=61) y controles sanos 27% (n= 38). **Figura 10**; los diferentes tipos de DPM se observan en la **Figura 11**.

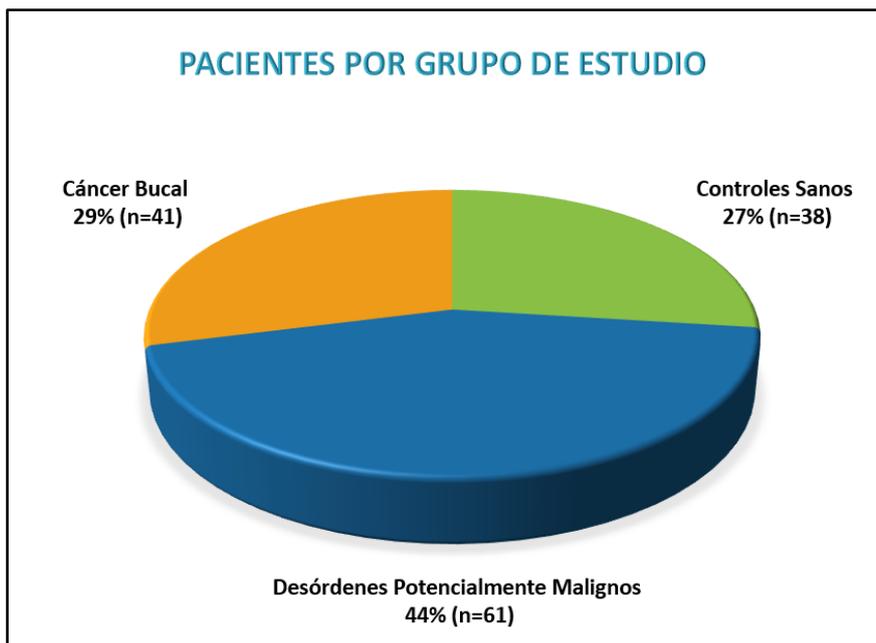


Figura 10. Distribución de la población estudiada, según los diferentes grupos de estudio. gDPM: grupo de pacientes con desórdenes potencialmente malignos; gCB: grupo cáncer bucal; gC: grupo de pacientes control.

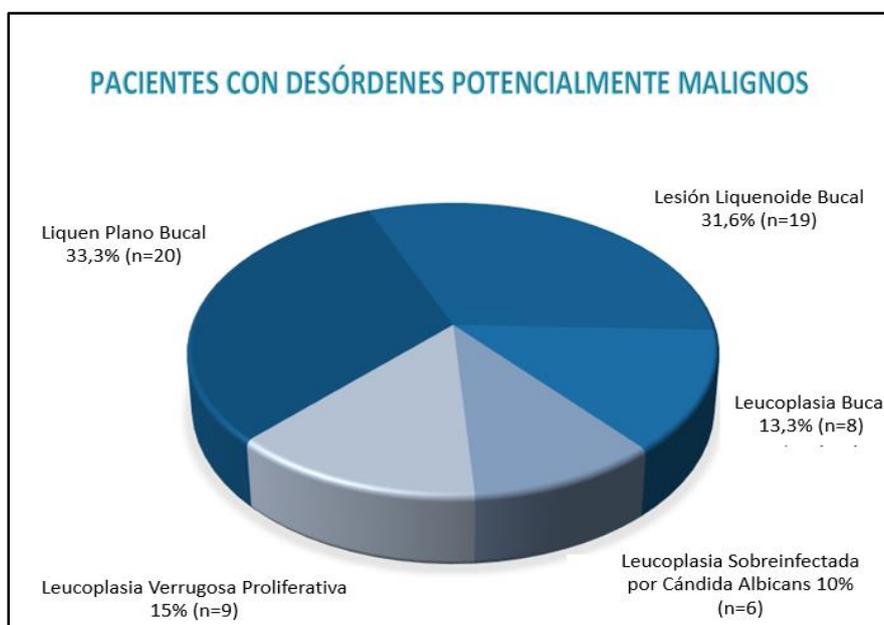


Figura 11. Distribución de los DPM que se presentaron en la población en estudio.

En el caso de los líquenes planos bucales se presentaron tanto formas típicas 5% (n=4), como atípicas 14,5% (n=16). Dentro de las formas atípicas encontramos 60% atróficos, 25% erosivos y 15% en sus formas combinadas.

La población del estudio estuvo constituida por 53,7% (n=75) mujeres y un 46,4% (n=65) hombres. Se observó un porcentaje significativamente mayor de hombres (65.9%) en pacientes diagnosticados con CCE (p = 0.026); las mujeres fueron mayoría no significativa en pacientes diagnosticados con DPM (62.3%) (p = 0.8218). Los aspectos biodemográficos, clínicos y los hábitos de riesgo de la población en estudio se muestran en las **Tablas 6 y 7**.

En gDPM se observó que los factores de riesgo en relación a gC fueron: la edad ≥ 45 Años (OR=3,43, 95%CI [1.12; 10.5]; p=0,0303), el hábito de fumar (OR=45, 95%CI [10.5; 186.7]; p=0,0001) y el alcohol (OR= 4.62 95% CI [1.52; 14.1); p=0,0066] (**Tabla 6**).

En gCB se observó que el sexo femenino fue un factor protector de CB en relación a los controles [(OR= 0.33, 95% CI; [0.12,0.87]; p=0.0269); mientras que el hábito de fumar (OR=5.09 95%CI; [1.46, 17.77]; p=0,0107) y el consumo de alcohol (OR=3.33, 95% CI; [1.04, 10.64; p=0,0438) fueron factores de riesgo para CB (**Tabla 7**).

Tabla 6. Características de la población de gDPM, en relación al gC. IC: intervalo de confianza; FA: frecuencia absoluta; FR: frecuencia relativa; LI: límite inferior; LS: límite superior; OR: Odds ratio. P-valor <0,05 indica significación estadística.

CARACTERÍSTICAS DE LA POBLACIÓN	VARIABLE	CATEGORÍAS	CONTROL (n=38) FA (FR%)	DPM (n=61) FA (FR%)	P-VALOR	OR	95%CL	
							LI	LS
ASPECTOS DEMOGRÁFICOS	Genero	Masculino	15 (40.6)	23 (37.7)		Categoría de Referencia		
		Femenino	23 (59.4)	38 (62.3)	0.8218	1.1	0.46	2.67
	Edad	<45años	11 (28.9)	7 (11.5)		Categoría de Referencia		
		≥ 45 años	27 (71.1)	54 (88.5)	0.0303	3.43	1.12	10.5
FACTORES DE RIESGO	Consumo De Tabaco	Nunca/ex	30 (78.9)	16 (26.2)		Categoría de Referencia		
		Actualmente	8 (21.1)	45 (73.8)	0.0001	45	10.5	186.7
	Consumo De Alcohol	Nunca/ex	26 (68.4)	19 (31.1)		Categoría de Referencia		
		Actualmente	12 (31.6)	42 (68.9)	0.0066	4.62	1.52	14.1
RESULTADOS CLÍNICOS	Sitio Anatómico De Las Lesiones	Lengua		17 (27.9)	0.0679	No Estimado		
		Mucosa Yugal		29 (47.5)				
		Otros Sitios		15 (24.6)				

Tabla 7. Características de la población gCB en relación gC. IC: intervalo de confianza; FA: frecuencia absoluta; FR: frecuencia relativa; LI: límite inferior; LS: límite superior; OR: Odds ratio. P-valor <0,05 indica significación estadística.

CARACTERÍSTICAS DE LA POBLACIÓN	VARIABLE	CATEGORÍAS	CONTROL (n=38) FA (FR%)	CCE (n=41) FA (FR%)	P-VALOR	OR	95%CL	
							LI	LS
ASPECTOS DEMOGRÁFICOS	Genero	Masculino	15 (39.5)	27 (65.9)	Categoría de Referencia			
		Femenino	23 (60.5)	14 (34.1)	0.026	0.33	0.12	0.87
	Edad	<45años	11 (28.9)	5 (12.2)	Categoría de Referencia			
		≥ 45años	27 (71.1)	36 (87.8)	0.0722	2.85	0.92	8.84
FACTORES DE RIESGO	Consumo De Tabaco	Nunca/ex	30 (78.9)	18 (44.4)	Categoría de Referencia			
		Actualmente	8 (21.1)	23 (57.6)	0.0107	5.09	1.46	17.77
	Consumo De Alcohol	Nunca/ex	26 (68.4)	16 (39.4)	Categoría de Referencia			
		Actualmente	12 (31.6)	25 (60.6)	0.0438	3.33	1.04	10.64
RESULTADOS CLÍNICOS	Sitio Anatómico De Las Lesiones	Lengua		26 (63.2)	0.0004	No Estimado		
		Mucosa Yugal		10 (23.7)				
		Otros Sitios		5 (13.2)				

En relación con las zonas anatómicas de la cavidad bucal, la lengua fue el área anatómica de más frecuente de aparición en gCB (63,2%), de los cuales el 78% de los casos fue en el borde de la misma.; mientras que la mucosa yugal fue el lugar más frecuente para el gDPM (47,5%) siendo los líquenes y lesiones líquenoides bucales los más frecuentes en esa localización (64%).

Polimorfismos

Las distribuciones de los genotipos de los polimorfismos de TP53, CY1PA1 y GSTM1 en los grupos estudiados estaban en equilibrio de Hardy-Weinberg. Los tres genotipos se detectaron en todos los SNP estudiados, aunque no fue posible determinar el genotipo correspondiente en todos los pacientes estudiados.

Polimorfismos del gen TP53

Se detectaron los tres genotipos: GG (wild type), GC y CC (**Figura 12**) en todos los grupos estudiados. Se encontró una asociación significativa entre alelo G y el gC. Se encontró asociación estadísticamente significativa entre genotipos y diagnóstico: GC fue el genotipo más frecuente en gCB (p=0,0002) y en el gDPM (p=0,0001); los genotipos GG y GC fueron más frecuentes en los pacientes control (p=0,034) (**Tabla 8**).

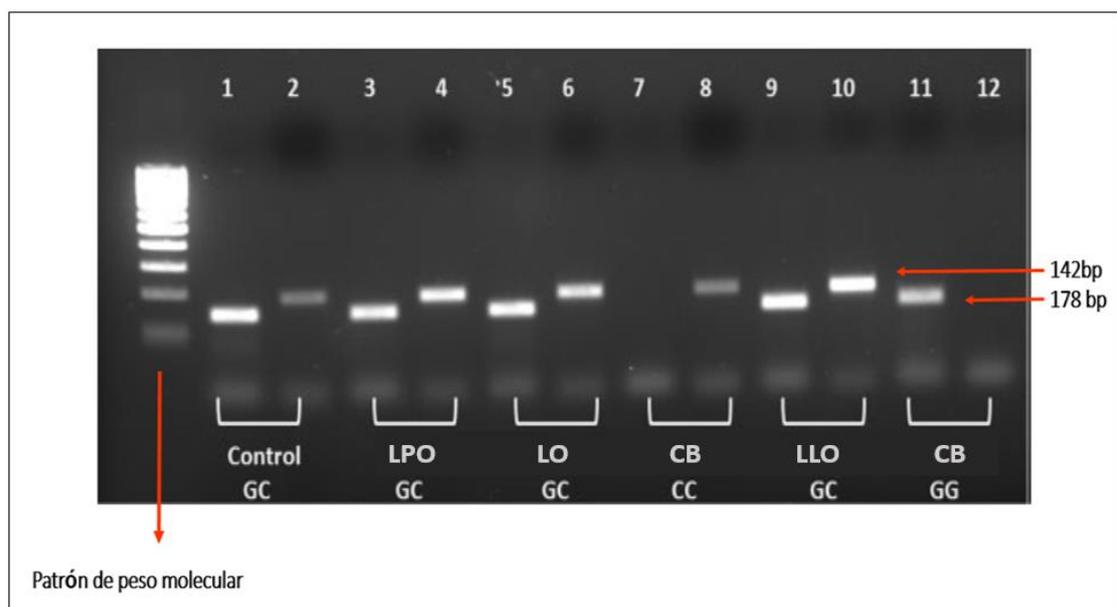


Figura 12: Genotipos del polimorfismo TP53 determinado por PCR convencional en gel 3% de agarosa: CG: heterocigota; CC y GG: homocigota. Alelo wild type Arg72 (G): 142bp; alelo variante Pro72(C): 178bp. LPO: Liquefactive Planar Oral; LO: Leucoplasia oral; LLO: Lesión Liquefactive Oral CB: Cáncer Bucal.

Tabla 8. Frecuencias de alelos y genotipos de TP53, donde observamos ambas variables G (alelo wild type) y C (variante polimórfica) y las combinaciones más frecuentes en los distintos grupos de pacientes CB, DPM y controles.

GEN-SNP ξ (n=140)	ALELOS GENOTIPOS	CONTROL (N=38)			DPM (n=61)			CB (n=41)		
		n	%	p	n	%	p	n	%	p
TP53Arg72Pro	C	26	37.14	0.0314	58	52.72	0.5673	44	52.38	0.6625
	G	44	62.86		52	47.28		40	47.62	
	CC	5	14.29	0.0344	10	18.18	0.0001	8	19.51	0.0002
	GC	16	45.71		38	69.09		26	63.41	
	GG	14	40		7	12.73		7	17.07	

Polimorfismos de CYP1A1

Considerando los genotipos, los encontrados fueron: TT (tipo salvaje), TC y CC (variantes polimórficas) (**Figura 13**). Las frecuencias de alelos y genotipos de CYP1A1 se observan en la **Tabla 9**. El alelo más frecuente fue T (tipo salvaje), en todos los grupos estudiados. Se observaron diferencias estadísticamente significativas de proporciones con el genotipo TT y TC en relación con el genotipo CC en los tres grupos estudiados. Se observó una asociación estadísticamente significativa con los genotipos y el diagnóstico: TT fue el genotipo más frecuente en gCB ($p= 0,0001$), gDPM ($p= 0,0183$) y gC ($p= 0,0001$). Al igual que con el SNP TP53arg72pro, en el análisis bivariado se pudo observar una relación significativa entre las proporciones de los genotipos y los grupos de

estudio (Tabla 9).

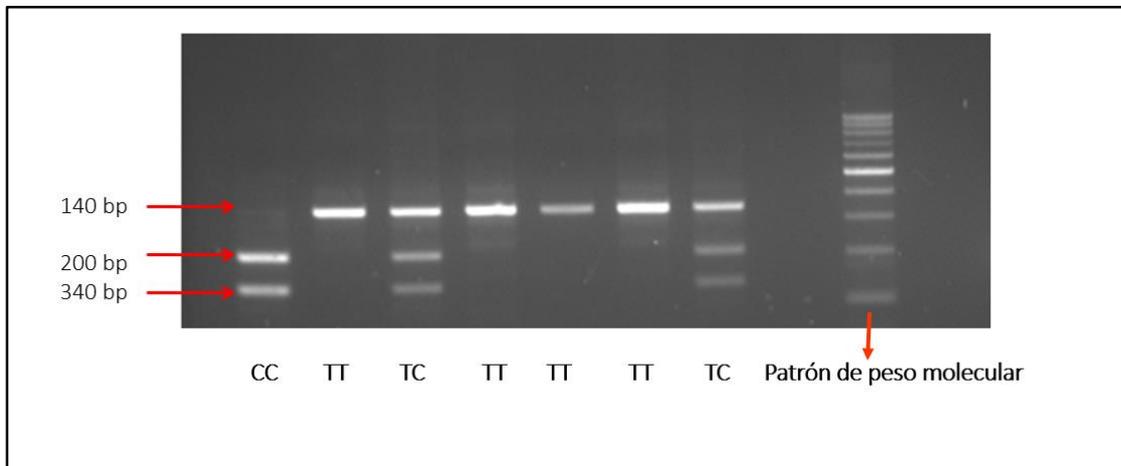


Figura 13. Genotipos del polimorfismo CYP1A1 determinado por RFLP-PCR en gel de agarosa al 3%: CT: heterocigota; CC y TT: homocigota. Alelo wild type (T): 300bp; Alelo variante C: 200bp y 140bp.

Polimorfismos de GSTM1

Para GSTM1 se detectaron los dos genotipos: GSTM1 no nulo (tipo salvaje) y GSTM1 nulo (variante polimórfica). (Figura 14). Se observó una asociación estadísticamente significativa con genotipos y pacientes control Al realizar el análisis bivariado se encontró una relación significativa entre todos los genotipos y el grupo control ($p= 0007$). Sin embargo, no hay una asociación significativa entre los diferentes genotipos y los grupos de CB y DPM (Tabla 9).

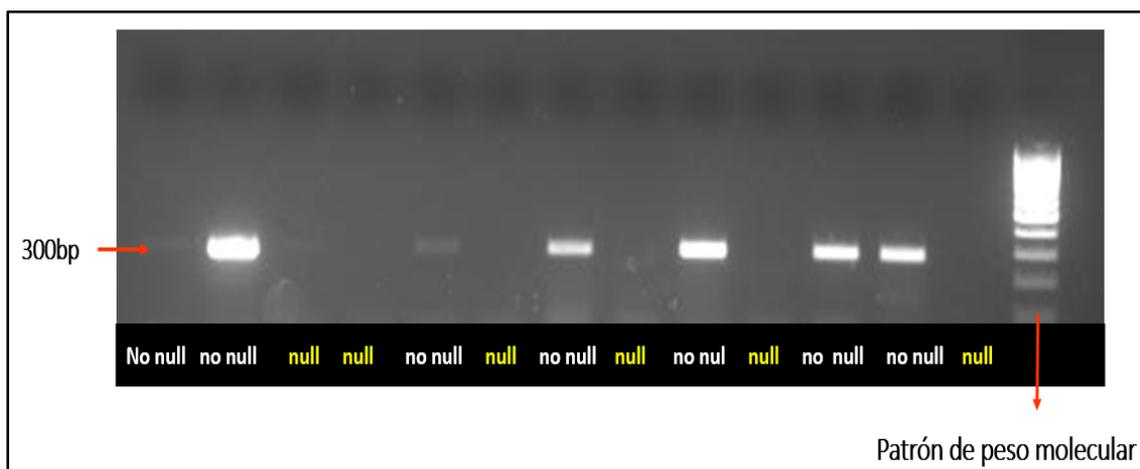


Figura 14. Genotipos del polimorfismo GSTM1-PCR en gel 3% de agarosa. Alelo wild type no null: 300bp; alelo null: no hay banda.

GEN-SNP _s (n=140)	ALELOS GENOTIPOS	CONTROL (N=38)			DPM (n=61)			CB (n=41)		
		n	%	p	n	%	p	n	%	p
CYP1A1	T	53	69.73	0.0001	64	66.66	0,0011	52	81.25	0.0001
	C	13	30.27		32	33.34		12	18.75	
	TT	23	69.7	0.0001	24	50	0.0183	23	71.88	0.0001
	TC	7	21.21		16	33.33		6	18.75	
	CC	3	9.09		8	16.67		3	9.38	
GSTM1	No null	26	72.22	0.007	26	47.27	0.6858	13	36.11	0.0956
	null	10	27.78		29	52.73		23	63.89	

Tabla 9. Frecuencias de alelos y genotipos de CYP1A1 y GSTM1. En CYP1A1 observamos ambas variables T (alelo wild type) y C (variante polimórfica) y las combinaciones más frecuentes en los distintos grupos de pacientes CB, DPM y controles. En GSTM1 genotipos que expresan o codifican la proteína (no null) y que no codifican para ella (null).

La regresión logística ajustada por hábito de fumar, mostró:

Para TP53 se encontró una asociación significativa entre la variable C y DPM, observándose 3,39 veces más de presentar DPM si presenta la variable mutada (OR = 3,39 [1.15-10.6]); si el paciente es fumador tendrá 4,91 veces más chance de desarrollar DPM (O.R =4,91 [1.49-16.26]) (**Tabla 10**). En los pacientes con CB no encontramos una asociación estadísticamente significativa, si un ligero aumento de los genotipos heterocigotos (GC), pero si encontramos una asociación significativa en los pacientes fumadores que presentan la variante en cualquiera de sus formas CC y GC (P= 0,0065), tienen 5,55 veces más probabilidad de desarrollar CB (O.R 5,55 [1.62-19.02]) (**Tabla 11**).

