



Universidad
Nacional
de Córdoba



UNIVERSIDAD NACIONAL DE CÓRDOBA

FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

ESCUELA DE POSGRADO

**“EVALUACIÓN DE MARCADORES GENÉTICOS
ASOCIADOS A CÁNCER ORAL PARA LA PREDICCIÓN DE
RIESGO”**

TESISTA:

OD. MARÍA FERNANDA GALÍNDEZ COSTA

DIRECTOR:

PROF. DRA. MABEL N. BRUNOTTO

CÓRDOBA, 2021



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



Universidad Nacional de Córdoba
Facultad de Odontología
Escuela de Posgrado de la Facultad de Odontología

Trabajo de tesis para optar al título de Doctor en Odontología

**EVALUACIÓN DE MARCADORES GENÉTICOS
ASOCIADOS A CÁNCER ORAL PARA LA PREDICCIÓN
DE RIESGO**

Od. María Fernanda Galíndez Costa

Director: Prof. Dra. Mabel N Brunotto

Co-Director: Prof. Dr. José Luis Barra

Año 2021

Comisión de Seguimiento de tesis (Res HCD 239/2017)

Prof. Dr. Rene Pánico (Prof. Titular - Cát. Estomatología - Fac. de Odontología UNC)

Prof. Dr. Luis Spitale (Prof. Titular - II Cát. de Patología- Fac. de Cs. Médicas UNC)

Jurado de Tesis (Res HCD 393/2019)

Prof. Dr. Rene Pánico (Fac. de Odontología UNC)

Prof. Dr. Luis Spitale (Fac. de Cs. Médicas UNC)

Prof. Dra. María Mercedes González (Universidad del Nordeste)

*A mi mamá
A mi familia
A mi esposo Santiago
A mis dos hijos
A mis maestros de la vida y de la estomatología
Con el corazón abierto para devolverles todo lo que la vida me regale*

*“Reza como si todo dependiera de Dios, trabaja como si todo dependiera de ti”
San Agustín.*

AGRADECIMIENTOS

“Mientras haya voluntad de luchar, habrá esperanza de vencer”

San Agustín.

Muchas veces la vida nos pone a prueba y nos regala momentos inolvidables que hacen a nuestro ser, en esta hoja quiero dejar plasmado mis más profundos agradecimientos a todas las personas que me ayudaron a transitar este camino de la vida, que me apoyaron y que no perdieron la fe en mí.

- A mi directora de tesis Mabel Brunotto, quien no solo me guió y acompañó en este trabajo, sino que también supo enseñarme desde el corazón.
- Al Dr. Prof. José Luis Barra, quien estuvo presente incondicionalmente con sus conocimientos y aportes.
- Al Dr. Prof. Victoriano Carrica, que confió en mí desde mis primeros pasos en la estomatología.
- Al Dr. Prof. Héctor Lanfranchi, quien sembró un amor especial por esta especialidad y la forma de dar en la vida.
- Al Dr. Prof. René Panico, por su orientación y acompañamiento en estos años de trabajo.
- A la Dra. Ana Zarate, que estuvo siempre pendiente de ayudar con sus conocimientos y cariño.
- A mis guías como docentes Dr. Dante Secchi y Dr. Eduardo Piemonte, por su apoyo en este proyecto y por compartir sus conocimientos que enriquecieron a este trabajo y a mi persona.
- A mis grandes e incondicionales amigos y colegas Dr. Gerardo Gilligan y Andrés Carrica, con los que compartí la mayoría de mis logros y fracasos con los que conté siempre, incondicionalmente y por los cuales siento una profunda admiración.
- A mis compañeros de la Cátedra de Estomatología “A”, Dr. Jerónimo Lazos, Od. Lorena Moine, Od. Ángel Talavera, Dra. Evelin Bachmeier y Dr. Ricardo Caciva con los que comparto esta gran pasión.
- A los docentes y agregados de la Cátedra de Biología “A”, que siempre me acompañaron con su aprecio y colaboraron para que el trabajo sea mejor.
- A mis colegas de la Cátedra de Estomatología “B” que están dispuestos siempre a ayudar.
- A mi familia que incondicionalmente me apoya en mis proyectos.