Parámetros	Est	E.E	O.R	Wald LI (95%)	Wald LS (95%)	Wald Chi ²	P-valor
Constante	-0,86	0,48	0,42	0,17	1,08	3,21	0,0733
TP53 variante 1	1,22	0,55	3,39	1,15	10,06	4,86	0,0275
Tabaco (si)	1,59	0,61	4,91	1,49	16,26	6,80	0,0091

Tabla 10. Regresión Logística Múltiple en pacientes con DPM que presentan la variante polimórfica C (TP53) tanto fumadores como no fumadores.

Parámetros	Est	E.E	O.R	Wald LI (95%)	Wald LS (95%)	Wald Chi ²	P-valor
Constante	-0,97	0,49	0,38	0,14	1,00	3,81	0,0510
TP53 variante 1	0,91	0,57	2,49	0,81	7,62	2,55	0,1100
Tabaco (si)	1,71	0,63	5,55	1,62	19,02	7,42	0,0065

Tabla 11. Regresión Logística Múltiple en pacientes con CB que presentan la variante polimórfica C (TP53) tanto fumadores como no fumadores.

Para CYP1A1 se encontró una asociación significativa entre la variante C y los DPM, observándose 3.58 veces más la probabilidad de presentar un DPM si el paciente presenta la variable (OR =3.58 [1.27-10.08]); si el paciente es fumador tendrá casi el doble (6,45 veces) de probabilidad de desarrollar este tipo patología (OR =6,5 [1.77-23.50]) (**Tabla 12**). En los pacientes con CB no encontramos una asociación estadísticamente significativa, aunque sí un ligero aumento en los genotipos heterocigotos en los pacientes fumadores (**Tabla 13**).

Parámetros	Est	E.E	O.R	Wald LI (95%)	Wald LS (95%)	Wald Chi ²	P-valor
Constante	-0,59	0,37	0,56	0,27	1,16	2,47	0,1163
CYP1A1 variante 1	1,27	0,53	3,58	1,27	10,08	5,82	0,0159
Tabaco (si)	0,86	0,66	6,45	1,77	23,50	7,99	0,0047

Tabla 12. Regresión Logística Múltiple en pacientes con DPM que presentan la variante polimórfica C (CYP1A1) tanto fumadores como no fumadores.

Parámetros	Est	E.E	O.R	Wald LI (95%)	Wald LS (95%)	Wald Chi ²	P-valor
Constante	-0,2718	0,3330	0,7620	0,3968	1,4634	0,6665	0,4143
CYP1A1 variante 1	-0,0141	0,5613	0,9860	0,3282	2,9624	0,0006	0,9799
Tabaco (si)	1,1912	0,6580	3,2909	0,9062	11,9512	3,2770	0,0703

Tabla 13. Regresión Logística Múltiple en pacientes con CB que presentan la variante polimórfica C (CYP1A1) tanto fumadores como no fumadores.

Para GSTM1, existe una asociación significativa entre DPM y la variante null, observándose 2.88 veces más probabilidad de presentar estas lesiones si se presenta la variable mutada (OR= 2.88 [1.13-7.32]); si el paciente es fumador la probabilidad de desarrollar éstas lesiones es de 4.61 veces más (OR =4.61 [1.39-15.25]) (**Tabla14**).

Parámetros	Est	E.E	O.R	Wald LI (95%)	Wald LS (95%)	Wald Chi ²	P-valor
Constante	-0,33	0,31	0,72	0,39	1,33	1,10	0,2938
CYP1A1 variante 1	1,06	0,48	2,88	1,13	7,32	4,93	0,0264
Tabaco (si)	1,53	0,61	4,61	1,39	15,25	6,27	0,0123

Tabla 14. Regresión Logística Múltiple en pacientes con DPM que presentan la variante polimórfica null (GSTM1) tanto fumadores como no fumadores.

Existe una asociación significativa entre CB y la variable null, generando 5.24 veces más probabilidad de desarrollar esta patología si la variable está presente (OR= 5.24 [1.79-15.37]); si el paciente es fumador la chance de desarrollar CB, en presencia de esta variante, es de 5.36 veces más (OR =5,36 [1.38-20.84]) (**Tabla 15**).

Parámetros	Est	E.E	O.R	Wald LI (95%)	Wald LS (95%)	Wald Chi ²	P-valor
Constante	-1,13	0,41	0,32	0,14	0,72	7,68	0,0056
CYP1A1 variante 1	1,66	0,55	5,24	1,79	15,37	9,12	0,0025
Tabaco (si)	1,68	0,69	5,36	1,38	20,84	5,87	0,0154

Tabla 15. Regresión Logística Múltiple en pacientes con CB que presentan la variante polimórfica null (GSTM1) tanto fumadores como no fumadores.

El análisis de correspondencia mostró un patrón de asociación entre el CB y el alelo T (Wild type) de CYP1A1. Los DPM se relacionan con el alelo C de CYP1A1, con el alelo null del gen GSTM1 (variante mutada), con los hábitos de tabaco y alcohol y la presencia del alelo C (variante mutada) de TP53, mientras que el gC mostró un patrón de relación con el alelo G de TP53.

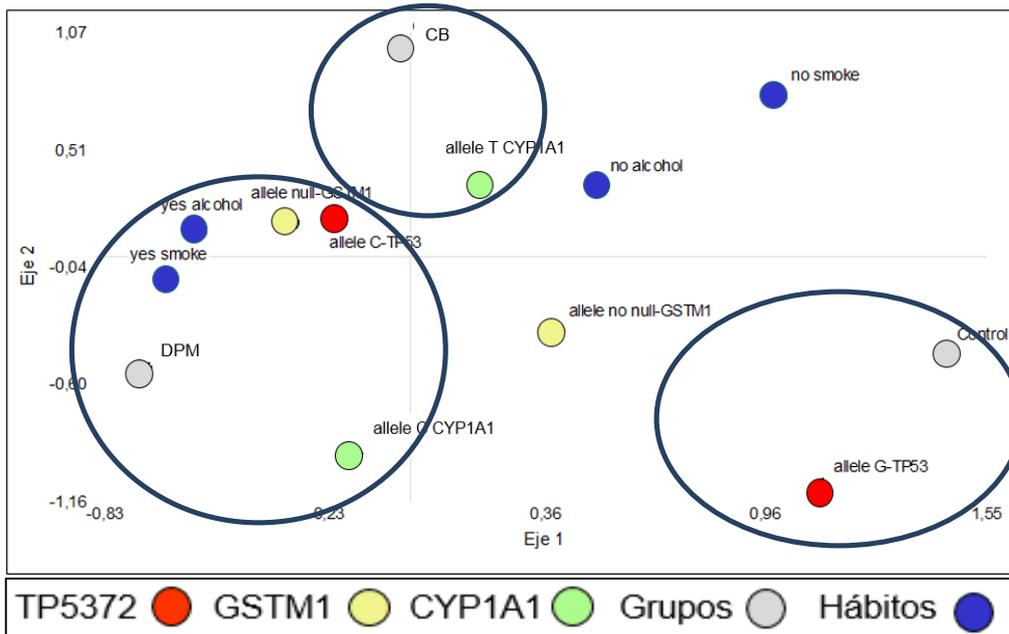


Figura 15. Análisis de correspondencia entre las variables estudiadas: polimorfismos, hábitos de tabaco y alcohol con CB y DPM.

PACIENTES CON CB O DPM QUE PRESENTARON UNO O MÁS POLIMORFISMOS GENÉTICOS TP53, GSTM1 Y CYP1A1.

CASO/FOTO	SEXO/EDAD	DIAGNOSTICO	SECTOR TOPOGRAFICO	ALCOHOL (GRAMOS)	TABACO (N° TCC)	P53	CYP1A1	GSTM1
1	F/68	LB	MUCOSA YUGAL Y BORDE DE LA LENGUA	NO	15.200	GC	CC	(NULL)
2	M/63	CB	MUCOSA YUGAL	NO	NO	CC	CC	(NO NULL)
3	M/43	LB	MUCOSA LABIAL INFERIOR	473.040	157.680	GC	TT	(NO NULL)
4	M/63	CB	PISO DE BOCA	571.200	590.000	GC	TT	(NULL)
5	M/36	LLB	MUCOSA YUGAL	62.280	104.025	GC	TT	(NO NULL)
6	F/79	LPB	PALADAR	NO	NO	GC	TC	(NULL)
7	M/27	LLB	MUCOSA YUGAL Y BORDE DE LA LENGUA	NO	NO	GG	TC	(NULL)
8	M/28	CB	BORDE DE LA LENGUA	34.560	NO	GC	TC	(NULL)
9	F/23	LPB	LENGUA CARA DORSAL	NO	NO	GC	TC	(NO NULL)
10	F/42	LB	MUCOSA LABIAL SUPERIOR	NO	NO	GC	CC	(NULL)
11	F/84	LPB	LENGUA CARA DORSAL	NO	NO	GC	TT	(NO NULL)

TCC: TOTAL DE CIGARRILLOS CONSUMIDOS **M:** MASCULINO, **F:** FEMENINO, **CB:** CÁNCER BUCAL, **LB:** LEUCOPLASIA BUCAL **LVP:** LEUCOPLASIA VERRUGOSA PROLIFERATIVA, **LPB:** LIQUEN PLANO BUCAL, **LLB:** LESIÓN LIQUENOIDE BUCAL, **P53:** G (WILD TYPE), C (VARIANTE POLIMORFICA), **CYP1A1:** T (WILD TYPE) C (VARIANTE POLIMORFICA), **GSTM1:** NO NULL (EXPRESA PARA LA PROTEINA), NULL (VARIANTE POLIMORFICA).



Caso 1. Paciente de sexo femenino, de 67 años de edad, diabética tipo 1 e hipertensa, concurre a la consulta con múltiples lesiones en ambas mucosas yugales en toda su extensión manchas blancas de disposición irradiadas o en red (estrías de Wickham) y en el tercio anterior observamos que las lesiones se presentan con un mayor grado de espesor haciéndose perceptibles a la palpación (queratosis). Se realiza una biopsia incisional dando como resultado Liquen Queratótico. Iconografía del borde de la lengua del lado derecho de la misma paciente, donde observamos lesiones muy similares pero que circunscriben una lesión de pérdida de sustancia superficial, de tipo erosión, asociada a factores irritativos.



Caso 2. Paciente de sexo masculino de 63 años de edad sin presencia de patologías sistémicas ni hábitos perjudiciales. Presenta en mucosa yugal, en toda su extensión del lado izquierdo únicamente, múltiples lesiones con características clínicas diferentes, pero con resultados histopatológicos similares, Carcinoma de Células Escamosas indiferenciado. Observamos en el tercio posteroinferior de la misma una pérdida de sustancia profunda (ulcera) de bordes elevados, evertidos e indurados a la palpación. En el tercio medio encontramos lesiones blancas de distinto espesor (mancha y queratosis), bien evidenciables a la palpación, de consistencia indurada y en el tercio anterosuperior observamos una lesión ulcerovegetante cubierta por un puntillado blanquecino, como clavijas corneas que no se desprenden al frotar una gaza y de consistencia indurada en la base. Todas estas lesiones se encontraban en estrecho contacto con restauraciones dentarias deficientes y desadaptadas en donde se puede resaltar el galvanismo y la irritación mecánica crónica.



Caso 3. Paciente de sexo masculino de 43 años de edad, sin patologías sistémicas de relevancia, de profesión albañil y como hábitos encontramos que es fumador desde hace 32 años, de 30 cigarrillos diarios (157.680 cigarrillos consumidos). Se observa en semimucosa y mucosa del labio inferior en el tercio medio, una lesión de tipo cambio de coloración, mancha blanca, de 2 centímetros de diámetro aproximadamente y en el sector más central y posterior de la misma, observamos que la lesión hace relieve y se evidencia a la palpación (queratosis), la cual coincide con el lugar de asiento del cigarrillo. Como características del labio podríamos resaltar que la piel del mismo presenta una degeneración de tipo elastoidosis solar y que tanto en la semimucosa como en mucosa se han perdido o borrado sus límites, característica frecuente de la exposición prolongada a factores externos y al sol. Se realiza una biopsia incisional dando como resultado leucoplasia tipo 2.



Caso 4. Paciente de sexo masculino, de 67 años de edad de profesión abogado. Como patologías sistémicas encontramos que es diabético e hipertenso. Como hábitos encontramos que es fumador desde hace 45 años, de 20 cigarrillos diarios aproximadamente (739.125 cigarrillos consumidos). Presenta en el piso de la boca y reborde residual del maxilar inferior a nivel de los elementos antero inferiores una lesión de tipo ulcerovegetante de fondo necrobiótico y en el sector más posterior necrótico, de bordes irregulares pero definidos y de consistencia indurado a la palpación. Se realiza una biopsia incisional dando como resultado Carcinoma de Células Escamosas infiltrante y de tipo indiferenciado.



Caso 5. Paciente de sexo femenino de 38 años de edad sin presencia de patologías sistémicas ni hábitos perjudiciales. Presenta en mucosa yugal, en el tercio posteroinferior del lado izquierdo únicamente, múltiples lesiones de distinto espesor, mancha parda difusa de 2,5 centímetros de diámetro, de bordes poco definidos (melanosis reaccional), mancha blanca húmeda de 1,5 cm de diámetro y queratosis bien evidenciable a la palpación. Todas estas lesiones se encuentran bien asociadas a factores irritativos, como el borde filoso del elemento 37 y a coronas metálicas en los elementos 26 y 27. Se realiza una biopsia incisional dando como resultado Lesión Liquenoide bucal.



Caso 6. Paciente de sexo femenino de 66 años de edad, como patologías sistémicas encontramos que es diabética e hipertensa compensada. No encontramos hábitos perjudiciales, tanto presentes como pasados. Observamos lesiones blancas de distintos grados de espesor, manchas blancas húmedas y queratosis de 3,5 cm de diámetro aproximadamente, con bordes irregulares y difusos. Localizadas en el paladar duro y reborde residual del maxilar superior a nivel de los elementos 23, 24, 25 y 26. Se realiza una biopsia incisional dando como resultado Leucoplasia Verrugosa Proliferativa.



Caso 7. Paciente de sexo masculino de 27 años de edad, de profesión estudiante, sin presencia de patologías sistémicas ni hábitos perjudiciales. Presenta en mucosa yugal, en el tercio posteroinferior del lado izquierdo únicamente, observamos mancha blanca, brillante de disposición red, similares a las que observamos en el liquen bucal. Se realiza una biopsia incisional dando como resultado Lesión liquenoide bucal.



Caso 8. Paciente de sexo masculino de 28 años de edad, sin patologías sistémicas de relevancia, de profesión empleado de comercio y como hábitos encontramos que consume alcohol con frecuencia desde hace 13 años (34.560 gr consumidos). Observamos una pérdida de sustancia profunda (ulcera) de bordes elevados, evertidos y de consistencia indurada a la palpación, localizada en el borde y cara ventral de la lengua a nivel del tercio medio del lado izquierdo de la lengua. Se realiza una biopsia incisional dando como resultado Carcinoma de Células Escamosas infiltrante y de tipo diferenciado.



Caso 9. Paciente de sexo femenino, de 23 años de edad sin presencia de patologías sistémicas ni hábitos perjudiciales, concurre a la consulta con múltiples lesiones en la cara dorsal de la lengua en toda su extensión, observamos atrofia de las papilas filiformes, esclerosis en bandas en ambos tercios de la cara dorsal y en el tercio posterior del lado izquierdo observamos que las lesiones se presentan con un mayor grado de espesor haciéndose perceptibles a la palpación (queratosis). Se realiza una biopsia incisional dando como resultado Liquen bucal escleroatrófico.



Caso 10. Paciente de sexo femenino de 42 años de edad, de profesión empleada de comercio, sin presencia de patologías sistémicas ni hábitos perjudiciales. Presenta en mucosa del labio superior del lado derecho, una lesión única, elevada, de color blanco seco bien evidenciable a la palpación (queratosis) y en el sector más posterior de la misma observamos que la lesión presenta una superficie irregular, digitiforme (verrugosidad). Se realiza una biopsia incisional dando como resultado Leucoplasia Verrugosa.



Caso 11. Paciente de sexo femenino, de 84 años de edad, hipertensa compensada sin presencia de hábitos perjudiciales, concurre a la consulta con múltiples lesiones en la cara dorsal de la lengua en toda su extensión, observamos atrofia de las papilas filiformes y esclerosis en bandas en ambos lados de la cara dorsal. Se realiza una biopsia incisional dando como resultado Liquen bucal escleroatrófico.

DISCUSIÓN

El carcinoma de células escamosas bucal y orofaríngeo (CCE y OPSCC) representa un problema creciente en la salud pública mundial. De hecho, el carcinoma de células escamosas es la neoplasia maligna más frecuente en la cavidad bucal y uno de los 10 cánceres más comunes en todo el mundo. Según la estimación más reciente de GLOBOCAN en Europa entre 2012 y 2015, hubo un aumento general de la incidencia y la mortalidad por cáncer bucal (213, 214). La detección temprana es clave para mejorar la calidad de vida y aumentar la tasa de supervivencia. En nuestro país la mayoría de los pacientes consultan en estadios avanzados siendo una de las razones más comunes la demora en el diagnóstico debido a la falta de preparación de nuestros profesionales de la salud y/o al desconocimiento de los distintos factores de riesgo y controles rutinarios por parte del paciente (215-218). Esto podría estar relacionado con que en países en vías de desarrollo, la tasa de incidencia de cáncer bucal es inferior y la de mortalidad es notablemente superior comparado con países desarrollados. En Argentina, un estudio realizado por Morelatto RA y col (188) muestra valores diferentes sobre la mortalidad por cáncer bucal en la provincia de Córdoba, informó que en relación al CB en las poblaciones estudiadas, Eslovaquia y Francia fueron los países con tasa más altas para ambos sexos, estando los valores de Córdoba y Argentina entre los más bajos, especialmente en mujeres. Por lo tanto se hace imprescindible desarrollar nuevas dianas moleculares para ser utilizadas como diagnóstico e indicadores de pronóstico. Las enfermedades humanas complejas como el CB sus diversas respuestas biológicas se han relacionado con múltiples polimorfismos (43, 131-147). En este trabajo se estudiaron las frecuencias alélicas y genotípicas de polimorfismos de los genes TP53, GSTM1 y CYP1A1 considerados factores de riesgo para el desarrollo de diversas patologías como el CB y los DPM. Investigar sobre el origen de este tipo de variaciones en los genes y la frecuencia con la cual estas se encuentran distribuidas en las poblaciones, facilitaría entender las diferencias observadas, en cuanto a la susceptibilidad a determinadas enfermedades como el cáncer, en las distintas etnias y empezar a diseñar estrategias de tratamiento para éstas. Hasta donde sabemos, no existe literatura científica sobre caracterización de la población en Córdoba, Argentina. Por lo tanto este será el primer trabajo realizado en relación a polimorfismos genéticos en dicha población.

La población argentina actual tiene un origen étnico heterogéneo, conferido principalmente por oleadas de inmigrantes europeos y su integración con la población nativa. Se estima que alrededor del 90% de la población descende de europeos,

principalmente italianos y españoles, con un legado indígena heredado por más del 50% de la población. Los componentes genéticos de origen africano también se han establecido en al menos el 5% de la población (219).

En concordancia con la bibliografía consultada, referida a otras poblaciones (10,220), aproximadamente el 90% de los pacientes con CB del presente estudio tenían 45 o más años de edad, con un promedio de 63,9 años. Si bien existe a nivel mundial un incremento en la proporción de cánceres en pacientes menores de 45 años (221), el CB sigue siendo en nuestro medio una enfermedad fuertemente asociada a la edad, siendo el más afectado, el grupo etario de más de 61 años (10). La primera explicación de esta relación haría referencia al simple efecto de duración de exposición a carcinógenos, independientemente de cualquier efecto del envejecimiento; pero otros autores sostienen que es el envejecimiento, no la edad misma, el responsable a través de múltiples mecanismos como la disminución de los mecanismos de protección, de reparación y la inmunovigilancia (10-22); afirman también que esos mecanismos disminuidos hacen más notables los efectos nocivos de factores de riesgo ambientales o estilos de vida desfavorables, que inciden sobre la eficacia de los procesos celulares y que eventualmente pueden participar de la generación de un microambiente tisular pro-oncogénico (222-224). El porcentaje de personas afectadas por CB, menores 45 años, ha aumentado entre el doble o el triple en varios países durante las últimas décadas, sobre todo en cánceres de ubicación lingual y sin relación a factores etiológicos conocidos, como inmunosupresión y consumo de tabaco; y también probablemente asociado a defectos genéticos (11).