- A mi esposo Santiago Romero que es mi soporte, mi compañero, mi cómplice
- A mis hijos que me dan el valor para seguir adelante.
- A mis amigos Virginia Chamale, Marisol Díaz, Eugenia Rodríguez Marco, Lucía Camara, quienes me sostuvieron en los sufrimientos y compartieron mis alergias.
- A mis pacientes que confiaron en mí y se embarcaron en este proyecto.
- A la Facultad de Odontología de la UNC que es mi casa de estudio y por la cual grado un cariño muy especial.
- A mis alumnos, que son el futuro y de los cuales podemos aprender cosas maravillosas.
- A toda aquella persona que pasó por mi vida durante este proyecto y me tendió una mano de ayuda.

Certificado del Comité de Ética

Gobierno de Córdoba
Ministerio de Salud
Hospital Psiquiátrico del Niño Jesús
Calle Barro 600 - (5000) CORDOBA
Tel.- Fax. 0331-434000

Gobierno de Córdoba
Ministerio de Salud
Hospital Psiquiátrico del Niño Jesús
Calle Barro 600 - (5000) CORDOBA
Tel.- Fax. 0331-434000

Córdoba, 26 de Enero de 2006

Córdoba, 26 de Enero de 2007


Sra. Investigadora Principal
Dra. Mabel Brunotto
S.....D

Por la presente le informamos que hemos leído y aprobado con recomendación sobre el Consentimiento Informado del estudio clínico: "Método estadístico para el diagnóstico temprano de enfermedades de origen multifactorial"

- Protocolo en castellano, Versión N°1
- Brochure del Investigador, en Inglés.
- Consentimiento Informado Versión 1
- Información para el paciente, Versión 1

Sin otro particular, saludamos a Ud. atentamente.

FIRMA POR EL COMITÉ DE ETICA DE INVESTIGACIÓN



Firma
Aclaración
Cargo


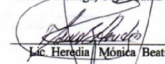

26.01.07
Fecha

Integrantes del Comité de Ética de Investigación que participaron de la aprobación con recomendación sobre el Consentimiento Informado del estudio clínico: "Método estadístico para el diagnóstico temprano de enfermedades de origen multifactorial"

- Protocolo en castellano, Versión N°1
- Brochure del Investigador, en Inglés.
- Consentimiento Informado Versión 1
- Información para el paciente, Versión 1

Sin otro particular, saludamos a Ud. atentamente.

Directora:

Prof. Dra. Cravera Cecilia

Miembros:

Sra. De Noriega, Olga Beatriz Paz

Lic. Heredia Mónica Beatriz

Dr. Masque Alberto Mario

Formulario Informe Avance Reclutamiento v. 1. 2018

Ministerio de SALUD ENTRE TODOS CORDOBA VAMOS MAS ALTO

REGISTRO PROVINCIAL DE INVESTIGACIÓN EN SALUD (RePIS) N° DE RePIS INVESTIGACIÓN ORIGINAL 1378

INFORME DE AVANCE: RECLUTAMIENTO INVESTIGACIONES NO REGULADAS SIN FINES REGISTRALES

I. INVESTIGACIÓN
Tipo de estudio: Métodos estadísticos para el diagnóstico temprano de enfermedades de origen multifactorial
Investigador y UOPE: Mabel Brunotto
Número: 1 Nombre abreviado: Diagnóstico temprano de enfermedades multifactoriales

II. INVESTIGADOR
Nombre Investigador Principal: Mabel Brunotto N° RePIS Investigador: 88

III. EL LUGAR DE REALIZACIÓN
Español/Inglés:

IV. COMITÉ INSTITUCIONAL DE ETICA DE LA INVESTIGACION EN SALUD DONDE SE PRESENTO EL ESTUDIO
Nombre: CIES del Adulto
Institución: Hospital Cordoba
Coordinador: Dr. Germán Bernard

V. INFORME DE RECLUTAMIENTO
FECHA DE INICIO DE RECLUTAMIENTO: 02/01/2007 Número Final de Pacientes Reclutadas: 100
FECHA DE CIERRE DE RECLUTAMIENTO: 1/7/07

VI. PÓLIZA DE SEGURO
Compañía Aseguradora: SAA seguros S.A. 00 08 / 2010
Fecha de vencimiento (deber tener vigencia mayor a 10 días al momento de presentar este formulario): 02/08/2010
Póliza presenta aprobación médica: SI NO Partido de cobertura de cada Reclutación: 1 día






Firma Investigador:  Dra. MABEL BRUNOTTO
Prof. Titular
Cat. 3º. Hospital Salvar
Sello Fecha: 4-4-2019

La información de este formulario tiene carácter de declaración jurada por lo que no se aceptarán inscripciones manuales ni anulaciones realizadas al mismo.