A diferencia de los pacientes con CB, en este estudio, los DPM fueron significativamente más frecuentes en edades más tempranas, lo cual está en conformidad con la literatura (10, 43). Es posible que la población estudiada sea vulnerable, por susceptibilidad genética o por exposición a factores de riesgo desde edades tempranas, o por una combinación de ambos y por ello la incidencia de un considerable porcentaje de casos entre los 41 y 60 años. Y esto está en concordancia con la bibliografía de referencia, sabiendo que un número importante de pacientes con CB se presenta asociado o proviene de un DPM previo (225).

La incidencia del CB fue mayor en la población masculina y la de DPM en población femenina, lo cual también es acorde a lo informado en la gran mayoría los estudios de otros autores (43, 226). Esta tendencia se podría explicar, en parte, por el hecho de que sigue siendo el sexo masculino el más expuesto a factores ambientales nocivos, ya sea ocupacionales o por estilos de vida desfavorables (tabaquismo, consumo de alcohol, dieta etc.); también posee mayor masa corporal hepática (43, 226); y, por lo tanto, mayor actividad de las enzimas P450, que están comprometidas con la producción de especies

reactivas como el Benzo[a]pireno 7,8 epóxido (43, 226). En el caso de la mayor incidencia de DPM en pacientes de sexo femenino, podríamos explicarlo mencionando que el 77,4% de los mismos fueron Leucoplasias Verrugosas Proliferativas, Liquen plano bucal y Lesiones Liquenoides bucales los cuales son más frecuentes en sexo femenino (191-197, 227-230).

Con respecto a los sitios anatómicos intrabucales de ubicación de las patologías, se encontró una asociación significativa entre CB y la localización en la lengua y una ligera tendencia de los DPM a ubicarse en el tercio anterior y medio de la mucosa yugal. Esto puede estar relacionado a los hábitos y costumbres, propias de nuestra cultura, donde se aspira y despide el humo, producto de la combustión del tabaco que se fuma en forma de cigarro, cigarrillo o pipa, apoyando el filtro del mismo entre los labios, quedando la brasa hacia afuera de la cavidad bucal; a diferencia con otros trabajos realizados en la India, donde predomina el hábito, pero con una característica peculiar, que es fumar en forma invertida o “candela para adentro”, dando como resultado una mayor incidencia de CB con localización en paladar y en segundo lugar la mucosa yugal en el tercio antero inferior esto último relacionado a la masticación del tabaco y de la nuez de areca con la correspondiente exposición a los alcaloides y polifenoles presentes en estos compuestos (10, 43, 231).

Polimorfismo del codón 72 del gen TP53

La población de Córdoba estudiada, mostró altas frecuencias del alelo G del polimorfismo del codón 72 de TP53 corroborando nuestros propios estudios previos (7) y otros (232). Los pacientes estudiados eran principalmente de la ciudad de Córdoba con algunos del interior de la provincia. Existe una clara tendencia en la distribución geográfica de los alelos del codón 72, con una correlación entre la distancia desde el ecuador y el alelo G; Argentina se encuentra en el sur de América del Sur entre los paralelos 21 y 55 (232, 233). Poblaciones como la africana, que vive cerca del ecuador tienden a tener una mayor proporción del alelo C, en comparación con los europeos del norte donde predomina el alelo G (234). Un gran número de estudios epidemiológicos han relacionado la variante prolixa del codón 72 al riesgo de desarrollar cáncer y, también, se han sugerido diferencias de cómo influye esta variante a la exposición de diferentes carcinógenos medioambientales en relación a la especificidad de tejidos (235).

Por otra parte se encontró que el genotipo heterocigota del polimorfismo del codón 72 de TP53 fue el más frecuente en los pacientes estudiados y hubo asociación significativa

con CB y DPM. Se ha demostrado esta asociación en una población similar a la estudiada (219). Esto puede deberse a que este alelo C es menos eficiente en la supresión de la transformación celular y hace que lleve más tiempo inducir la apoptosis. Sin embargo, numerosos estudios que relacionan al alelo C TP53 con cáncer obtuvieron a resultados controvertidos. En un estudio realizado en Taiwán, se informó que el fenotipo GG aumenta el riesgo de desarrollar CB 2.7 veces (233). En otro estudio realizado en el norte de Irán, no encontraron una asociación significativa entre los genotipos de TP53 que incluyen la variante y CB (234). Otros autores hicieron observaciones similares en estudios realizados en una población blanca no hispana y en una población indígena con 69 carcinomas de cabeza y cuello (236, 237, 238). Por otro lado, Twu y col (239) informaron que el genotipo heterocigoto G/C está asociado con un mayor riesgo de carcinoma de células escamosas hipofaríngeas en una población de Taiwán. Con respecto a los DPM hubo asociación con el alelo C; este resultado es similar al encontrado en un estudio realizado con una población iraní en la que la presencia del alelo variante estuvo asociada a liquen plano bucal (240).

Por otra parte no se encontró asociación significativa con el alelo C y el CB lo que coincide con los resultados obtenidos por otros autores (241) sin embargo sí se pudo observar que los individuos ya sea homo o heterocigotas que presentan la variable, si fuman tiene mayor riesgo de desarrollar CB. Esto estaría relacionado al riesgo que significa el hábito de fumar en cualquiera de sus formas, para el desarrollo de CB, lo que en este caso se suma a la presencia de un alelo que es menos eficiente en la supresión de la transformación celular y es más lento para inducir la apoptosis (219).

Polimorfismo de CYP1A1

Al evaluar el polimorfismo CYP1A1, se observó que el alelo salvaje T es el más frecuente en esta población de Córdoba. Estos resultados coinciden con los de estudios realizados en nuestro país, en la provincia de Misiones; en ese mismo trabajo además se encontraron proporciones genotípicas semejantes a las halladas por nuestro equipo que indicaron que el genotipo más frecuente es el homocigota wild type(T/T), lo cual es coincidente además con otras poblaciones caucásicas (242).

No se encontró asociación significativa entre el alelo o los genotipos, que presentaban la variable y el CB, aunque se observó una ligera tendencia a padecer CB si el alelo estaba presente. Esto concuerda con estudios realizados en cáncer gástrico y en cáncer de laringe en poblaciones similares a las de este trabajo (243, 244) en los que se pudo observar que en individuos con genotipo silvestre (T/T) el hábito tabáquico se asocia

con el riesgo de presentar la enfermedad pero de manera dosis-dependiente (que no se consideró en este estudio) y la misma tendencia se observó en la variante mutada, con valores de riesgo mayor aunque no significativos estadísticamente, indicando un efecto modificador de la variante sobre el riesgo inducido por el hábito tabáquico; en estudios realizados en poblaciones de Alemania, en pacientes con CB, se encontraron los mismos resultados.

Sin embargo al estudiar los DPM tanto en pacientes fumadores como no fumadores relacionados a cualquiera de las variantes genotípicas (T/C o C/C), sí se encontró asociación significativa. Los pacientes que no eran fumadores y tenían la variante polimórfica CYP1A1 presentaron 3,59 veces más probabilidad de presentar DPM y los pacientes fumadores que presentan la variante en cualquiera de sus formas tuvieron 6,5 veces más probabilidad de desarrollar DPM. Estos resultados son similares a los encontrados en otros estudios (43, 226). La enzima CYP1A1 podría estar aumentada en aquellos individuos que presentan los genotipos TC o CC (43) habiendo mayor producción de especies altamente reactivas y haciéndolos más vulnerables al desarrollo de DPM. Estos genotipos permitirían la conversión de mayor cantidad de sustancias provenientes del tabaco en carcinógenos, aumentando el riesgo de producir alteraciones en los tejidos bucales que conducirían a la formación de DPM, que en muchos casos son precursores de CB (245).

Polimorfismo GSTM1

En la población bajo estudio, el alelo *no null* fue el más frecuente; sin embargo solo hubo diferencias significativas en cuanto a las frecuencias en el grupo control. El alelo mutado se encontró en un 48% de esta población lo que coincide con estudios realizados en poblaciones caucásicas que reportan que el genotipo GSTM1 *null* varía desde 38 % a 67 % en Europa, el 33 % al 63 % en Asia, del 16 % al 36 % en África sub-Sahariana, de 49,7 % en Bahreiní, (Asia), 52,5 % en Líbano (Asia), y 49 % en Austria. Aproximadamente la mitad de la población caucásica presenta una delección homocigótica para el alelo GSTM1 nulo que conduce a fallas en la expresión de la enzima (246). En la población de este estudio se observó que la presencia de la variante *null* aumenta la probabilidad de padecer DPM en casi tres veces y casi 5 veces si el paciente además fuma; con el CB la probabilidad de padecerlo aumenta de igual manera al tener el alelo *null* y ser o no fumador. Múltiples estudios han demostrado tantos resultados positivos y asociaciones negativas del genotipo GSTM1 *null* en relación al riesgo de CB en diferentes poblaciones de todo el mundo (247, 21, 43). Un estudio realizado en poblaciones caucásicas indicó la asociación entre la variante GSTM1 *null*

y el riesgo aumentado de presentar leucoplasia bucal independientemente de la presencia de otros (248). Esto se podría explicar porque las enzimas de la fase II del metabolismo de los xenobióticos, principalmente glutatión-S-transferasas (GSTs), catalizan la conjugación de metabolitos reactivos con moléculas hidrofílicas de carga negativa para su eliminación por procesos de excreción. Por lo tanto, es razonable pensar que la eficiencia en el funcionamiento de estas enzimas determinará la concentración de estos metabolitos reactivos que circulan en el organismo y los individuos que carezcan de esta vía interna de defensa contra agentes tóxicos, aumentarían el tiempo de exposición a los mismos, generando una mayor probabilidad de desarrollar este tipo de patologías (249).

En la población estudiada al realizar el análisis de correspondencia, en la población estudiada, se observó que habría una asociación de riesgo de desarrollar DPM, en pacientes que presentaran la variante mutada (C/C o T/C) de CYP1A1 (asociada a una mayor actividad de la enzima), la variante GSTM1 *null* (asociada a una pérdida de la capacidad enzimática en la fase II del metabolismo) y el hábito de fumar. El hábito de fumar induce una mayor producción enzimática a nivel de la fase I aumentando de esta manera el tiempo de exposición a los residuos tóxicos derivados del tabaco lo que sumado a no poder conjugarlos y excretarlos por bilis u orina favorecería la formación aductos o enlaces covalentes estables con el ADN promoviendo de esta manera cambios que promuevan la formación de DPM que en muchas ocasiones, como ya lo mencionamos, son precursores de CB.

Un punto importante en este trabajo fue la utilización de citología exfoliativa para estudiar el ADN de los pacientes. Debido a que los cambios genómicos están a nivel del ADN y este se puede recopilar de cualquier célula, se eligió esta técnica sencilla, no invasiva y económica para identificar los genes; además, es factible de ser implementada en el consultorio y es bien aceptado por los pacientes. Las muestras obtenidas de este modo fueron de buena calidad y permitieron resultados confiables. Los cambios a nivel molecular ocurren antes de que puedan ser vistos clínicamente, inclusive antes de que sean observables al microscopio (250, 251). La identificación de lesiones bucales con riesgo de transformación maligna es clave para reducir la mortalidad, morbilidad y costos de tratamiento para CB. Considerando que los individuos con factores de riesgo, como alcohol y tabaco tienen mayor posibilidad de padecer CB (251), en dichos pacientes, la inspección clínica bucal puede complementarse con métodos accesorios para identificar lesiones precursoras o cánceres iniciales (251) y para ello consideramos a la citología exfoliativa como una metodología muy prometedora además de sencilla.

Un aspecto relevante en la prevención del cáncer es identificar las susceptibilidades

individuales para su desarrollo a través del perfil genómico. Este proporciona información importante sobre los mecanismos que conducen al cáncer, y que en última instancia pueden facilitar nuevas vías para prevenir esta enfermedad. Los estudios genómicos rastrean indicios tempranos de carcinogénesis y permiten aprovechar este tipo de estrategia en salud para intervenir en el desarrollo de nuevas herramientas de prevención y detección temprana del cáncer (252).

Las enzimas reportadas en presente estudio, CYP1A1, GSTM1 y TP53, cuando se presentan con sus variantes alélicas alterarían significativamente el riesgo de DPM indicando una mayor predisposición a padecerlos, especialmente cuando el paciente presenta el hábito de fumar. Esta información podría ser útil para establecer como impactan estos factores de riesgo en las mencionadas patologías y sobre el CB, para identificar los modificadores genéticos de riesgo en esta población que presenta alta tasa de mortalidad de CB.

Un aspecto relevante en la prevención del cáncer es identificar las susceptibilidades individuales para el desarrollo de este a través del perfil genómico. Este proporciona información importante sobre los mecanismos que conducen al cáncer, y que en última instancia pueden facilitar nuevas vías para prevenir esta enfermedad. Los estudios genómicos rastrean indicios tempranos de carcinogénesis y permiten aprovechar este tipo de estrategia en salud para intervenir en el desarrollo de nuevas herramientas de prevención y detección temprana del cáncer (252). Se requieren estudios más exhaustivos con mayor muestra poblacional para confirmar los resultados obtenidos e incluir otros factores genéticos y ambientales que puedan estar comprometidos con el riesgo a desarrollar DPM y CB en esta población.

CONCLUSIÓN

Las enzimas reportadas en presente estudio: CYP1A1, GSTM1 y TP53 alteran significativamente el riesgo de CB y muestran una mayor predisposición a los DPM en nuestra población y más aún en los pacientes fumadores, aumentando ampliamente la probabilidad de padecerlos. El conocimiento de la prevalencia y la distribución de estos factores susceptibilidad genética y la capacidad de poder identificar estos genotipos susceptibles podría tener implicancias sustanciales a nivel preventivo, en particular si se recopilan más datos que muestren que las personas con ciertos genotipos "de riesgo" son más susceptibles aún a niveles bajos de exposición a carcinógenos. Es muy posible que disminuyendo el hábito del tabaquismo y mejorando la calidad de vida de estos grupos susceptibles, se contribuya a disminuir el riesgo a desarrollar CB. Sin embargo, deberían hacerse estudios más exhaustivos con mayor muestra poblacional para confirmar los resultados obtenidos e incluir otros factores genéticos y ambientales que puedan estar comprometidos con el riesgo de CB en esta población. Toda esa información podría ser útil en establecer el impacto de los factores de riesgo e identificar los modificadores genéticos de riesgo en esta población.

Este estudio presenta beneficios potenciales al permitir la identificación de biomarcadores predictivos y grupos con mayor riesgo de cáncer bucal y la implementación de una variedad de estrategias de atención médica. Sin embargo, los resultados de este estudio deben confirmarse con investigaciones adicionales que incluyan un mayor número de pacientes y en diferentes regiones de Argentina.

En el cáncer de mamas ya existen estudios genéticos que han logrado disminuir la tasa de mortalidad de esta patología en países desarrollados, actuando en forma preventiva, detectando la mutación de ambos genes asociados al cáncer de mama hereditario o familiar. Esta patología es la neoplasia maligna más frecuente y la principal causa de muerte por cáncer en mujeres en todo el mundo. En 2012, se estimó que hubo 522 000 muertes por cáncer de mama, lo que representó el 14,7% de todas las muertes por cáncer entre las mujeres (GLOBOCAN 2012). Existen dos copias de estos genes en todas las células del organismo **BRCA1** (gen del cáncer de mama 1) o **BRCA2** (gen del cáncer de mama 2). Las mujeres que heredan una mutación o alteración anómala en alguno de estos genes (por parte de madre o padre) tienen un riesgo mayor de desarrollar cáncer de mama y cáncer de ovario. La principal función que tiene este gen es la de reparar las anomalías que se generan en la duplicación del ADN durante la división celular, regula el ciclo celular y evita la proliferación incontrolada mediante el proceso de recombinación homóloga (RH) y, por tanto, habrá más probabilidades de que la célula adquiera una capacidad de proliferación excesiva que conduzca a la

aparición de un tumor (253-255). El cáncer de mama tiene un fuerte componente genético, las mujeres portadoras de la mutación BRCA1 tienen una probabilidad de por vida del 57% al 65% de desarrollar cáncer de mama a partir de los 35 años, mientras que las portadoras del BRCA2 tienen una probabilidad de por vida del 45% al 49%. Otros estudios informaron que, el riesgo de cáncer de mama en una mujer aumenta hasta 3 veces si se tiene un familiar directo afectado y hasta 10 veces si se tiene más de un familiar afectado por esta enfermedad (253-255).

Para averiguar si está presente esta anomalía genética heredada, es necesario realizar una PCR de una muestra de sangre o una citología exfoliativa de mucosa bucal; gracias a este estudio se redujo sustancialmente la tasa de mortalidad del cáncer de mama en muchos países. Es por esto que detectar los polimorfismos estudiados en este trabajo, identificando genotipos susceptibles a niveles bajos de exposición a carcinógenos (GSTM1 y CYP1A1) y deficiencias a nivel de la reparación del ADN (TP53), sería un importante avance en la prevención del CB.

BIBLIOGRAFÍA

1. Cançado RP, Yurgel LS, Filho MS. Comparative analyses between the smoking habit frequency and the nucleolar Organizer Region Associated Proteins in exfoliative cytology of Smokers' Normal bucal mucosa. Tobacco induced diseases. 2004; 2(1):4.
2. Petersen PE. Oral cancer prevention and control – The approach of the World Health Organization Oral Oncol. 2009; 45(4-5):454-60.
3. Ram H, Sarkar J, Kumar H, Konwar R, Bhatt ML, Mohammad S. Oral cancer: risk factors and molecular pathogenesis. Journal of Maxillofacial & Oral Surgery. 2011; 10 (2):132-137.
4. Diniz-Freitas M, García-García A, Crespo-Abelleira A, Martins-Carneiro JL, Gándara-Rey JM. Aplicaciones de la citología exfoliativa en el diagnóstico del cáncer oral. Med Oral. 2004; 9:355-61.
5. Curado MP, Johnson NW, Kerr AR, Silva DRM e, Lanfranchi H, Pereira DL, et al. Oral and oropharynx cancer in South America: Incidence, mortality trends and gaps in public databases as presented to the Global Oral Cancer Forum. Translational Research in Oral Oncology. 2016; 1:1-7.
6. <https://www.cba.gov.ar/material-de-difusion/registro-de-tumores>),
7. Zarate AM, Don J, Secchi D, et al. Study of the TP53 codon 72 polymorphism in oral cancer and oral potentially malignant disorders in Argentine patients. Tumor Biology. May 2017. doi:10.1177/1010428317699113
8. Grinspan D. Precáncer bucal. Enfermedades de la boca, Tomo III. Ed. Mundi, Buenos Aires, Ed Mundi. 1982; p. 2723-809.
9. Campo Trapero, J. Cano Sánchez, B. Palacios Sánchez B, JJ. Sánchez Gutierrez, JJ Gonzales Moles MA. Bascones Martínez. Update on molecular pathology in oral cancer and precancer. Anticancer Research. 2008; 28: 1197-1206.
10. Piemonte ED. Cáncer bucal: diseño y evaluación de un índice de riesgo multifactorial [Tesis doctoral]. Córdoba: Facultad de Odontología- UNC 2015. Available from: <https://rdu.unc.edu.ar/handle/11086/1757>.
11. Silverman, S Jr. in: Oral cancer. American Cancer Society atlas of clinical oncology series. 5th ed. BC Decker Inc. Hamilton; 2003: 113–128.
12. Gupta PC, Mehta FS, Daftary DK, Pindborg JJ, Bhonsle RB, Jainawalla PN, et al. Incidence rates of oral cancer and natural history of oral precancerous lesions in a 10-year follow-up study of Indian villagers. Community Dent Oral Epidemiol. 1980;8 (6):283-333.
13. Du X, Squier CA, Kremer MJ, Wertz PW. Penetration of N-nitrosornicotine (NNN) across oral mucosa in the presence of ethanol and nicotine. J Oral Pathol Med. 2000 Feb;29 (2): 80-5.
14. Myers JN, Elkins T, Roberts D, Byers RM. Squamous cell carcinoma of the tongue in young adults: increasing incidence and factors that predict treatment outcomes. Otolaryngol Head Neck Surg. 2000 Jan; 122(1):44-51.
15. Dionisio Flores Núñez. Envejecimiento y cáncer. Revista Clínica de la Escuela de Medicina UCR – HSJD. Año 2017 Vol 7 No III ISSN 2215- 2741
16. Rodríguez GK, Clavería CRA, Peña SM. Consideraciones actuales sobre envejecimiento y cáncer bucal. MediSan. 2016;20(12):6080-6089
17. Negri E, La Vecchia C, Franceschi S, Tavani A. Attributable risk for oral cancer in Northern Italy. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev. 1993; 2:189-93.
18. Moreno-López LA, Esparza-Gómez GC, González-Navarro A, Cerero-Lapiedra R, González-Hernández MJ, Domínguez-Rojas V. Risk of oral cancer associated with tobacco smoking, alcohol consumption and oral hygiene: a case-control study in Madrid, Spain. Oral Oncol. 2000; 36:170-4.

19. Ferrísi Tortajada J, Ortega García JA, López Andreu JA, Berbel Tornero O, Marco Macian A, García i Castell J. Tabaquismo parental y cáncer pediátrico. *RevEspPediatr.* 2004; 60:225-36.
20. Toyota M, Issa JP. Epigenetic changes in solid and hematopoietic tumors. *SeminOncol.* 2005; 32:521-30.
21. Lansdorp PM. Major cutbacks at chromosome ends. *Trends Biochem* 2005; 30:388-95.
22. Ames BN, Gold LS. The causes and prevention of cancer: the role of environment. *Biotherapy* 1998; 11:205-20
23. Nachón GMG, García-Rivera ME, Nachón-García FJ, et al. Tabaquismo y cáncer bucal: una revisión teórica. *Rev Med UV.* 2010;10(1):30-37.
24. Boyle P. Cancer, cigarette smoking and premature death in Europe: A review including the Recommendations of European Cancer Experts Consensus Meeting (serial on line) 2010; 1(1) (24 screens).
25. Pershagen G, Smokeless tobacco B. *Med Bull.* 1996; 52(1): 50-57.
26. Hoffmann D, Djordjevic MV. Chemical composition and carcinogenicity of smokeless tobacco. *AdvDent Res.* 1997; 11(3): 322-329.
27. International Agency for Research on Cancer (2007). Smokeless Tobacco and Some Tobacco-Specific-Nitrosamines. Lyon, France: World Health Organization International Agency for Research on Cancer; IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Vol. 89.
28. Squier CA, Johnson GK. Role of nicotine as cofactor in smokeless tobacco carcinogenesis in: Smokeless tobacco or health an international perspective. US. Dept of Health and Human Services. NIH publication N° 93-3461: 153-74.
29. Chen YP, Johnson GK, Squier CA. Effects of nicotine and tobacco-specific nitrosamines on hamster cheek pouch and gastric mucosa. *J Oral Pathol. Med.* 1994; 23:251-5.
30. American Psychiatric Association. Manual diagnóstico y estadístico de los trastornos mentales. Barcelona: Ed. Elsevier Masson; 2002.
31. Grana, Rachel; Benowitz, Neal; Glantz, Stanton A. E-cigarettes: a scientific review. *Circulation* 129 (19): 1972-1986. ISSN 1524-4539. PMID 24821826.
32. Rothman K, Keller A. The effect of joint exposure to alcohol and tobacco on risk of cancer of the mouth and pharynx. *Journal of Chronic Disease.* 1972; 25:711-716.
33. Hukkanen J, Jacob P III, Benowitz NL. Metabolism and disposition kinetics of nicotine. *Pharmacol Rev.* 2005; 57:79
34. Schaal C, Chellappan SP. Nicotine-mediated cell proliferation and tumor progression in smoking-related cancers. *Mol Cancer Res.* 2014; 12:14–23.
35. Sergeï A, Grando SA. Connections of nicotine to cancer. *Nat Rev Cancer.* 2014; 14:419–29.
36. Squier CA, Mantz MJ, Wertz PW. Effect of menthol on the penetration of tobacco carcinogens and nicotine across porcine oral mucosa ex vivo. *Nicotine Tob Res.* 2010; 12(7):763-7.
37. Qandil R, Sandhu HS, Matthews DC. Tobacco smoking and periodontal diseases. *J Can Dent Assoc.* 1997; 63(3): 187-92, 194-95.
38. Tipton DA, Dabbous MK. Effects of nicotine on proliferation and extracellular matrix production of human gingival fibroblast in vitro. *J Periodontology.* 1995; 62(12): 1056-64.
39. Souza DM, Ricardo LH, Kantoski KZ, Rocha RF. Influence of alcohol consumption on alveolar bone level associated with ligature-induced periodontitis in rats. *Braz Oral Res.* 2009; 23(3):326-32.
40. Souza DM, Rocha RF. Low caloric value of ethanol itself increases alveolar bone loss in ligature induced periodontitis in male rats. *Braz Oral Res.* 2009; 23(4):460-6.
41. Pereira Vasconcelos DF, Dias da Silva MA, Rocha Marques M, Gibilini C, Cardoso Guimarães Vasconcelos AC, Pereira Barros S. Effects of simultaneous nicotine and alcohol use in periodontitis progression in rats: A histomorphometric study. *J ClinExp Dent.* 2013; 5(2):e95-9.

42. Nociti FH Jr, Nogueira-Filho GR, Primo MT, Machado MA, Tramontina VA, Barros SP, Sallum EA. The influence of nicotine on the bone loss rate in ligature-induced periodontitis. A histometric study in rats. *J Periodontol.* 2000; 71(9):1460-4.
43. Shukla D, Dinesh Kale A, Hallikerimath S, Vivekanandhan S, Venkatakanthaiah Y. Genetic polymorphism of drug metabolizing enzymes (GSTM1 and CYP1A1) as risk factors for oral premalignant lesions and oral cancer. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub.* 2012 Sep;156(3):253-9. doi: 10.5507/bp.2012.013. Epub 2012 Jan 30. PMID: 22660220.
44. Choi A. Review Articles: the carcinogenetic mechanisms of tobacco. *J Hong Kong Med Assoc.* 1990; 42:15-7
45. Jovanovic A, Schulten EA, Kostense PJ, Snow GB, van der Waal I. Tobacco and alcohol related to the anatomical site of oral squamous cell carcinoma. *J Oral Pathol Med.*1993; 22(10):459- 62.
46. Blot WJ, MclaughlinJK, Winn DM etal.Smoking and drinking in relation to oral and pharyngeal cáncer. *Cancer Reseach.* 1988; 48: 3282-3287.
47. Franceschi S, Bidoli E, Herrero R, Muñoz N. Comparison of cancers of the oral cavity and pharynx worldwide: etiological clues. *Oral Oncol.* 2000; 36:106-15.
48. Lissowska J, Pilarska A, Pilarski P, Samolczyk-Wanyura D, Piekarczyk J, Bardin- Mikollajczak A, et al. Smoking, alcohol, diet, dentition and sexual practices in the epidemiology of oral cancer in Poland. *Eur J Cancer Prev.* 2003; 12:25-33.136
49. Moreno-López LA, Esparza-Gómez GC, González-Navarro A, Cerero-Lapiedra R, González-Hernández MJ, Domínguez-Rojas V. Risk of oral cancer associated with tobacco smoking, alcohol consumption and oral hygiene: a case-control study in Madrid, Spain. *Oral Oncol.* 2000; 36:170-4.
50. Castellsagué X, Quintana MJ, Martínez MC, Nieto A, Sánchez MJ, Juan A, et al. The role of type of tobacco and type of alcoholic beverage in oral carcinogenesis. *Int J Cancer.* 2004; 108:741-9.
51. Talamini R, Vaccarella S, Barbone F, Tavani A, La Vecchia C, Herrero R, et al. Oral hygiene, dentition, sexual habits and risk of oral cancer. *Br J Cancer.* 2000; 83:1238-42.
52. Rodríguez T, Altieri A, Chatenoud L, Gallus S, Bosetti C, Negri E, et al. Risk factors for oral and pharyngeal cancer in young adults. *Oral Oncol.* 2004; 40:207-13.
53. Marshall JR, Graham S, Haughey BP, Shedd D, O'Shea R, Brasure J, et al. Smoking, alcohol, dentition and diet in the epidemiology of oral cancer. *Eur J Cancer B Oral Oncol.* 1992; 28B:9-15.
54. Ames BN, Gold LS. The causes and prevention of cancer: the role of environment. *Biotherapy* 1998; 11:205-20.
55. Brandizzi D, Gandolfo M, Velazco ML, Cabrini RL, Lanfranchi HE. Clinical features and evolution of oral cancer: A study of 274 cases in Buenos Aires, Argentina. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal.* 2008; 13:E544-8.
56. Hernández-Guerrero JC, Jacinto-Alemán LF, Jiménez-Farfán MD, Macario-Hernández A, Hernández-Flores F, Alcántara-Vázquez A. Prevalencetrendsof oral squamouscell carcinoma. MexicoCity's General Hospital experience. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal.* 2013; 18:e306-11.
57. Pires FR, Ramos AB, de Oliveira JBC, Tavares AS, da Luz PSR, dos Santos TCRB. Oral squamous cell carcinoma: clinicopathological features from 346 cases from a single Oral Pathology service during an 8-year period. *J Appl Oral Sci.* 2013; 21:460-7.
58. Rodu B, Jansson C. Smokeless tobacco and oral cancer: a review of the risks and determinants. *Crit Rev Oral Biol Med.* 2004; 15:252-63.
59. Riedel F, Goessler U, Hörmann K. Alcohol-related diseases of the mouth and throat. *Best Practice & Research Clinical Gastroenterology.* 2003; 17: 543–555.
60. Wigh AJ, Ogden GR. Possible mechanisms by which alcohol may influence the development of oral cancer- a review. *Oral Oncology.* 1998; 3 4: 441-447.

61. Carles J, eds. La química del vino. Barcelona: Oikos-Tau Editores; 1972. p.32-9
62. Secades Villa R, eds. Alcoholismo juvenil: prevención y tratamiento. Madrid: Pirámide Editores SA; 1996. p. 17-56.
63. II Congreso Internacional de alcohólicos rehabilitados. Cero grados, 2001; 7.
64. Salaspuro MP. Alcohol consumption and cancer of the gastrointestinal tract. Best Practice & Research Clinical Gastroenterology. 2003; 17:679–694.
65. Graham S, Dayal H, Rohrer T, et al. Dentition, diet, tobacco and alcohol in the epidemiology of oral cancer. Journal of National Cancer Institute 1977; 59:1611-1618.
66. Schottenfield D. Alcohol as a co-factor in the aetiology of cáncer. Cancer. 1979; 43:1962-1966.
67. Marshall JR, Graham S, Haughey BP, et al. Smoking, alcohol, dentition and diet in the epidemiology of oral cancer. Oral oncology. European Journal of cancer. 1992;29B:9-15
68. Agencia Internacional para el rescate en cáncer, Organización Mundial de la salud. (1988).Consumo de alcohol (PDF). Lyon: Organización Mundial de la Salud, Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer. ISBN 978-92-832-1244-7. Archivado desde el original (PDF) el 26 de junio de 2013. p8
69. Pöschl G, Seitz HK. "Alcohol y cáncer". Alcohol y alcoholismo. 200439 (3): 155–65.
70. Schüller, A. Alcohol y enfermedad. Madrid: Eudema Editores SA; 1991.p. 17-33 y p. 336-7.
71. Visapää JP, Götte K, Benesova M, Li J, Homann N, Conrad C, Inoue H, Tisch M, Hörmann K, Väkeväinen S, Salaspuro M, Seitz HK. Increased cáncer risk in heavy drinkers with the alcohol dehydrogenase 1C*1 allele, possibly due to salivary acetaldehyde. Gut. 2004; 53: 871–876.
72. Homann N, Stickel F, König IR, et al. "El alelo de la alcohol deshidrogenasa 1C * 1 es un marcador genético para el cáncer asociado con el alcohol en los bebedores de alcohol". Revista Internacional de Cáncer. 2006.118 (8): 1998-2002.
73. Homann N, Tillonen J, Rintamäki H, Salaspuro M, Lindqvist C, Meurman JH. Poor dental status increases acetaldehyde production from ethanol in saliva: a possible link to increased oral cancer risk among heavy drinkers. Oral Oncology. 2001; 37:153-158.
74. Homann N, Tillonen J, Meurman JH, Rintamäki H, , Lindqvist C, Rautio M, Jousimies-Somer H, Salaspuro M. Increased salivary acetaldehyde levels in heavy drinkers and smokers: a microbiological approach to oral cavity cancer. Carcinogenesis. 2000; 21:663-668.
75. Homann N, Jousimies H, Jokelainen K, Heine R, Salaspuro M. High acetaldehyde levels in saliva after ethanol consumption; methodological aspects and pathogenic implications. Carcinogenesis.1997; 18:1739-43.
76. Homann N, Kärkkäinen P, Koivisto T, Jokelainen K, Salaspuro M. Effects of acetaldehyde on cell regeneration and differentiation of the upper gastrointestinal tract mucosa. J Natl. Cancer Instit. 1997; 89: 1692-7.
77. IARC Monographs on the Evaluation of the Carcinogenic Risk of chemicals to Humans, Vol 36. Alkyl, components, aldehydes, Epoxides and Peroxides. IARC, Lyon, pp101-132, 1988.
78. Yokoyama A, Maramatsu T, Ohmori T, et al. Alcohol related cancers and aldehyde dehydrogenase-2 in Japanese alcoholic. Carcinogenesis .1998; 19: 1383-7.
79. IARC, Acetaldehyde IARC Monographs on the Evaluation of the Carcinogenic Risk to Human.Re-evaluation of Some Organic Chemicals, Hydrazine and Hydrogen Peroxide, 1999.71: 319-335. Lyon: International Agency for Research on Cancer,
80. Seitz HK, Poschl G, Simanowski UA. Alcohol and cáncer. Recent Dev Alcohol. 1998.14:67-95.
81. Woutersen,R.A., Appelman,L.M., Van Garderen-Hoetmer,A. and Feron,V.J. Inhalation toxicity of acetaldehyde in rats. III.Carcinogenicity study. Toxicology. 1986; 41, 213–231.

82. Figuero-Ruiz E, Carretero-Peláez MA, Cerero-Lapiedra R, Esparza- Gómez G, Moreno-López LA. Efectos del consumo de alcohol etílico en la cavidad oral: Relación con el cáncer oral. *Med Oral*. 2004; 9:14-23.
83. Howie NM, Trigkas TK, Cruchley AT, et al. Short-term exposure to alcohol increases the permeability of human oral mucosa. *Oral Diseases*. 2001; 7, 349-354.
84. Simanowski UA, Stickel F, Maier H et al. Effect of alcohol on gastrointestinal cell regeneration as a posible mechanism in alcohol.associatedcarcinogénesis. *Alcohol*. 1995; 12: 111-115.
85. Franceschi S, Talamini R, Barra S, Baron AE, Negri E, Bidoli E, et al. Smoking and drinking in relation to cancers of the oral cavity, pharynx, larynx and esophagus in Northern Italy. *Cancer Res*. 1990; 50:6502-07.
86. Howie NM, Williams DM. The effect of ethanol on the permeability of oral mucosa to albumin and sucrose. *J Dental Research*. 1995; 74: 889.
87. Figuero-Ruiz E, Carretero-Peláez MA, Cerero-Lapiedra R, Esparza-Gómez G, Moreno-López LA. Efectos del consumo de alcohol etílico en la cavidad oral: Relación con el cáncer oral. *Med Oral*. 2004; 9:14-23.
88. Trigkas TK., Cruchley AT., Williams DM, Wertz P, Squier. Human oral mucosal permeability is increased by short term exposure to ethanol. *J Dental Research*. 1993;72: 694.
89. Lieber CS. Herman award lecture, 1993: a personal perspective on alcohol, nutrition, and the liver. *Am J Clin Nutr*. 1993; 58(3):430-42.
90. Squier CA, Cox P, Wertz PW. Ipid content and water permeability of skin and oral mucosa. *Journal of Investigative Dermatology*. 1999; 96:123-126.
91. Wight AJ, Ogden GR. Possible mechanisms by which alcohol may influence the development of oral cancer: a review. *Oral Oncol* .1998; 34:441-7.
92. McGovern PE. Ancient wine: The search for the origins of viniculture. Princeton: Princeton Univerity Press. 2002: 314-315.
93. Anderson P, Gual A, Colon J. Alcohol y atención primaria de la salud: informaciones clínicas básicas para la identificación y el manejo de riesgos y problemas. Washington, D.C.: OPS, 2008.
94. Kissin B, Kaley MM, Su WH et al. Head and neck cáncer in alcoholics. The relationship to drinking, smoking, and dietary patterns. *Journal of the American Medical Association*. 1973; 224:1174-1175.
95. Caciva RC, Belardinelli PA et al. ¡Alcohol y salud! ¿Alcohol y salud? Revisiónbibliográfica. *Claves de Odontología* .2015; 74: 41-46.
96. Pentenaro M, Broccolatti R, Carbone M, Corotto D, Gandolfo S. The prevalence of oral mucosal lesions in adults from the turin area. *Oral Diseases* (2008) 14,356-366.
97. Mashberg A, Boffetta P, Winkelman R et al. Tobacco smoking, alcohol drinking, and cancer of thr oral cavity and oropharynx among US. veterans. *Cancer* 1993; 72:1369-1375.
98. McCoy GD, Wynder EL, Aetiological and preventive implications in alcohol carcinogenesis. *Cancer Research*. 1979; 39:2844-2850.
99. Blot WJ, MclaughlinJk, Winn DM etal.Smoking and drinking in relation to oral and pharyngeal cáncer. *Cancer Reseach*. 1988; 48: 3282-3287.
- 100.Wynder EI, Bross IJ, Feldman R. A study of the aetiological factors in cancer of the mouth. *Cancer* 1957;16:1300-1323.
- 101.Kabat GC, Wynder EL. Type of alcoholc beverage and oral cancer.*International Journal of Cancer* 1989; 43:190-194.
- 102.Franceschi S, Talamini R, Barra S, Baron AE, Negri E, Bidoli E, et al. Smoking and drinking in relation to cancers of the oral cavity, pharynx, larynx and esophagus in Northern Italy. *Cancer Res*. 1990; 50:6502-07.
- 103.López Jiménez J, Giménez Prats MJ, Boj Quesada JR., Caballero Herrera R. Alcoholismo: consideraciones estomatológicas. *Archivos de Odontoestomatología*. 1999; 15:391-7.
- 104.Rayo Llerena I, Marín Huerta E. Vino y corazón. *Revista española de cardiología*. 1998; 51:435-49.