Firma Coordinador:  M. B. BERNARD
M. B. 23489/0
COORDINADOR
CIES DEL ADULTO Fecha: 23/4/2019

Instrucciones para promotores/ Investigadores y CIES:
• El Investigador debe presentar ante el CIES este formulario por triplicado debidamente fechado, firmado y sellado en un plazo no mayor de 10 días hábiles de producido el reclutamiento.
• El CIES presentará ante el RePIS el formulario por triplicado y deberá ser mayor de 10 días hábiles de reportado el inicio del reclutamiento por el Investigador.

MINISTERIO DE SALUD
RECIBIDO
FIRMA: 

|   | | | | | |
|--|---|-------------------------------------|--|--|-------------------|
| COMITÉ INSTITUCIONAL DE ETICA EN INVESTIGACION EN SALUD (CIEIS) FACULTAD DE ODONTOLOGIA. UNC | | | | | |
| ODO CAI-CIEIS N°: | 16 T | | | | |
| Título del Proyecto | Evaluación de marcadores genéticos asociados a cáncer oral para la predicción de riesgo. | | | | |
| Investigador responsable | María Fernanda Galíndez Costa | | | | |
| Trabajo Patrocinado | Describir brevemente: No es patrocinado. | | | | |
| Investigación en personas no vulnerables. Material biológico de origen humano. | Describir brevemente: El objetivo de este trabajo es evaluar y desarrollar modelos de predicción de riesgo para Cáncer Oral a partir de variables genotípicas (polimorfismos de genes individuales o de grupos de genes ya identificados; o nuevos polimorfismos identificados luego del análisis de exoma completo secuenciado), ajustadas por variables medio ambientales (exposición laboral de riesgo) y de hábitos de riesgo (fumar, beber alcohol) en pacientes adultos. | | | | |
| Evaluación del Comité Institucional de Investigación en Salud | <table border="1"> <tr> <td>Resultado Evaluación:</td> <td>Se le dio el Visto Bueno para ser evaluado por el CIEIS.</td> </tr> <tr> <td></td> <td>Fecha: 09/03/2017</td> </tr> </table> | Resultado Evaluación: | Se le dio el Visto Bueno para ser evaluado por el CIEIS. | | Fecha: 09/03/2017 |
| Resultado Evaluación: | Se le dio el Visto Bueno para ser evaluado por el CIEIS. | | | | |
| | Fecha: 09/03/2017 | | | | |
| <p>Resolución Final:</p> <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> | | | | | |
|   Comité Institucional de Ética en Investigación en Salud FACULTAD DE ODONTOLOGÍA - UNC | 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. | | | |

Índice

| | |
|--|-----------|
| Dedicatoria | 3 |
| Agradecimientos..... | 4 |
| Certificado del Comité de Ética..... | 6 |
| Índice..... | 8 |
| Abreviaturas | 10 |
| Resumen | 12 |
| Abstract | 14 |
| Introducción..... | 16 |
| Marco Teórico..... | 20 |
| Cáncer de cabeza y cuello | 21 |
| Factores de riesgo | 23 |
| Carcinogénesis | 25 |
| Proteína supresora de tumores: TP53..... | 32 |
| Reparación del ADN..... | 33 |
| Gen Xeroderma Pigmentoso D (XPD)..... | 38 |
| Complementación cruzada de reparación de rayos X Grupo 3 (XRCC3) | 39 |
| Factor de transcripción nuclear B (NF-κB)..... | 41 |
| Relación entre los polimorfismos seleccionados | 44 |
| Hipótesis | 45 |
| Objetivos | 46 |
| Objetivo General | 46 |
| Objetivos Específicos..... | 46 |
| Materiales y métodos | 47 |
| Aspectos éticos | 48 |
| Diseño y pacientes..... | 48 |
| Aislamiento de ADN y genotipado | 49 |
| Técnica para Polimorfismos de longitud de Fragmentos de Restricción..... | 50 |
| Puntaje de riesgo | 50 |
| Análisis Estadístico | 52 |
| Resultados | 53 |
| Puntaje o Score..... | 64 |
| Discusión | 67 |