105. Ogden GR, Wight AJ. Aetiology of cancer: Alcohol. *British Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*. 1998; 36:247-251.
106. Blot W. Alcohol and cancer. *Cancer research*. 1992; 1: 2119-23.
107. Parkin DM, Pisani P, Ferlay J. Estimates of the worldwide incidence of 25 major cancers in 1990. *Int J Cancer*. 1999; 80:827-41.
108. Gerson SJ. Oral cancer. *Crit Rev Oral Biol Med*. 1990; 1:153-66.
109. Silverman Jr S. Demographics and occurrence of oral and pharyngeal cancers: the outcomes, the trends, the challenge. *J Am Dent Assoc*. 2001; 132:7S.
110. Carretero Peláez M, Esparza Gómez GC, Figuero Ruiz;, Cerero Lapiedra; Colutorios con alcohol y su relación con el cáncer oral. Análisis crítico de la literatura. *Med Oral*. 2003; 9:116-23.
111. Gorsky M, Epstein JB, Oakley C, Le ND, Hay J, Stevenson-Moore P. Carcinoma of the tongue: a case series analysis of clinical presentation, risk factors, staging, and outcome. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2004; 98:546-52.
112. IARC Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Alcohol Drinking. *IARC Monogr Eval Carcinog Risks Hum*. 1988; 44:1-378.
113. Fioretti F, Bosetti C, Tavani A, Franceschi S, La Vecchia C. Risk factors for oral and pharyngeal cancer in never smokers. *Oral Oncol*. 1999; 35:375-8.
114. Riedel F, Goessler U, Hormann K. Alcohol-related diseases of the mouth and throat. *Best Pract Res Clin Gastroenterol*. 2003; 17:543-55.
115. Squier CA. The permeability of oral mucosa. *Crit Rev Oral Biol Med* 1991; 2:13-32.
116. Bagnardi V, Blangiardo M, La Vecchia C, Corrao G. A meta-analysis of alcohol drinking and cancer risk. *Br J Cancer* 2001; 85:1700-5.
117. Riedel F, Goessler U, Hormann K. Alcohol-related diseases of the mouth and throat. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2003; 17:543-55.
118. Wight AJ, Ogden GR. Possible mechanisms by which alcohol may influence the development of oral cancer: a review. *Oral Oncol* 1998; 34:441-7.
119. Wunsch-Filho V. The epidemiology of oral and pharynx cancer in Brazil. *Oral Oncol* 2002; 38:737-46.
120. Maier H, Tisch M, Enderle G, Dietz A, Weidauer H. Occupational exposure to paint, lacquer and solvents, and cancer risk in the area of the upper aero-digestive tract. *HNO* 1997; 45:905-8.
121. Maier H, Tisch M. Occupations and social habits and head and neck cancer. *Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg* 2001; 9:71-3.
122. Gustavsson P, Jakobsson R, Johansson H, Lewin F, Norell S, Rutkvist LE. Occupational exposures and squamous cell carcinoma of the oral cavity, pharynx, larynx, and oesophagus: a case-control study in Sweden. *Occup Environ Med* 1998; 55:393-400
123. Martínez Ballesteros O, Alvarez de los Heros F. Exposición a tóxicos de uso industrial y ambiente laboral. *ORL-DIPS* 2005; 32:62-71.
124. Straif K, Weiland SK, Bungers M, Holthenrich D, Taeger D, Yi S, et al. Exposure to high concentrations of nitrosamines and cancer mortality among a cohort of rubber workers. *Occup Environ Med* 2000; 57:180-7.
125. IARC. Overall Evaluations of Carcinogenicity: An Updating of IARC Monographs Volumes 1 to 42. *IARC Monogr Eval Carcinog Risk Chem Hum* 1987 (suppl 7).
126. Ames BN, Gold LS. The causes and prevention of cancer: the role of environment. *Biotherapy* 1998; 11:205-20.
127. Andreotti M. Occupational status and cancer of the oral cavity and oropharynx. *Cad Saude Publica* 2006; 22:543-52.

128. Kuen Lee, Dante Cáceres, Nelson Varela, Atila Csendes D, Horacio Ríos R, Luis Quiñones S: Variantes alélicas de CYP1A1 y GSTM1 como biomarcadores de susceptibilidad a cáncer gástrico: influencia de los hábitos tabáquico y alcohólico. *Rev. méd. Chile* v.134 n.9 Santiago sep. 2006
129. K. Murray, Robert (2005). *Bioquímica de Harper* (14ª edición). México: Manual Moderno. pg 676. ISBN 968-4267-56-8. Metabolismo de los xenobióticos.
130. Mo Z, Gao Y, Cao Y, Gao F, Jian L. An updating metanalysis of the GSTM1, GSTT1, and GSTP1 polymorphisms and prostate cancer: aHuGE review. *Prostate*. 2009; 69:662-88.
131. Li Y- Li YF, Sung FC, Tsai MH, Hua CH, Liu CS, Huang YT, Yeh CC. Interactions between cigarette smoking and polymorphisms of xenobiotic-metabolizing genes: the risk of oral leukoplakia. *Dis Markers*. 2013;34(4):247-55. doi: 10.3233/DMA-130967. PMID: 23396292; PMCID: PMC3809740.
132. Anaya Y, Matínez B. Diversidad e implicaciones de los polimorfismos de las enzimas Glatatión S transferasas en la patogénesis del Asma. *MedUNAB*. 2011; 14:48-57.
133. Singh RD, Haridas N, Shah FD, Patel JB, Shukla SN, Patel PS. Gene polymorphisms, tobacco exposure and oral cancer susceptibility: a study from Gujarat, West India. *Oral Dis*. 2014 Jan;20(1):84-93. doi: 10.1111/odi.12079. Epub 2013 Feb 28. PMID: 23444898.
134. Cordero K, Espinoza I, Cáceres D, Roco A, Miranda C, Squicciarini V, Santander P, Lee K, Saavedra I, Quiñones L. Oral cancer susceptibility associated with the CYP1A1 and GSTM1 genotypes in Chilean individuals. *Oncol Lett*. 2010 May;1(3):549-553. doi: 10.3892/ol_00000097. Epub 2010 May 1. PMID: 22966341; PMCID: PMC3436421.
135. Sharma A, Mishra A, Das BC, Sardana S, Sharma JK. Genetic polymorphism at GSTM1 and GSTT1 gene loci and susceptibility to oral cancer. *Neoplasma*. 2006;53(4):309-15. PMID: 16830058.
136. Matthias C, Bockmühl U, Jahnke V, Jones PW, Hayes JD, Alldersea J, Gilford J, Bailey L, Bath J, Worrall SF, Hand P, Fryer AA, Strange RC. Polymorphism in cytochrome P450 CYP2D6, CYP1A1, CYP2E1 and glutathione S-transferase, GSTM1, GSTM3, GSTT1 and susceptibility to tobacco-related cancers: studies in upper aerodigestive tract cancers. *Pharmacogenetics*. 1998 Apr;8(2):91-100. PMID: 10022746.
137. Bartsch H, Nair U, Risch A, Rojas M, Wikman H, Alexandrov K. Genetic polymorphism of CYP genes, alone or in combination, as a risk modifier of tobacco-related cancers. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2000 Jan;9(1):3-28. PMID: 10667460.
138. Noda N, Matsuzoe D, Konno T, Kawahara K, Yamashita Y, Shirakusa T. Risk for K-ras gene mutations in smoking-induced lung cancer is associated with cytochrome P4501A1 and glutathione S-transferase micro1 polymorphisms. *Oncol Rep*. 2004 Oct;12(4):773-9. PMID: 15375499.
139. Maurya SS, Anand G, Dhawan A, Khan AJ, Jain SK, Pant MC, Parmar D. Polymorphisms in drug-metabolizing enzymes and risk to head and neck cancer: evidence for gene-gene and gene-environment interaction. *Environ Mol Mutagen*. 2014 Mar;55(2):134-44. doi: 10.1002/em.21837. Epub 2013 Dec 5. PMID: 24519899.
140. Nakachi K, Imai K, Hayashi S, Kawajiri K. Polymorphisms of the CYP1A1 and glutathione S-transferase genes associated with susceptibility to lung cancer in relation to cigarette dose in a Japanese population. *Cancer Res*. 1993 Jul 1;53(13):2994-9. PMID: 8319207.
141. Shi X, Zhou S, Wang Z, Zhou Z, Wang Z. CYP1A1 and GSTM1 polymorphisms and lung cancer risk in Chinese populations: a meta-analysis. *Lung Cancer*. 2008 Feb;59(2):155-63. doi: 10.1016/j.lungcan.2007.08.004. Epub 2007 Sep 27. PMID: 17900751.
142. Sánchez-Siles M, Pelegrín-Hernández JP, Hellín-Meseguer D, Guerrero-Sánchez Y, Corno-Caparrós A, Cabezas-Herrera J, Pastor-Quirante F, Fernández-Ruiz JA, Aliaga-Sánchez A, Lucero-Berdugo M, Camacho-Alonso F. Genotype of Null Polymorphisms in Genes GSTM1, GSTT1, CYP1A1, and CYP1A1*2A

- (rs4646903 T>C)/CYP1A1*2C (rs1048943 A>G) in Patients with Larynx Cancer in Southeast Spain. *Cancers* (Basel). 2020 Sep 1;12(9):2478. doi: 10.3390/cancers12092478. PMID: 32882964; PMCID: PMC7563952.
143. Xie S, Luo C, Shan X, Zhao S, He J, Cai Z. *CYP1A1* MspI polymorphism and the risk of oral squamous cell carcinoma: Evidence from a meta-analysis. *Mol Clin Oncol*. 2016 Apr;4(4):660-666. doi: 10.3892/mco.2016.768. Epub 2016 Feb 5. PMID: 27073686; PMCID: PMC4812503.
144. Liu H, Jia J, Mao X, Lin Z. Association of *CYP1A1* and *GSTM1* Polymorphisms With Oral Cancer Susceptibility: A Meta-Analysis. *Medicine* (Baltimore). 2015 Jul;94(27):e895. doi: 10.1097/MD.0000000000000895. PMID: 26166128; PMCID: PMC4504623.
145. Zhuo W, Wang Y, Zhuo X, Zhu Y, Wang W, Zhu B, Li D, Chen Z. *CYP1A1* and *GSTM1* polymorphisms and oral cancer risk: association studies via evidence-based meta-analyses. *Cancer Invest*. 2009 Jan;27(1):86-95. doi: 10.1080/07357900802146170. PMID: 19160101.
146. Zakiullah, Ahmadullah, Khisroon M, Saeed M, Khan A, Khuda F, Ali S, Javed N, Ovais M, Masood N, Khalil NK, Ismail M. Genetic susceptibility to oral cancer due to combined effects of *GSTT1*, *GSTM1* and *CYP1A1* gene variants in tobacco addicted patients of Pashtun ethnicity of Khyber Pakhtunkhwa province of Pakistan. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2015;16(3):1145-50. doi: 10.7314/apjcp.2015.16.3.1145. PMID: 25735346.
147. Hussain T, Alrokayan S, Upasna U, Pavithrakumari M, Jayapriya J, Kutala VK, Naushad SM. Meta-analysis of genetic polymorphisms in xenobiotic metabolizing enzymes and their association with breast cancer risk. *J Genet*. 2018 Jun;97(2):523-537. PMID: 29932073.
148. Omura T, Sato R. *J Biol Chem* 1964;239:2379-85.
149. Nelson, D.R., Zeldin, D.C., Hoffman, S.M.G., Maltais, L.J., Wain, H.M., and Nebert, D.W. *Pharmacogenetics*. 2004; 14, 1–18; Cytochrome P450 sequence database: <http://drnelson.utmem.edu/CytochromeP450.htm>
150. Smith G, Stubbins MJ, Harries LW, Wolf CR (diciembre de 1998). "Genética molecular de la superfamilia de monooxigenasa del citocromo P450 humano". *Xenobiotica*. 28 (12): 1129–65.
151. Hussain T, Alrokayan S, Upasna U, Pavithrakumari M, Jayapriya J, Kutala VK, Naushad SM. Meta-analysis of genetic polymorphisms in xenobiotic metabolizing enzymes and their association with breast cancer risk. *J Genet*. 2018 Jun;97(2):523-537. PMID: 29932073.
152. Brockmöller J, Cascorbi I, Kerb R, Sachse C, Roots I. Polymorphisms in xenobiotic conjugation and disease predisposition. *Toxicol Lett*. 1998 Dec 28;102-103:173-83. doi: 10.1016/s0378-4274(98)00304-x. PMID: 10022251.
153. Ruwali M, Parmar D. Association of functionally important polymorphisms in cytochrome P450s with squamous cell carcinoma of head and neck. *Indian J Exp Biol*. 2010 Jul;48(7):651-65. PMID: 20929050
154. Rai R, Kulkarni V, Saranath D. Genome wide instability scanning in chewing-tobacco associated oral cancer using inter simple sequence repeat PCR. *Oral Oncol* 2004;40:1033-9.
155. Bartsch H, Nair U, Risch A, Rojas M, Wikman H, Alexandrov K. Genetic polymorphism of CYP genes, alone or in combination, as a risk modifier of tobacco-related cancers. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2000;9:3-28.
156. Kellerman et al., *New Eng J Med*. 1973; 289: 934-937
157. Hayes JD, McLellan LI. Glutathione and glutathione-dependent enzymes represent a co-ordinately regulated defence against oxidative stress. *Free Radic Res*. 1999; 31:273-300.
158. Nigam K, Sanyal S, Gupta S, Gupta OP, Mahdi AA, Bhatt MLB. Alteration of the Risk of Oral Pre-Cancer and Cancer in North India Population by *CYP1A1* Polymorphism Genotypes and Haplotype. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2019 Feb 26;20(2):345-354. doi: 10.31557/APJCP.2019.20.2.345. PMID: 30803192; PMCID: PMC6897020.

159. Yu KT, Ge C, Xu XF, Zou JC, Zou X, Zhen S. CYP1A1 polymorphism interactions with smoking status in oral cancer risk: evidence from epidemiological studies. *Tumour Biol.* 2014 Nov;35(11):11183-91. doi: 10.1007/s13277-014-2422-y. Epub 2014 Aug 9. PMID: 25106409.
160. Hayes JD, Pulford DJ. The glutathione S-transferase supergene family: regulation of GST and the contribution of the isoenzymes to cancer chemoprotection and drug resistance. *Crit Rev BiochemMolBiol.* 1995; 30:445-600.
161. Hayes JD, Flanagan JU, Jowsey IR. Glutathione transferases. *Annu Rev Pharmacol Toxicol.* 2005; 45:51-88.
162. Hayes JD, Strange RC. Glutathione S-transferase polymorphisms and their biological consequences. *Pharmacology.* 2000; 61:154-66.
163. Pemble S, Schroeder KR, Spencer SR, Meyer DJ, Hallier E, Bolt HM, et al. Human glutathione S-transferase theta (GSTT1): cDNA cloning and the characterization of a genetic polymorphism. *Biochem J.* 1994; 300:271-6.
164. Xu S, Wang Y, Roe B, Pearson WR. Characterization of the human class Mu glutathione S-transferase gene cluster and the GSTM1 deletion. *J BiolChem.* 1998; 273:3517-27.
165. Ho T, Zhao C, Zheng R, Liu Z, Wei Q, Sturgis EM. Glutathione S-transferase polymorphisms and risk of differentiated thyroid carcinomas: a case-control analysis. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg.* 2006; 132:756-61.
166. Morari EC, Leite JL, Granja F, da Assumpção LV, Ward LS. The null genotype of glutathione s-transferase M1 and T1 locus increases the risk for thyroid cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2002; 11:1485-8.
167. Manfredi S, Federici C, Picano E, Botto N, Rizza A, Andreassi MG. GSTM1, GSTT1 and CYP1A1 detoxification gene polymorphisms and susceptibility to smoking-related coronary artery disease: a case-only study. *Mutat Res.* 2007; 621:106-12.
168. Tetlow N, PG Board. Functional polymorphism of human glutathione transferase A2. *Pharmacogenetics.* 2004; 14:111-6.
169. McLellan RA, Oscarson M, Alexandrie AK, Seidegard J, Evans DA, Rannung A, et al. Characterization of a human glutathione-S-transferase mu cluster containing a duplicated GSTM1 gene that causes ultrarapid enzyme activity. *MolPharmacol.* 1997; 52:958-65.
170. Piacentini S, Piacentini S, Moscatelli B, Re MA, Fucciarelli R, Manfellotto D, et al. Glutathione S-transferase gene polymorphisms and air pollution as interactive risk factors for asthma in a multicentre Italian field study: A preliminary study. *Ann Hum Biol.* 2008; 37:427-39.
171. Polimanti R, Piacentini S, Moscatelli B, Pellicciotti L, Manfellotto D, Fucciarelli M. GSTA1, GSTO1 and GSTO2 gene polymorphisms in Italian asthma patients. *ClinExpPharmacolPhysiol.* 2010; 37:870-2.
172. Roodi N, Dupont WD, Moore JH, Parl FF. Association of homozygous wild-type glutathione S-transferase M1 genotype with increased breast cancer risk. *Cancer Res.* 2004; 64:1233-6.
173. Timofeeva M, Jäger B, Rosenberger A, Sauter W, Wichmann HE, KORA Study Group, et al. A multiplex real-time PCR method for detection of GSTM1 and GSTT1 copy numbers. *ClinBiochem.* 2009; 42:500-9.
174. Levine AJ y Oren M (2009). *Nat Rev Cancer* (10). pp. 749-58.p53
175. Batchelor E, Loewer A, Lahav G. The ups and downs of p53: understanding protein dynamics in single cells. *Nat Rev Cancer.* 2009;9(5):371-377. doi:10.1038/nrc2604
176. Liu J, Zhang C, Hu W, Feng Z. Tumor suppressor p53 and its mutants in cancer metabolism. *Cancer Lett.* 2015; 356 (2 Pt A):197-203. doi:10.1016/j.canlet.2013.12.025
177. Olivier M, Hussain SP, Caron de Fromental C, Hainaut P, Harris CC. TP53 mutation spectra and load: a tool for generating hypotheses on the etiology of cancer, IARC Scientific Publications, 2004. pp. 247–270.

178. Brunotto M, Malberti A, Zárate A, et al. Early alterations of phenotype and genotype in rat Submandibular Gland oncogenesis *Acta Odont Lact* 2006; 19:13-21.
179. Brunotto M, Zarate AM, Barra JL, Malberti A. Graph models for phenotype and genotype association between oral mucosa and submandibular gland tumorigenesis in rat. *J Oral Pathol Med.* 2009;38(5):463-469. doi:10.1111/j.1600-0714.2008.00692.
180. Nadeau JH. Modifier genes in mice and humans. *Nat Rev Genet.* 2001;2(3):165-174. doi:10.1038/35056009
181. Galindez F, Carrica A, Zarate AM, Don J, Secchi DG, Barra JL, Brunotto M. DNA repair, NFK β , and TP53 polymorphisms associated with potentially malignant disorders and oral squamous cell carcinoma in Argentine patients. En prensa. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology and Oral Radiology Ms. Ref.* No.: TRIPLEO-D-20-01419R1. Date: lun., 9 de noviembre de 2020.
182. Serrano M, Lin AW, McCurrach ME, Beach D, Lowe SW. Oncogenic RAS provokes premature cell senescence associated with accumulation of p53 and p16INKa. *Cell.* 1997; 88: 593-602.
183. Dimri GP, Acosta M, Hahana K, Campisi J. Regulation of a senescence checkpoint response by the E2f1 transcription factor and p14/ARF tumor suppressor. *Mol Cell Biol.* 2000;20:273-85.
184. Öner MG, Rokavec M, Kaller M, Bouznad N, Horst D, Kirchner T, Hermeking H. Combined Inactivation of TP53 and MIR34A Promotes Colorectal Cancer Development and Progression in Mice Via Increasing Levels of IL6R and PAI1. *Gastroenterology.* 2018 Dec;155(6):1868-1882. doi: 10.1053/j.gastro.2018.08.011. Epub 2018 Aug 10. PMID: 30099074.
185. Silwal-Pandit L, Langerød A, Børresen-Dale AL. TP53 Mutations in Breast and Ovarian Cancer. *Cold Spring Harb Perspect Med.* 2017 Jan 3;7(1):a026252. doi: 10.1101/cshperspect.a026252. PMID: 27815305; PMCID: PMC5204332.
186. Ciccicarese C, Massari F, Blanca A, Tortora G, Montironi R, Cheng L, Scarpelli M, Raspollini MR, Vau N, Fonseca J, Lopez-Beltran A. Tp53 and its potential therapeutic role as a target in bladder cancer. *Expert Opin Ther Targets.* 2017 Apr;21(4):401-414. doi: 10.1080/14728222.2017.1297798. Epub 2017 Mar 1. PMID: 28281901.
187. Ma HM, Cui N, Zheng PS. HOXA5 inhibits the proliferation and neoplasia of cervical cancer cells via down regulating the activity of the Wnt/ β -catenin pathway and transactivating TP53. *Cell Death Dis.* 2020 Jun 4;11(6):420. doi: 10.1038/s41419-020-2629-3. PMID: 32499530; PMCID: PMC7272418.
188. Warnakulasuriya S, Kujan O, Aguirre-Urizar JM, Bagan JV, González-Moles MÁ, Kerr AR, Lodi G, Mello FW, Monteiro L, Ogden GR, Sloan P, Johnson NW. Oral potentially malignant disorders: A consensus report from an international seminar on nomenclature and classification, convened by the WHO Collaborating Centre for Oral Cancer. *Oral Dis.* 2020 Oct 31. doi: 10.1111/odi.13704. Epub ahead of print. PMID: 33128420.
189. Aguas S, Lanfranchi HE. Lesiones premalignas o cancerizables de la cavidad oral. *Rev Fac Odontol UBA.* 2004; 19:21-30.
190. Farah CS, Woo SB, Zain RB, Sklavounou A, McCullough MJ, Lingen M. Oral cancer and oral potentially malignant disorders. *Int J Dent.* 2014; 2014:853479.
191. Lanfranchi-Tizeira HE, Aguas SC, Sano SM. Malignant transformation of atypical oral lichen planus: a review of 32 cases. *Med Oral.* 2003; 8:2-9.
192. Van der Wall J, Reichart PA. Oral proliferative verrucous leukoplakia revisited. *Oral Oncol.* 2008; 44:719–21.
193. Munde A, Karle R. Proliferative verrucous leukoplakia: An update. *J Cancer Res Ther.* 2016 Apr-Jun;12(2):469-73. doi: 10.4103/0973-1482.151443. PMID: 27461595.
194. Roció Cerero-Lapiedra, David Baladé-Martínez, José V. Bagan (2010). Proliferative Verrucous Leucoplakia: A proposal for diagnostic criteria. *Journal section: Oral Medicine and Pathology.* p. 846-848.