| | |
|--|-----------|
| TP53 R72P | 68 |
| XPD Lys751Gln..... | 69 |
| XRCC3 T241M..... | 69 |
| NFKB-519 | 70 |
| Relación de los polimorfismos estudiados..... | 70 |
| Sobre valores de riesgo de desarrollo de CBCE y DPM..... | 73 |
| Conclusión..... | 76 |
| Sobre distribución de genotipos de los SNP estudiados..... | 77 |
| Sobre las asociaciones con las patologías y los controles estudiadas | 77 |
| Sobre la predicción de riesgo de CO y DPM utilizando estos SNPs | 78 |
| Bibliografía..... | 79 |
| Producción Científica | 91 |
| Publicaciones | 91 |
| Presentaciones a congresos | 91 |
| Financiamiento | 93 |
| Anexos | 94 |

Abreviaturas

- 6-4PP: pirimidina- (6,4) -pirimidona
- ADN: Ácido desoxirribonucleico
- AhR: receptores aril hidrocarburo
- AMC: análisis de correspondencia múltiple
- APC: Síndrome de Poliposis Adenomatosa Familiar
- A-ROC: área bajo la curva ROC
- BER: Escisión de Base (Base Excision Repair)
- C: Citocina
- CB: Cáncer bucal
- CBCE: Carcinomas bucales de células escamosas
- CIEIS: Comité Institucional de Ética en Investigaciones de Salud
- CIEIS: Comité Institucional de Ética en Investigaciones de Salud
- CO: cáncer oral
- COCE: carcinoma oral de células escamosas
- CPC: dímero de pirimidina de ciclobutano
- DMBA: 9,10-dimetil-1,2-benzantraceno
- DOPM: Desórdenes orales potencialmente malignos
- DPM: Desórdenes potencialmente malignos
- DSB: rotura de doble cadena (double strand break)
- ECNT: Enfermedades Crónicas No Transmisibles
- G: Guanina
- GG-NER: NER del genoma global
- Gln: glicina
- HNC: Cáncer de cabeza y cuello (Head and Neck Cancer)
- HNSCC: Carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello (head and neck squamous cell carcinoma)
- HNSCC: carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello (Head and Neck Squamous Cell Carcinoma)
- HPV: Virus del Papiloma Humano
- HR: Reparación por recombinación homóloga
- IKB: proteínas inhibitorias de NFkB
- IKK: complejo de quinasa Ikb
- IL: interleucina

- INF: interferones
- Lys: lisina
- Met: metionina
- NEMO: modulador esencial de NF.kB
- NER: Reparación por escisión de nucleótidos
- NFkB: factor nuclear K β
- OC: cáncer oral
- OL: líquen oral
- OLk: leucoplasia oral
- OMS: Organización Mundial de la Salud
- OR: Odds Ratios
- OR: Odds Ratios
- PCR: Reacción en cadena de la polimerasa (*Polimerase Chain Reaction*)
- Rel: retículo plasmático liso
- RFLP: Fragmentos de Restricción (*restriction fragment length polymeras*)
- ROC: *Receiver Operating Characteristic*.
- ROS: Reactive Oxygen Species
- SNP: Polimorfismo de nucleótido sencillo
- SNPs: Polimorfismos de nucleótido sencillo
- T: Timina
- TBE: Tris / Borate / EDTA
- TC-NER: NER acoplado a la transcripción
- TFIIH: factor de transcripción FIIH
- Thr: treonina
- TNF: factor de necrosis tumoral
- TP53: Proteína supresora de tumores 53
- UV: ultra violeta
- XPA: *Xeroderma pigmentosum, grupo de complementación A*
- XPD: *Xeroderma pigmentoso grupo D (Xeroderma Pigmentoso D)*
- XRCC3: Complemento cruzado de reparación de rayos X 3 (X-Ray Repair Cross Plugin 3)

Resumen

Introducción: Los países de América Latina y el Caribe están luchando por responder al aumento de la morbilidad y mortalidad por las enfermedades no transmisibles crónicas. Los Ministerios de Salud, en países en vías de desarrollo como Argentina, enfrentan grandes desafíos en el cuidado de pacientes con cáncer avanzado; debido a falta de financiamiento, inequidad de recursos y servicios en la población, carencia de una atención de salud adecuada, condicionada por factores socio-económicos, geográficos, étnicos, entre otros. Por esto resulta importante avanzar en investigaciones que conduzcan a generar conocimientos en pos de la prevención y diagnóstico temprano del cáncer. El cáncer oral (CO) se caracteriza por que su prevalencia e incidencia cambia de acuerdo al área geográfica.