195. Luis Edmundo Martínez Calixto, Anthony J. Mastroianni. Leucoplasia Verrucosa Proliferativa. *Medicina Oral*. 2004; 4(2): 58-61.
196. Bagán JV, Murillo J, Poveda R, Gavaldá C. Leucoplasia verrucosa proliferativa: lugares poco usuales de los carcinomas orales de células escamosas y de cancerización de campo como se muestra por la aparición de múltiples OSCCs. *Oncol oral*; 2004;40:440-3.
197. Hansen LS, Olson JA, Silverman S Jr. Verrucosa Proliferativa Leukoplakia. Un estudio a largo plazo de treinta pacientes. *Oral Surg. Oral en Med. Oral Pathol*. 1985. 60:285-98.
198. Kaplan B, Barnes L. Oral lichen planus and squamous carcinoma. Case report and update of the literature. *Arch Otolaryngol*. 1985 Aug;111(8):543-7. doi: 10.1001/archotol.1985.00800100091015. PMID: 3896211.
199. Georgakopoulou EA, Ahtari MD, Ahtaris M, Foukas PG, Kotsinas A. Oral lichen planus as a preneoplastic inflammatory model. *J Biomed Biotechnol* 2012; 2012:759626.
200. Wu L, Feng J, Shi L, Shen X, Liu W, Zhou Z. Candidal infection in oral leukoplakia: a clinicopathologic study of 396 patients from eastern China. *Ann Diagn Pathol*. 2013;17:37-40.
201. Hebbar PB, Pai A, D S. Mycological and histological associations of *Candida* in oral mucosal lesions. *J Oral Sci*. 2013; 55:157-60.
202. Chiu C-T, Li C-F, Li J-R, Wang J, Chuang C-Y, Chiang W-F, et al. *Candida* invasion and influences in smoking patients with multiple oral leukoplakias-a retrospective study. *Mycoses*. 2011; 54:e377-83.
203. Sanjaya PR, Gokul S, Gururaj Patil B, Raju R. *Candida* in oral pre-cancer and oral cancer. *Med Hypotheses*. 2011; 77:1125-8.
204. Gainza-Cirauqui ML, Nieminen MT, Novak Frazer L, Aguirre-Urizar JM, Moragues MD, Rautemaa R. Production of carcinogenic acetaldehyde by *Candida albicans* from patients with potentially malignant oral mucosal disorders. *J Oral Pathol Med*. 2013; 42:243-9.
205. Darling MR, McCord C, Jackson-Boeters L, Copete M. Markers of potential malignancy in chronic hyperplastic candidiasis. *J Investig Clin Dent*. 2012; 3:176-81.
206. Warnakulasuriya S, Johnson N, van der Waal I. Nomenclature and classification of potentially malignant disorders of the oral mucosa. *J Oral Pathol Med*. 2007; 36:575-80.
207. Biondi K, Belloni S, Velasco M, Robledo G, Gallardo A, Femopase F, et al. Correlation between oral precancer, cancer, and tobacco. *J Dent Res*. 1998; 77:5.
208. Pentenaro M, Broccolatti R, Carbone M, Corotto D, Gandolfo S. The prevalence of oral mucosal lesions in adults from the turin area. *Oral Diseases* (2008) 14,356-366.
209. Zarate AM, Brezzo MM, Secchi DG, et al. Malignancy risk models for oral lesions. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal* 2013; 18(5): e759–e765.
210. Di Rienzo J.A., Casanoves F., Balzarini M.G., Gonzalez L., Tablada M., Robledo C.W. InfoStat versión 2019. Centro de Transferencia InfoStat, FCA, Nacional de Córdoba, Argentina. URL <http://www.infostat.com.ar>) y el software R (www.r-project.org).
211. Secchi DG, Aballay LR, Shivappa N, Hebert JR, Galíndez Costa MF, Brunotto M. The inflammatory potential of Argentinian diet and oral squamous cell carcinoma potencial inflamatorio de la dieta argentina y carcinoma oral de células escamosas. *Nutr Hosp*. 2019;36(6):1361-1367. doi:10.20960/nh.02613
212. González Segura I, Secchi D, Carrica A, et al. Exfoliative cytology as a tool for monitoring pre-malignant and malignant lesions based on combined stains and morphometry techniques. *J Oral Pathol Med*. 2015;44(3):178–184. doi:10.1111/jop.12219
213. Panarese I, Aquino G, Ronchi A, Longo F, Montella M, Cozzolino I, Rocuzzo G, Colella G, Caraglia M, Franco R. Oral and Oropharyngeal squamous cell carcinoma: prognostic and predictive parameters in the etiopathogenetic route. *Expert Rev Anticancer Ther*. 2019 Feb;19(2):105-119. doi: 10.1080/14737140.2019.1561288. Epub 2019 Jan 15. PMID: 30582397.

214. Marocchio LS, Lima J, Sperandio FF, Corrêa L, de Sousa SO. Oral squamous cell carcinoma: an analysis of 1,564 cases showing advances in early detection. *J Oral Sci.* 2010; 52: 267 – 273.
215. Gonzalez-Segura I, Secchi DG, Carrica A, Barello R, Arbelo D, Dericia J, Brunotto M, Zarate AM. Exfoliative cytology as a tool for monitoring premalignant and malignant lesions based on combined stains and morphometry techniques. *J Oral PatholMed.* 2014; 44:178-84.
216. Maraki D, Becker J, Boecking A. Cytologic and DNA cytometric very early diagnosis of oral cancer. *J Oral PatholMed.* 2004; 33:398–404.
217. Bolesina NJ, Femopase FL, Morelatto RA, Olmos MA, López de Blanc SA. Oral squamous cell carcinoma. Clinical considerations. In: Kalu UE Ogbureke, editors. *Oral Cancer.* UnitedState: In-Tech, Croatia. 2012; p. 21-46
218. Morelatto RA, Herrera MC, Fernández EN, Corball AG, López de Blanc SA. Diagnostic delay of oral squamous cell carcinoma in two diagnosis centers in Córdoba Argentina. *J Oral Pathol Med.* 2007 Aug;36(7):405-8. doi: 10.1111/j.1600-0714.2007.00547.x. PMID: 17617833
219. Zarate AM, Don J, Secchi D, Carrica A, Galindez Costa F, PanicoR, Brusa M, Barra JL, Brunotto M. Study of the tp53 codon 72 polymorphism in oral cancer and oral potentially malignant disorders in argentinean patients. *Tumor Biology.*2017; 39(5):1010428317699113ISSN: 1010-4283 (Print), 1423-0380 (Electronic)
220. Morelatto RA, López de Blanc SA. Oral cancer mortality in the province of Cordoba, Argentine Republic in the period 1975-2000. A comparative study with other populations. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal.* 2006 May 1;11(3):E230-5. PMID: 16648758.
221. Llewellyn CD, Johnson NW, Warnakulasuriya KA. Risk factors for squamous cell carcinoma of the oral cavity in young people-a comprehensive literature review. *Oral Oncol.* 2001; 37:401-18.
222. Arbeev KG, Ukraintseva SV, Yashin AI. Dynamics of biomarkers in relation to aging and mortality. *Mech Ageing Dev.* 2016 Jun;156:42-54. doi: 10.1016/j.mad.2016.04.010. Epub 2016 Apr 29. PMID: 27138087; PMCID: PMC4899173.
223. Ukraintseva SV, Yashina AI. Cancer as "rejuvenescence". *Ann N Y Acad Sci.* 2004 Jun;1019:200-5. doi: 10.1196/annals.1297.032. PMID: 15247014.
224. Ukraintseva S, Yashin AI. Individual Aging and Cancer Risk: How are They Related sDemogr Res. 2003; 9:163-96.
225. Rhodus NL. Oral cancer and precancer: improving outcomes. *Compend Contin Educ Dent.* 2009 Oct;30(8):486-8, 490-4, 496-8 passim; quiz 504, 520. PMID: 19824564.
226. Castaño-Molina; Santacoloma, Mario; Arango, Lázaro; Camargo, Mauricio. CYP1A1, CYP2E1 y Riesgo a cáncer gástrico en una población Colombiana de alta incidencia. *Acta Biológica Colombiana.*2009; 14(3):203-215. Disponible en: <https://revistas.unal.edu.co/index.php/actabiol/article/view/9352>
227. Aguirre-Urizar JM, Alberdi-Navarro J, Lafuente-Ibáñez de Mendoza I, Marichalar-Mendia X, Martínez-Revilla B, Parra-Pérez C, et al. Clinicopathological and prognostic characterization of oral lichenoid disease and its main subtypes: A series of 384 cases. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal.* 2020.
228. van der Meij EH, Schepman K-P, van der Wall I. The possible malignant character of oral lichen planus and oral lichenoid lesions: a prospective study. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 2003; 96: 164–71.
229. Silverman S. Oral lichen planus: a potentially premalignant lesion. *J Oral Maxillofac Surg.* 2000; 58: 1286–8.
230. Thornhill MH, Sankar V, Xu XJ, et al. The role of histopathological characteristics in distinguishing amalgam-associated oral lichenoid reactions and oral lichen planus. *J Oral Pathol Med.* 2006; 35: 233–40.
231. Harris Ricardo, J., & Romero Treco, J. (2010). Leucoplasia homogénea asociada a tabaquismo invertido. *Ciencia Y Salud Virtual*, 2(1), 161-167. <https://doi.org/10.22519/21455333.74>
232. Tsai CW, Chang WS, Liu JC, Tsai MH, Lin CC, Bau DT. Contribution of DNA double-strand break repair gene XRCC3 genotypes to oral cancer susceptibility in Taiwan. *Anticancer Res* 2014; 34:2951-6.

233. Bau, D.T., Tsai, M.H., Lo, Y.L., Hsu, C.M., Tsai, Y., Lee, C.C., Tsai, F.J (2007). Association of p53 and p21 (CDKN1A/WAF1/CIP1) polymorphisms with oral cancer in Taiwan patients. *Anticancer Res.* 27(3B), 1559-64.
234. Hou, J., Gu, Y., Hou, W., Wu, S., Lou, Y., Yang, W., Zhou, L et al. (2015).. P53 codon 72 polymorphism, human papilloma virus infection, and their interaction to oral carcinoma susceptibility. *BMC Genet.* 16, 72. [https://doi.org/ 10.1186/s12863-015-0235-7](https://doi.org/10.1186/s12863-015-0235-7).
235. Sarkar J, Dominguez E, Li G, Kusewitt DF, Johnson DG. Modeling Gene-Environment Interactions in Oral Cavity and Esophageal Cancers Demonstrates a Role for the p53 R72P Polymorphism in Modulating Susceptibility. *Mol Carcinog.* 2014; 53(8): 648–658. doi:10.1002/mc.22019
236. Sina, M., Pedram, M., Ghojzadeh, M., Kochaki, A., Aghbali, A (2014). P53 gene codon 72 polymorphism in patients with oral squamous cell carcinoma in the population of northern Iran. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal.* 2014.19(6), e550-5.
237. Shen, H., Zheng, Y., Sturgis, E.M., Spitz, M.R., Wei, Q . P53 codon 72 polymorphism and risk of squamous cell carcinoma of the head and neck: a casecontrol study. *Cancer Lett.* 2002. 183(2),123-30;
238. Katiyar, S., Thelma, B.K., Murthy, N.S., Hedau, S., Jain, N., Gopalkrishna, V., Das, B.C. Polymorphism of the p53 codon 72 Arg/Pro and the risk of HPV type 16/18- associated cervical and oral cancer in India. *Mol Cell Biochem.* 2003. 252, 117-24
239. Twu, C.W., Jiang, R.S., Shu, C.H., Lin, J.C (2006). Association of p53 codon 72 polymorphism with risk of hypopharyngeal squamous cell carcinoma in Taiwan. *J FormosMedAssoc.* 2006.105(2), 99-104
240. Pattamawadee Yanatatsaneeji, Nakin Kitkumthorn, Chutintorn Dhammawipark, Jierada Rabalert, Vyomesh Patel, Apiwat Mutirangura Codon72 Polymorphism in the P53 Tumor Suppressor Gene in Oral Lichen Planus Lesions in a Thai Population. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention.* 2013; 11, 1137-114.
241. Xian-Lu Zhuo, Qi Li, Yan Zhou, Lei Cai, Zhao-Lan Xiang, Wei Yuan, Xue-Yuan Zhang Study on TP53 codon 72 polymorphisms with oral carcinoma susceptibility *Arch Med Res.* 2009 ;40(7):625-3
242. Gomez cast Demaio H, Brandan M, Bluvstein S, Blanco R, Carreño H Estudio de los polimorfismos geneticos del gen CYP1A1 en relación a pacientes con mielomeningocele no sindromico. *Medicina Infantil* 2004; XI: 191 – 195
243. González A, Ramírez V, Cuenca P, Sierra, R. Polimorfismos en los genes de desintoxicación CYP1A1, CYP2E1, GSTT1 y GSTM1 en la susceptibilidad al cáncer gástrico *Rev. biol. Trop.* 2004;52(3) ;
244. Lei Yao, XiaoJia Yu, Long Yu Lack of significant association between CYP1A1 T3801C polymorphism and breast cancer risk: a meta-analysis involving 25,087 subjects. *Breast Cancer Res Treat* 2010 Jul;122(2):503-7
245. Shu-Feng Zhou, Jun-Ping Liu, Balram Chowbay Polymorphism of human cytochrome P450 enzymes and its clinical impact *Drug Metab Rev* 2009;41(2):89-295
246. Ruiz D, Herrera Martinez M, FernandezCaravallo D, Lopez Ocampo L Asociación entre polimorfismos de Glutación-s-transferasa y cáncer cérvico uterino. *Rev Cubana ObstetGinecol [online].* 2017;43 (3):163-172.
247. Brandon, Thomas H.; Goniewicz, Maciej L.; Hanna, Nasser H.; Hatsukami, Dorothy K.; Herbst, Roy S.; Hobin, Jennifer A.; Ostroff, Jamie S.; Shields, Peter G. et al.
248. Barroso Duarte E, Cotta Ribeiro D; Gomez M, Ramos Jorge M. Genetic Polymorphisms of Carcinogen Metabolizing Enzymes are Associated with Oral Leukoplakia Development and p53 Overexpression. *Anticancer Research.* 2008; 28: 1101-1106
249. Rahmi Amtha, Cheong SokChing, Rosnah Zain, Ishak Abdul Razak, Bastaman Basuki, Boedi Oetomo Roeslan, Walta Gautama, Denny Purwanto. GSTM1, GSTT1 and CYP1A1 Polymorphisms and Oral Cancer Risk in Indonesia. *Asian Pacific J Cancer Prev,* 10, 21-26

- 250.Mehrotra R, Gupta A, Singh M, Ibrahim R. Application of cytology and molecular biology in diagnosing premalignant or malignant oral lesions. *Mol Cancer*. 2006; 5:11.
- 251.Sciubba JJ. Improving detection of precancerous and cancerous oral lesions. Computer-assisted analysis of the oral brush biopsy. U.S. Collaborative OralCDx Study Group. *J Am Dent Assoc*. 1999;130(10):1445-57.176
- 252.Beane J, Campbell JD, Lel J, Vick J, Spira A. Genomic approaches to accelerate cancer interception. *Lancet Oncol*. 2017;18(8):e494-e502. doi:10.1016/S1470-2045(17)30373-X
- 253.Winters S, Martin C, Murphy D, Shokar NK. Breast Cancer Epidemiology, Prevention, and Screening. *Prog Mol Biol Transl Sci*. 2017;151:1-32. doi: 10.1016/bs.pmbts.2017.07.002. Epub 2017 Oct 10. PMID: 29096890.
- 254.Kwong A, Shin VY, Ho JC, et al. Comprehensive spectrum of BRCA1 and BRCA2 deleterious mutations in breast cancer in Asian countries. *J Med Genet*. 2016;53(1):15-23. doi:10.1136/jmedgenet-2015-103132
- 255.Tao Z, Shi A, Lu C, Song T, Zhang Z, Zhao J. Breast Cancer: Epidemiology and Etiology. *Cell Biochem Biophys*. 2015 Jun;72(2):333-8. doi: 10.1007/s12013-014-0459-6. PMID: 25543329.

Producción Científica

Publicaciones

- Ignacio González Segura, Dante Secchi, Andrés Carrica, Rosario Barello, Darío Arbelo, Adriana Burgos, Mabel Brunotto, Ana M. Zarate. Exfoliative cytology as a tool for monitoring pre-malignant and malignant lesions based on combined stains and morphometry techniques. *J Oral Pathol Med.* 2015 Mar;44(3):178-84. ISI Factor Impact 1.87
- Zarate AM, Don J, Secchi DG, **Carrica A**, Galíndez F, Panico R, Brusa M, Barra JL, Brunotto M. Study of the TP53 codon 72 polymorphism in oral cancer and oral potentially malignant disorders in Argentine patients. *Tumor Biology*, **2017**, 39(5). doi: 10.1177/1010428317699113. ISSN: 1010-4283 (Print) 1423-0380 (Online) IF: 2.9
- Victoriano Andrés Carrica, Irazuzta Graciana, Unamuno Victoria, Panico Rene, Galindez Costa María Fernanda, José L. Barra And, Ana M. Zarate. Carcinogen-Related cyp1a1 and gstm1 Genetic Polymorphisms in Oral Cancer and Oral Potentially Malignant Disorders. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology and Oral Radiology* Volume 129, Issue 1, January 2020, Page e154 <https://doi.org/10.1016/j.oooo.2019.06.661>
- Galindez F, **Carrica A**, Zarate AM, Don J, Secchi DG, Barra JL, Brunotto M. DNA repair, NFK β , and TP53 polymorphisms associated with potentially malignant disorders and oral squamous cell carcinoma in Argentine patients. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology and Oral Radiology* Ms. Ref. No.: TRIPLEO-D-20-01419R1. Date: 9-de noviembre de 2020.

Presentaciones a Congresos Internacionales

- **Carrica A**, Galíndez Costa F, Unamuno V, Don J, Barra JL, Secchi D, Brunotto M, Zarate AM Estudio de los polimorfismos genéticos de los genes CYP1A1 y GSTM1 en relación al cáncer oral y pre cáncer. SUIO-XII Reunión de la Sociedad Uruguaya de Investigación Odontológica. Montevideo, Uruguay. Agosto **2017**.
- **Carrica V ANDRES**, Irazuzta Graciana, Unamuno Victoria Panico R,, Zarate AM, Galíndez Costa MF, Barra JL. Carcinogen Related Cyp1a1 And Gstm1 Genetic Polymorphisms In Oral Cancer And Oral Potentially Malignant Disorders. 44° Congresso Brasileiro de

Estomatología e Patología Oral – XV Reunión de la Academia Iberoamericana de Patología y Medicina Bucal - XII Congresso Brasileiro de Câncer Bucal, 17- 20 Julio **2018**, Río de Janeiro, Brasil

- Galíndez Costa MF, **Carrica A**, Don J, Unamuno V, González Segura I, Centeno V, Secchi DG, Zarate AM, Barra JL, Brunotto M. Prognostic risk score of genotypic characteristics in oral cancer based on logistic regression model XXIXTH International Biometric Conference. Barcelona, Spain, 8-13 July **2018**.
- Galíndez Costa MF, **Carrica AV**, González Segura I, Panico R, Barra JL, Zarate AM, Brunotto M. The diagnostic model of early stage of oral malignant lesion based on single nucleotide polymorphisms. 44°Congresso Brasileiro de Estomatología e Patología Oral – XV Reunión de la Academia Iberoamericana de Patología y Medicina Bucal - XII Congresso Brasileiro de Câncer Bucal, 17- 20 Julio **2018**, Río de Janeiro, Brasil
- **Carrica Andrés**, Unamuno Victoria, Irazuzta Graciana, Galíndez Costa Fernanda, Barra José L, Zarate Ana, Panico Rene. “Genetic polymorphisms of Tp53, CYP1A1 and GSTM1, in oral cancer and oral potentially malignant disorders, in patients from Córdoba, Argentina.”7th World Congress of the International Academy of Oral Oncology (IAOO 2019). 31-de Agosto al 7 de Septiembre 2009. Roma Italia.

Presentaciones a Congresos Nacionales

- Galíndez Costa MF, Don JA, **Carrica A**, Unamuno V, Secchi DG, Zárata AM, Brunotto M, Barra JL. Polimorfismos XRCC3 y XPD en la carcinogénesis oral de pacientes adultos. 50° Reunión de la Sociedad Argentina de Investigación Odontológica. San Nicolás. Buenos Aires. Noviembre **2017**-Publicado Libro de Resúmenes.
- **Carrica A**, Unamuno V, Galíndez F, Don J, Barra JL, Secchi G, Brunotto M, Zarate AM. Estudio preliminar de polimorfismos CYP1A1 y GSTM1 en desórdenes potencialmente malignos y cánceres orales en adultos fumadores. 50° Reunión de la Sociedad Argentina de Investigación Odontológica. San Nicolás. Buenos Aires. Noviembre **2017**-Publicado Libro de Resúmenes.
-

Proyectos de Investigación y Financiamiento

1. **Integrante (como miembro investigador) del Proyecto** PICT 2016. Monto \$850.000 duración 3 (2018- 2021).Directora: Dra. Mabel Brunotto.
2. **Integrante P**proyecto de Investigación “A”: Análisis genotípico y fenotípico de citologías exfoliativas para la predicción de cáncer bucal: estudios de polimorfismos y cambios epigenéticos. Facultad de Odontología UNC. Subsidiado por SECyT. (Res.202/16). **Año 2016-2017**. Director: Dra. Ana María Zarate.
3. **Integrante (como responsable) P**proyecto de investigación CONSOLIDAR 3: Análisis genotípico y fenotípico de citologías exfoliativas para la predicción de cáncer bucal: polimorfismos de riesgo relacionados a la inflamación y hábito de fumar. Facultad de Odontología UNC. Subsidiado por SECyT. (Res.411/18). Director: Dra. Ana María Zarate.
4. **Integrante (como miembro investigador) del PROGRAMA:** Estudio de biomarcadores de tumorigénesis y su regulación por ácidos grasos dietarios. SECYT-UNC. Subsidiado. Res SECYT-UNC 411/18 y 455/18.**2018-2019**.
5. **Integrante (como responsable)** Período 01/2020 al 12/2021; Proyecto tipo “A” Análisis genotípico y fenotípico de citologías exfoliativas para la predicción de cáncer bucal: estudios de polimorfismos y cambios epigenéticos. Res. SECyT N° 202/16.

ANEXO 1: CONSENTIMIENTO INFORMADO

INFORMACION Y FORMULARIO DE CONSENTIMIENTO PARA EL PACIENTE DEL ESTUDIO

Título del Estudio: **POLIMORFISMOS GENÉTICOS COMO FACTORES DE RIESGO EN PACIENTES CON DESÓRDENES POTENCIALMENTE MALIGNOS Y CÁNCER ORAL.**

Investigadores responsables del estudio:

Dra. Ana María Zarate, Dr. Eduardo Piemonte, Od. Victoriano Andrés Carrica.

Números de teléfono: 351-155552639; 351-156740744; 351-156178071.

Se lo invita a participar de un estudio de investigación. Este formulario describe el estudio para ayudarlo a que decida si desea participar. Antes de decidir si desea participar en el estudio, es importante que entienda por qué se realiza la investigación, cómo se utilizará la información sobre usted, los posibles beneficios, riesgos e inconvenientes que implica. Lea atentamente la información de este cuestionario; también puede leer la información disponible en el Ministerio de Salud (INFORMACIÓN PARA LA PERSONA QUE HA SIDO INVITADA A PARTICIPAR EN UNA INVESTIGACIÓN).

Disponible en el sitio web: <http://www.cba.gov.ar/vercanal.jsp?idCanal=65473>.

O bien solicitar leer el protocolo de investigación y los datos de los profesionales involucrados en el estudio.

¿CUALES SON LOS ANTECEDENTES Y EL OBJETIVO DEL ESTUDIO? Se solicita que participe en este estudio porque presenta síntomas que presumen que tiene una enfermedad que es crónica y compleja. Estas enfermedades tienen compromiso de muchas variables: clínicas, bioquímicas y socio culturales; y en ocasiones no permiten un diagnóstico temprano y/o preciso. El objetivo de este estudio es recabar información que permita establecer el conjunto de variables que pueden diagnosticar con mayor exactitud o tempranamente la enfermedad; y permitir que se establezcan las pautas adecuadas de tratamiento (protocolos de atención), que conduzcan a mejorar la calidad de vida de los pacientes afectados por estas patologías.

Este estudio **no está relacionado directamente, ni afecta, al tratamiento o diagnóstico que haga su médico u odontólogo**, sólo recogerá material biológico mediante técnicas indoloras por cepillado; datos clínicos médicos u odontológicos (por examen y ficha clínica recabados por el médico u odontólogo) y datos sobre hábitos o factores considerados de riesgo (mediante encuesta). Las muestras biológicas serán almacenadas en condiciones adecuadas hasta su procesamiento, el tiempo que se estima es de un año aproximadamente. Los resultados de las muestras pueden ser utilizados con fines educativos para capacitar a otros profesionales en la identificación temprana de signos y síntomas de las patologías bajo estudio. A los efectos de promocionar el beneficio directo o indirecto de participar en una investigación, en el caso que durante la recopilación de los datos se advirtiera de una enfermedad severa, se le pondrá en conocimiento, salvo que expresamente indique que prefiere no conocer acerca de ello.

En el caso en que, durante el transcurso de la investigación, se detecten enfermedades graves, relacionadas al campo en estudio, Ud. será debidamente notificado y la atención médica y los estudios para diagnóstico serán gratuitos, ya que se encuentran incluidos dentro de los protocolos de diagnóstico de la Cátedra de Estomatología "A".

Es importante que Ud. tenga conocimiento que este Trabajo de Investigación cuenta con un seguro SMG Póliza n°: 424930-0.

¿CÓMO SE USARÁN MIS DATOS PERSONALES?

Al firmar este formulario de consentimiento informado, usted autoriza al médico del estudio y al personal del estudio a recolectar y utilizar su información personal. La confidencialidad de los archivos en los que se identifique al participante será resguardada, asignándole un N° a cada historia clínica y encuesta y a los datos del participante (“código”), eliminando nombres y direcciones. El responsable del estudio o cualquier persona asignada por éste tendrá control de acceso al código, el cual es necesario para relacionar los datos del estudio con UD. Si se le presenta alguna duda en relación al estudio en el que consiente participar UD puede comunicarse con:

Od. Victoriano Andrés Carrica – Cátedra de Estomatología “A”. Facultad de Odontología UNC Hayas de la Torre SN. Ciudad Universitaria. Tel: 0351- 4271804.

DECLARACIÓN DE CONSENTIMIENTO Y AUTORIZACIÓN DEL PACIENTE

He recibido información verbal acerca del estudio mencionado y he leído la información adjunta. He tenido la posibilidad de hablar acerca del estudio y hacer preguntas. Doy mi consentimiento voluntario para participar en el estudio. Acepto voluntariamente permitir que el personal del estudio recopile, use y comparta mis datos de salud según se especifica en este formulario y autorizar el acceso por parte de cualquier persona designada por el responsable de este estudio. Comprendo que yo o mi representante legal, si corresponde, recibiremos un original firmado y fechado de esta información y este formulario de consentimiento y de cualquier otra información que se me proporcione. Al firmar este formulario, no renuncio a ninguno de mis derechos como participante de la investigación. El participante es libre de negarse a participar, o tendrá la libertad de retirarse de la investigación en cualquier momento.

Firma del paciente ó Firma del padre/madre/tutor legal (si el paciente es menor de edad) Fecha y Hora de la firma

---- Nombre del paciente con letra de imprenta (manuscrito) ó nombre del padre/madre/tutor legal (Si el paciente es menor de edad)

----- DNI del paciente o del padre/madre/tutor legal (Si el paciente es menor de edad)

Certifico que el participante mencionado anteriormente tuvo suficiente tiempo para considerar esta información, tuvo oportunidad de hacer preguntas y aceptó, voluntariamente, participar en este estudio.

Firma del investigador o persona delegada que lleva a cabo el proceso de consentimiento informado

Nombre del investigador o persona delegada que lleva a cabo el consentimiento informado con letra de imprenta (manuscrito) DNI y número de matrícula del investigador o persona delegada que lleva a cabo el consentimiento informado

Según la disposición 06/2008 emitida por la Dirección Nacional de Protección de Datos Personales (DNPDP), usted podría ser contactado para dar información sobre el proceso de consentimiento informado.

Firma del testigo imparcial paciente ó Firma del padre/madre/tutor legal
firma

Fecha y Hora de la
firma

----- Nombre del testigo imparcial (si corresponde) DNI y domicilio del testigo (si
corresponde)

ANEXO 2: Historia Clínica para registro de variables

Título: Polimorfismos Genéticos Como Factores De Riesgo En Pacientes Con Desordenes Potencialmente Malignos Y Cáncer Bucal

Doctorando: Od. Carrica Victoriano Andrés–**Directora:** Prof. Dra. Ana Zárate

FACULTAD DE ODONTOLOGIA–U.N.C.

Apellido			Nombres		
DNI Tipo		N°:	Edad:	Sexo: M F	Raza:
Fecha y lugar de nacimiento:					
Domicilio				Barrio:	
Localidad			Cod. Post.:	Tel:	
Ocupación actual:					
Atendido por:	Docente:		Alumno:		
Fecha 1ª consulta:	/	/	Comisión:		
Derivado por:			Especialidad:	Edad:	

Motivo de la consulta:
Antecedentes de la enfermedad actual
Primer síntoma ¿Cuál? ¿Cuándo? ¿Dónde?
¿Cuándo se dio cuenta que no era normal lo que sentía?
¿Cuándo decidió consultar? ¿A quién?
¿Cuándo hizo la primera consulta?
Consultas y tratamientos previos:
Evolución: (especificar tiempo)

Tiempo de evolución:					
Antecedentes personales					
Altura:	m	Peso:	kg.	Índice de masa corporal(IMC): (peso/altura ²)	
Actividades laborales: (indagar características ambientales y exposición a sustancias tóxicas, y duración)					
Localidades en donde vivió:				Zona arsenical: SI NO	
Consumía agua de pozo SI NO A través de alimentos				Tiempo	
Exposición solar SI NO			Motivo:		¿Cuánto tiempo?:
Embarazo		Mes		Menopausia	Anticonceptivos orales
Menstruación regular SI NO		Fecha última menstruación		Amenorrea(duración)	Metrorragia(duración)
Actualmente sufre alguna enfermedad				¿Cuál?	
Toma o ha tomado medicamentos en el último mes				¿Cuáles? (Monodroga, dosis diaria)	
Se agita al caminar SI NO			Se le hinchan las piernas SI NO		
Se resfría con frecuencia SI NO			Duerme bien SI NO		
Enfermedades de transmisión sexual:				HIV SI NO	
Enfermedades por hongos:					
Diabetes compensada:			Diabetes descompensada:		Tipo:
Presión arterial		Normal	Híper	Hipo	Valores habituales
Alergia		Medicamentos	Anestésicos	Alimentos	Otros:
Asma		Artritis reumatoidea		Anemia	Fiebre reumática
Tratamiento Psicológico / Psiquiátrico				Con / sin medicación	
Alteraciones inmunológicas				Inmunosupresión	
Alteraciones hepáticas y vesiculares:					
Gastritis o úlcera gástrica:					
Patología cardiovascular:					
Intervenciones quirúrgicas					
Fecha de las mismas					
Cáncer SI NO			¿Cuál?		

Nutrición						
Alimento	Veces por semana		Alimento	Veces por semana		
Carnes rojas			Pollo			
Frituras			Pescado			
Embutidos(tipo)			Pastas			
Fiambres(tipo)			Guisos			
Copetín			Verduras de hoja			
Envasados (picadillo, hamburguesas, salchichas)			Hortalizas			
Panificación con grasa			Frutas cítricas			
Gaseosas			Frutas no cítricas			
Azúcar			Lácteos			
Coloración amarillenta en :paladar otro sitio			No	Moderada	Intensa	
¿Toma vitaminas? SI NO ¿Cuáles? ¿Cuánto?						
porciones semanales de vegetales y/o frutas crudos y/o cocidos						
porciones semanales de alimentos fritos, asado y/o conservados en sal						
Tabaco						
¿Fuma? SI NO			¿Ha fumado? SI NO			
Cigarrillos rubios	Cigarrillos negros	Con filtro	Sin filtro	Armados	Cigarros	Pipa
¿A qué edad comenzó a fumar?						
¿Cuántos años fumó?			¿Interrumpió en algún período?			
Período						
Promedio diario						
Estimación parcial						
Total de cigarrillos fumados (estimación):						
¿Dónde apoya el cigarrillo?			¿Lo deja apoyado permanentemente? SI NO			
¿Dónde fuma?	Casa	Trabajo	Otros espacios cerrados		Espacios abiertos	
Al despertarse, ¿cuánto tarda en fumar el primer cigarrillo del día?:						
¿Vive o ha vivido con un fumador?			SI	NO	¿Cuánto tiempo?(h/d/a)	

Exposición pre-natal:				SI	NO	Exposición en infancia:				SI	NO				
¿Trabaja o ha trabajado con un fumador?				SI	NO	¿Cuánto tiempo? (h/d/a)									
Alcohol															
¿Acompaña las comidas con Toma bebidas alcohólicas?						SI	NO	A veces							
¿A qué edad comenzó?						¿Durante cuántos años?									
Tipo de bebida		Período		Cantidad con comidas			Cantidad entre comidas			Total semanal					
Vino															
Cerveza															
Otras:															
Tipo de alcoholista:				¿Se cepilla los dientes después de tomar ?SI NO A veces											
Candidiasis															
Infección por cándida		SINO		Aguda		Crónica		Atrófica		Vegetante					
Relacionada a prótesis				SI	NO	Localización:									
HPV															
¿Tiene o ha tenido verrugas?				SI	¿Dónde?										
NO															
Sospecha clínica de infección por HPV				SI	Especificar:										
NO															
Control ginecológico				SI	NO	Fecha:		Papanicolaou					SI	NO	Fecha
Consumo de drogas															
¿Cuál?						¿Fuma marihuana?						SI	NO		
18	17	16	15	14	13	12	11	21	22	23	24	25	26	27	28
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
48	47	46	45	44	43	42	41	31	32	33	34	35	36	37	38

Referencias del odontograma:

Color rojo: realizado	Color azul: a realizar	X: diente ausente o a extraer	
S: supuración periodontal y/o periapical		A: amalgama	R: resinas
MP: metal y porcelana	P: porcelana	M: metal	MA: metal y acrílico
○ : Prótesis Fija	□ : Prótesis removible	DD: Diente defectuoso (especificar causa)	

Sepsis bucal			
	Superior	Inferior	Total
N° de dientes			
Promedio de índice de placa			
Promedio de índice de tártaro			
Índice de placa en lengua		0: sin placa; 1: parece limpia pero sale placa; 2: placa visible; 3: abundante placa	
Índice de placa en prótesis superior			
Índice de placa en prótesis inferior			
Recibió tratamiento periodontal en los últimos diez años		SI	NO
Frecuencia de cepillado por día		Momento	
Fecha de última consulta odontológica			
N° de consultas en el último año:	En los últimos 10 años:	Promedio:	
¿Cómo y cuándo higieniza la prótesis?			
¿Le dijeron como higienizar la prótesis?	SI NO	¿Quién?	
¿Saca la prótesis para dormir?	SI NO	A veces	
¿Le dijeron si debía?	Sacarse la prótesis	Dejarse la prótesis puesta	Nada
¿Por qué no la saca?			
Xerostomía (sensación de boca seca)		SI	NO
Factores traumáticos	Especificar factor y tiempo de aparición del mismo		
Diente No.			
Sitio de lesión mucosa			
Diente en posición normal			en relación a la base ósea

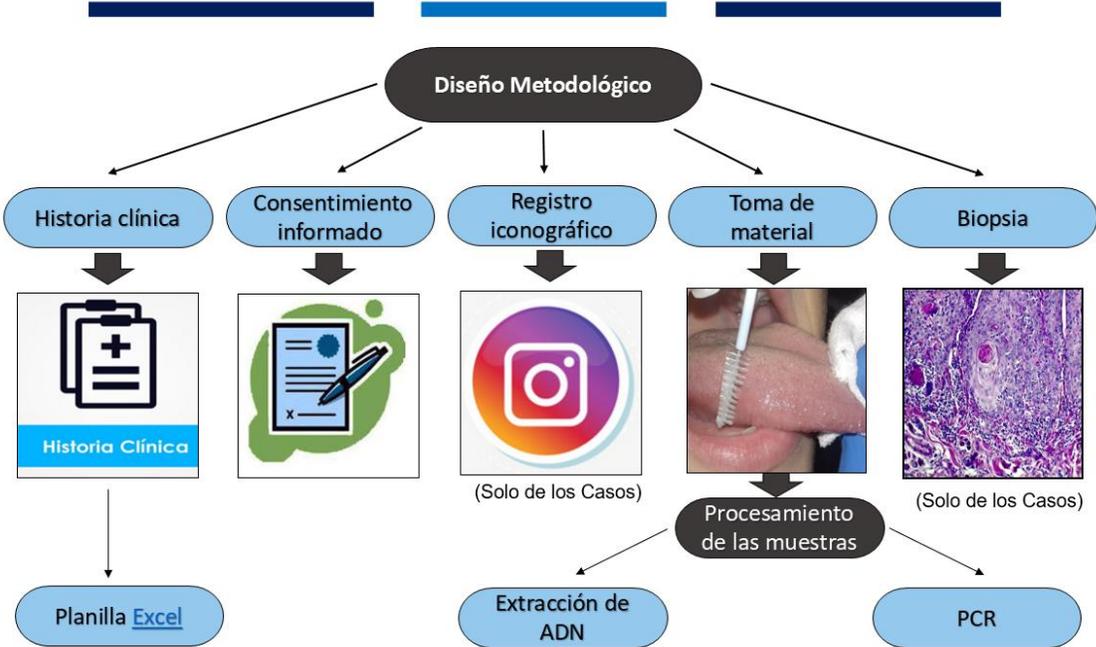
Diente aislado							no rehabilitado ni con espacios cerrado SI/NO
Diente distal							SI/NO
Diastemas (mm)							anotar en diente distal al diastema
Diente en mal posición							Indicar V, L/P, M, D; O/I
Resalte (mm)							en anteriores y posteriores
Entrecruzamiento (mm)							
Mordida abierta (mm)							
Mordida cruzada							
Borde a borde							
Atresia maxilar							SI/NO
Macroglosia							SI/NO
Movilidad periodontal Grado							Grados 0,1,2,3
Cúsp Aguda o Redondeada							
VM							A: aguda, R: redondeada
VD							
LPM							
LPD							
Diente c/destrucción parcial							
por Caries o Fractura							C o F
Altura en tercios G/M/O							
ángulo (a-r-o)							a: agudo, r: recto, o: obtuso
tiempo							años/meses/días
Obturación/Incrustación							Indicar V, L/P, M, D; O/I
Sobre/Subobturada							↑: sobreobturada; ↓: subobturada
Rugosidad							SI/NO

Material							Metal colado: M, amalgama: A, composite: C, ionómero: I
Coronas/Puentes							
							A: acrílico; M: Metal; P: Porcelana pura; PM: Porcelana y metal; AM: Acrílico y metal
Rugosidad							SI/NO
Tiempo							años/meses/días
Dientes fracturados o filosos	SI	NO					Especificar y describir factor
Dientes en mal posición	SI	NO					
Obturaciones rugosas o filosas	SI	NO					
Diastemas	SI	NO					
Prótesis removible	Sup			Inf			
Sitio de lesión mucosa							con siglas
Completa o Parcial							Completa: C, Parcial: P
							CC: Cromo Cobalto, A: Acrílico, P: Poliamida
Odont/ Téc							Odontólogo: O, Técnico: T
Ultimo control							años/meses/días
Tiempo de uso							años/meses/días
Hist. Trauma	SI		NO	SI		NO	Si: Pérdida de sustancia por más de un mes
Adaptación	SI	Reg	NO	SI	Reg	NO	Reg: desadaptación parcial
Estabilidad	SI	Reg	NO	SI	Reg	NO	Reg: balance en plano transversal o sagital (uno solo), No: en los dos
Retención	SI	Reg	NO	SI	Reg	NO	Si: no se mueve nunca; Reg: al comer; No: en cualquier momento
Sobrextensión	SI	Reg	NO	SI	Reg	NO	Si: en varios sectores, Reg: en un sector
Rugosidad de base	SI	Reg	NO	SI	Reg	NO	Si: en toda la base, Reg: en un sector parcial

Rugosidad de frente	SI	Reg	NO	SI	Reg	NO	Si: en todo el flanco, Reg: en un sector parcial
Retenedor traumatizante							
sitio de lesión mucosa							
diente No.							
Colado o Forjado							Colado: C, Forjado: F
en cara							V, L/P
hacia							M, D
diseño							
altura tercio G-M-O							diente ausente: tomar referencia de vecinos
Separación del diente mm.							
tiempo sin diente							años/meses/días
Ortodoncia							Especificar dispositivo
Sitio de lesión mucosa							
Fija o removible							
Bracket simple							
Bracket con botón							
Alambre de ligadura							
Arco de alambre							
Ansas							
Arco o barra lingual							
Arco o barra transpalatina							
Otro:.....							
Distancia diente-dispositivo							perpendicular cara libre hasta punto más alejado del diente
Tiempo							años/meses/días
Piercing							Especificar dispositivo
sitio de colocación							

dispositivo							
tiempo							años/meses/días
Hábitos							Especificar ubicación
Mordisqueamiento yugal	SI	NO					
Mordisqueamiento labial	SI	NO					
Mordisqueamiento lingual	SI	NO					
Introducción de cuerpo extraño	SI	NO					
Deglución atípica disfuncional	SI	NO					
Succión	SI	NO					
Bruxismo	SI	NO					
Respiración bucal	SI	NO					
Indentaciones	SI	NO					
Otros							
Calor							
Bebidas calientes	Mate		Café		Té		
Cantidad por día							tazas, termos o pavas
Muy Caliente, Caliente, Tibio							
Bombilla de Metal o Caña							
Comparte el mate	SI		NO				
Comidas calientes	SI		NO				

ANEXO 3: Diseño Metodológico



CONFECCIÓN DE HISTORIA CLÍNICA

Se le realizó historia clínica a todos los grupos de bajo estudio.

FIRMA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

ANEXO 1: CONSENTIMIENTO INFORMADO

INFORMACION Y FORMULARIO DE CONSENTIMIENTO PARA EL PACIENTE DEL ESTUDIO

Título del Estudio: POLIMORFISMOS GENÉTICOS COMO FACTORES DE RIESGO EN FACIENES CON DERMOTENOS POTENCIALMENTE MALIGNOS Y CÁNCER ORAL.

Investigador responsable del estudio:
 Dr. Victoriano Andrés Carrea
 Número de teléfono: 351-55178071.

Se le invita a participar de un estudio de investigación. Este formulario describe el estudio para estudiar si que decide cómo participar. Antes de decidir si desea participar en el estudio, es importante que entienda por qué se realiza la investigación, cómo se utilizará la información sobre usted, los posibles beneficios, riesgos e inconvenientes que implica. Las preguntas de información de esta información, también puede leer la información disponible en el Documento de Información PARA LA PERSONA QUE HA SIDO INVITADA A PARTICIPAR EN UNA INVESTIGACIÓN.

Disponible en el sitio web: <http://www.uba.gov.ar/centros/instituto/ica/ica.html#6473>

O si tiene cualquier duda de la información y los datos de los profesionales involucrados en el estudio.

¿TALES SON LOS ANTECEDENTES Y EL OBJETIVO DEL ESTUDIO? Se solicita que participe en este estudio porque presenta síntomas que sugieren que tiene una enfermedad que es crónica y compleja. Estas enfermedades tienen componentes de muchas variables: físicas, biológicas y socio-culturales, y en ocasiones no permiten un diagnóstico temprano y/o preciso. El objetivo de este estudio es recabar información que permita establecer el conjunto de variables que pueden diagnosticar una mayor exactitud e tempranamente la enfermedad, y permitir que se establezcan las pautas adecuadas de tratamiento (prescripción de medicación, que cambian a lo largo de la vida de los pacientes afectados por esta patología).

Este estudio no está relacionado directamente, ni alérgico, ni toxicológico o diagnóstico que haga su salud o bienestar, sino que se trata de un estudio biológico mediante técnicas moleculares por ejemplo, datos clínicos médicos o diagnósticos que se manejan a falta de datos suficientes en el ámbito de diagnóstico y datos sobre hábitos o factores ambientales de riesgo (condición ambiental). Los resultados biológicos serán almacenados en un archivo electrónico hasta su procesamiento, el tiempo que se centre en el de los datos epidemiológicos. Los resultados de los mismos pueden ser utilizados con fines educativos para enseñar a otros profesionales en la identificación temprana de signos y síntomas de las patologías que estudia. El objetivo de proporcionar el beneficio directo a quienes desean participar en una investigación, es el caso que durante la recopilación de los datos, se advierten de un diagnóstico precoz, se le puede un consentimiento, antes que expresamente educar que prefera su conocimiento de ello.

En caso, que durante el transcurso de la investigación, se detecte enfermedad grave, relacionada al campo de estudio. Se está debidamente informado y la aprobación y los estudios para diagnosticar más pronto, ya que se encuentran incluidos dentro de los protocolos de diagnóstico de la Clínica de Enfermedades "A".

Es importante que Ud. tenga conocimiento que este Trabajo de Investigación cuenta con un seguro San. Ciudad Póliza N° 11-0310153.

Página 19

Señala el médico del estudio y el investigador de los estudios en la historia clínica y en el momento de la entrevista y en los períodos de estudio y recopilar los datos del consentimiento informado (CI) para el estudio.

Dr. Victoriano Andrés Carrea
 "A" Facultad de Odontología

Fecha y hora de la firma: _____

Firma del responsable: _____

Firma del paciente: _____

Se tiempo para considerar esta información, participar en este estudio.

Señala el médico del estudio y el investigador de los estudios en la historia clínica y en el momento de la entrevista y en los períodos de estudio y recopilar los datos del consentimiento informado (CI) para el estudio.

Dr. Victoriano Andrés Carrea
 "A" Facultad de Odontología

Fecha y hora de la firma: _____

Firma del responsable: _____

Firma del paciente: _____

Se tiempo para considerar esta información, participar en este estudio.

Señala el médico del estudio y el investigador de los estudios en la historia clínica y en el momento de la entrevista y en los períodos de estudio y recopilar los datos del consentimiento informado (CI) para el estudio.

Dr. Victoriano Andrés Carrea
 "A" Facultad de Odontología

Fecha y hora de la firma: _____

Firma del responsable: _____

Firma del paciente: _____

Se tiempo para considerar esta información, participar en este estudio.

Página 20

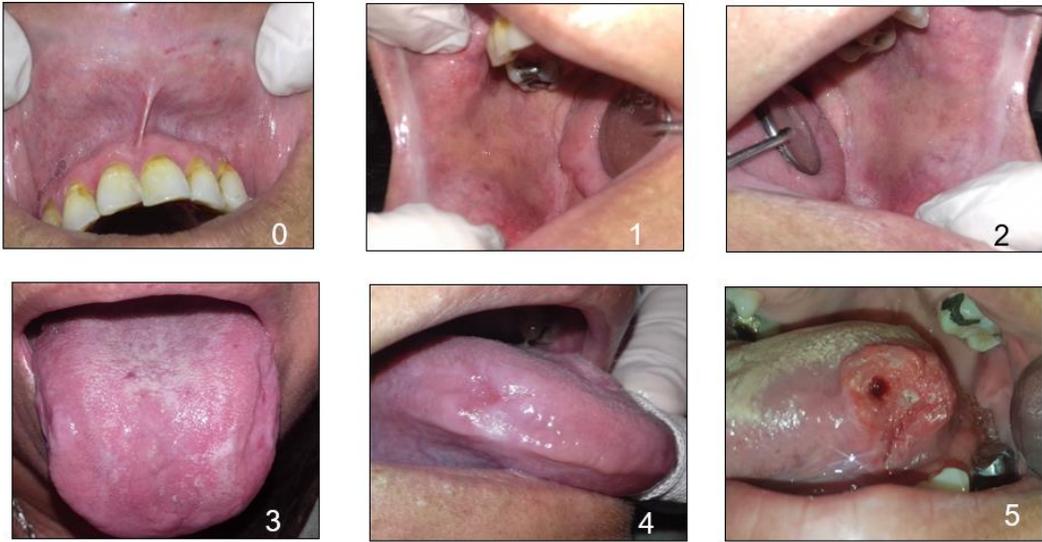
Se le realizó la firma del consentimiento informado a todos los grupos de estudio.

ORGANIZACIÓN DE LOS DATOS EN PLANILLAS EXCEL

A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	
1	Nro.	Columna1	Apellido y Nombre	DNI	Sexo	Edad	Edad Cat	Genero	Peso	Altura	IMC	IMC Cat
2	200	Co	Liendo Arminda	6.242.778	F	60	0	1	78	1,6	30,4687578	1
3	201	DOPM	Contreras María Estela	5.693.886	F	61	0	1	69	1,68	24,44727891	0
4	202	CO	Peralta Clara Rosa	7.302.596	F	83	1	1				
5	203	DOPM	Moreno Luisa	7.378.107	F	82	1	1				
6	204	DOPM	Caro Lucía del Carmen	13.680.637	F	54	0	1				
7	205	Candidiasis	Fatala Lilia Mónica	17.012.265	F	47	0	1	86	1,7	29,75778546	1
8	206	DOPM	López Silvia	14.099.476	F	49	0	1				
9	207	DOPM	Arocas Elba	7.147.580	F	81	1	1				
10	208	CEC	Roldán Julio	7.997.344	M	65	1	0	101,2	1,75	35,01730103	1
11	209	CEC	Montano Luisa Elena	5.455.183	F	64	0	1	114	1,64	42,38548483	1
12	211	CEC	Cuello Victor Hugo	11.922.511	M	55	0	0				
13	212											
14	213	CEC	Ana María Moro	4.887.228	F	66	1	1	53,5	1,62	20,38561194	0
15	215	Adenoma p	Llanos Genoveva	11.052.104	F	58	0	1	72	1,69	25,20037808	0
16	217	DOPM	Chaves Lidia	12.331.782	F	53	0	1	83	1,58	33,24787694	1
17	219	DOPM	Soria Rosa	12.288.304	F	57	0	1	60	1,63	23,43751224	0
18	221	Pseudop	Sandoval Sara Carmen	27.314.277	F	32	0	1				
19	223	DOPM	Bas Carlos Ignacio	22.314.333	M	41	0	0	73	1,71	25,25951557	0
20	225	CEC	Mercado Sergio	23.416.167	M	39	0	1	102,3	1,79	31,83421241	1

Se le realizó registro de datos en todos los grupos de estudio en planillas Excel.

REGISTRO ICONOGRÁFICO



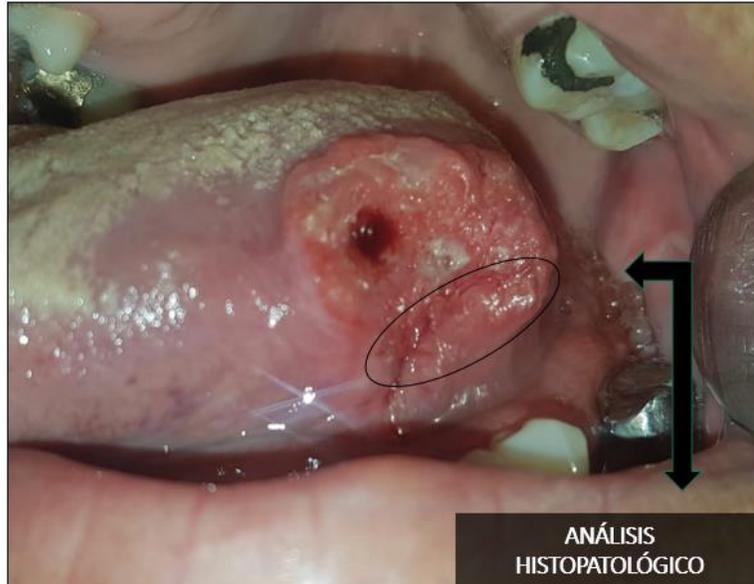
Se le realizó registro iconográfico solo a los grupos de DPM y CB.

TOMA DE MATERIAL



Se realizó citología exfoliativa de mucosa clínicamente sana en todos los pacientes, para estudios genéticos.

BIOPSIA Y PROCESAMIENTO DE LAS MUESTRAS



Se realizó biopsia incisional, bajo anestesia local de todos los pacientes que presentaron lesiones con sospecha clínica de DPM y CB.

RESULTADO DE LA BIOPSIA 05-10-16

Microscopía: Los preparados histológicos muestran secciones de una proliferación de células neoplásicas epiteliales atípicas, con hiperchromatismo nuclear, figuras de mitosis atípicas y queratinización con formación de perlas córneas.

La neoplasia exhibe áreas ulceradas e infiltra el corion subyacente

Diagnóstico: **CARCINOMA DE CÉLULAS ESCAMOSAS INVASOR, DE TIPO DIFERENCIADO.**

RESULTADO DE HISTOPATOLÓGICO DE LA PIEZA QUIRÚRGICA

MICROSCOPIA:

Las muestras de "tumor de mandíbula" remitidas corresponden a una proliferación de células neoplásicas de estirpe epitelial, dispuestas en nidos y cordones sólidos que infiltran la estroma. Presentan extensos signos de queratinización citoplasmática, con formación de "perlas córneas". El material identificado como "lesión de mucosa yugal" presenta signos de ulceración y carcinoma in situ.

Las muestras de "hueso mandibular" presentan focos de invasión tumoral y el material de "ampliación de margen óseo" se halla indemne.

Uno de los cuatro ganglios linfáticos aislados del "nivel 1" presenta compromiso metastásico.

Los dieciséis ganglios linfáticos aislados de los "niveles 2 y 3" se hallan libres de metástasis.

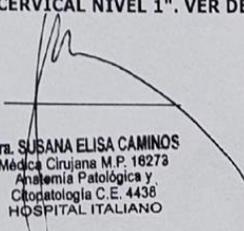
Diagnóstico

CARCINOMA EPIDERMÓIDE BIEN QUERATINIZADO

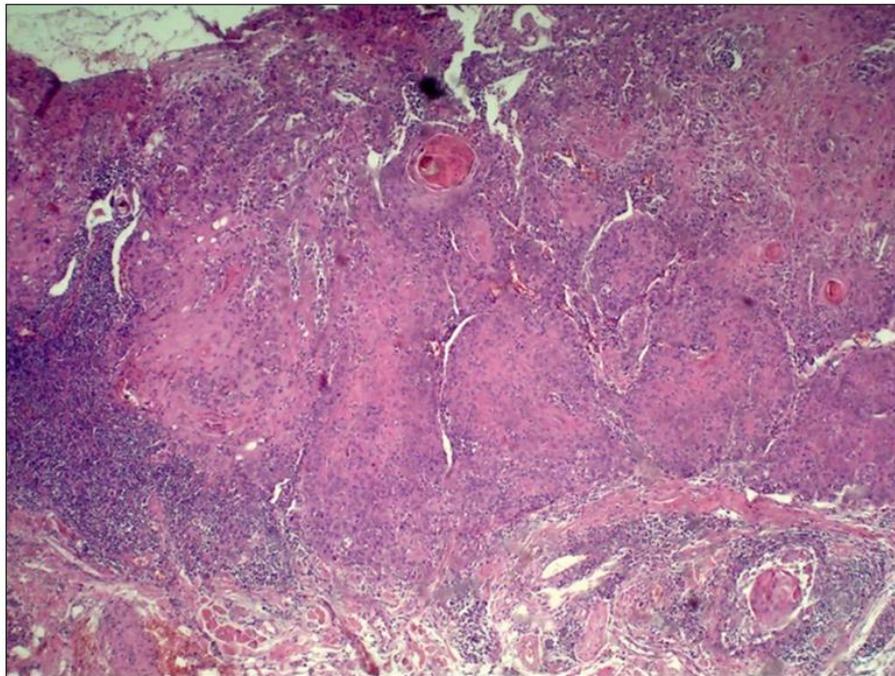
INVASOR Y ULCERADO ("MUCOSA YUGAL" Y "MANDÍBULA"). MARGENES DE RESECCION NO VALORABLES CON CERTEZA, DADA LA FRAGMENTACION DEL MATERIAL.

METASTASIS EN UN GANGLIO LINFÁTICO DEL "VACIAMIENTO CERVICAL NIVEL 1". VER DESCRIPCION EN EL TEXTO.

Córdoba, 27 de enero de 2017


Dr. SUSANA ELISA CAMINOS
Médica Cirujana M.P. 16273
Anatomía Patológica y
Citopatología C.E. 4436
HOSPITAL ITALIANO

ESTUDIO HISTOPATOLÓGICO



RESULTADO DEL ESTUDIO GENÉTICO

AG	AH	AI	AJ	AK	AL	AM	AN
Protesis removible desadadada	TP53P	TP53G	TP53 GENOT	XPD	C1PY1	GSTM1	Falta
0	1	1	GC	AC		no null	ento
0	0	1	GG	AA			
1		0	GC	AC			
1	1	1	GC	AC		null	informe hp
0	1	1	GC	AC		no null	
	0	1	GG	CC			
1	1	1	GC	AC		no null	
0	1	0	CC	AC		no null	informe hp
0		0	GC	AC			
0							
0	1	1	GC	CC		no null	informe hp
0							
0	1	1	GC	CC	CC	null	
0							
0	1	1	GC				
	0	1	GG	AA			
1	0	1	GG			null	
	1	1	GC	AC		null	
0		0		AA			informe hp
0	1	1	GC	AC		null	informe hp
0	1	0	CC	CC		null	informe hp

Se le realizó el estudio genético a todos los grupos de estudio.

ANEXO 4:

Córdoba, 10 de Noviembre de 2020

Sra. Prof. Dra. María Elsa de Ferraris

Directora de la Carrera de Doctorado en Odontología

Escuela de Posgrado

Facultad de Odontología-UNC

S. _____ / _____ D.

Me dirijo a UD a fin de comunicarle que he leído y apruebo el borrador de tesis del Od.
Victoriano Andrés Carrica.

Sin otro particular le saludo a UD atentamente



Prof. Dra. Ana María Zarate

Directora de la tesis