Objetivo: Evaluar y desarrollar modelos de predicción de riesgo para cáncer bucal de células escamosas (CBCE) a partir de variables genotípicas (polimorfismos de genes individuales o de grupos de genes ya identificados o nuevos) ajustadas por variables medio ambiente (exposición laboral de riesgo) y hábitos de riesgos (tabaco, alcohol) en pacientes adultos.

Métodos: Se realizó un estudio transversal en 140 de CBCE, desordenes orales potencialmente malignos (DPM) y controles. La genotipificación de polimorfismo de nucleótido sencillo (SNP) se realizó mediante técnicas de PCR o RFLP específicas de alelo. Las variables fueron evaluadas por métodos estadísticos bivariados y multivariados, estableciendo $p < 0.05$ para significancia estadística.

Resultados: Los análisis de correspondencia múltiple mostraron que los pacientes con CBCE están agrupados con el alelo T de XRCC3 T241M y el alelo C de TP53 R72P, mientras que los pacientes con DPM están agrupados con el alelo T de NFK β -519. El punto de corte para CBCE y DPM fue de 4.5, por lo cual puntajes mayores a los puntos de corte establecidos tendrían más riesgo de presentar CBCE/DPM

Conclusiones: nuestros resultados mostraron que el alelo C de la variante Pro72 de TP53 está relacionado con CBCE y DPM, mientras que el alelo T de NFK β -519 está relacionado con DPM en pacientes argentinos. Estos resultados coinciden con los estudios realizados en poblaciones caucásicas; se sabe que existe una relación de SNP con distribución geográfica. Estos estudios tienen beneficios potenciales al permitir la identificación de biomarcadores predictivos y grupos con mayor riesgo de cáncer oral y la implementación de una variedad de estrategias de atención médica. Sin embargo, los

resultados de este estudio deben confirmarse en investigaciones adicionales que incluyan un mayor número de pacientes y en diferentes regiones de Argentina.

Palabras clave: polimorfismo, P53 codón 72; XRCC3; XPD; NFK β ; cáncer oral; desórdenes orales potencialmente malignos; puntajes de riesgo

Abstract

Introduction: The countries of Latin America and the Caribbean are struggling to respond to the increase in morbidity and mortality from chronic non-communicable diseases. The Ministries of Health, in developing countries like Argentina, face great challenges in the care of patients with advanced cancer; due to lack of financing, inequity of resources and services in the population, lack of adequate health care, conditioned by socio-economic, geographical, ethnic factors, among others. For this reason, it is important to advance in research that leads to the generation of knowledge for the prevention and early diagnosis of cancer. Its prevalence and incidence changing according to the geographical area characterize oral cancer.

Objective: To evaluate and develop risk prediction models for oral cancer based on genotypic variables (polymorphisms of individual gene or of groups of genes already identified or new) adjusted by environmental variables (occupational risk exposure) and risk habits (tobacco, alcohol) in adult patients.

Methods: A cross-sectional study was conducted in 140 patients with oral squamous cell carcinoma, potentially malignant oral disorders, and controls. SNP genotyping was performed by allele-specific PCR or RFLP techniques. The variables were evaluated by bivariate and multivariate statistical methods, establishing $p < 0.05$ for statistical significance.

Results: Multiple correspondence analyzes showed that patients with CBCE are clustered with the T allele of XRCC3 T241M and the C allele of TP53 R72P, while patients with OPDM are clustered with the T allele of NFK β -519. The cut-off point for CO and DPM was 4.5 therefore; scores higher than the established cut-off points would have more risk of presenting CO / DPM

Conclusions: our results showed that the C allele of the Pro72 variant of TP53 is related to OSSC and DPM, while the T allele of NFK β -519 is related to DPM in Argentine patients. These results coincide with the studies carried out in European populations. It is known that there is a relationship of SNPs with geographic distribution. These studies have potential benefits by allowing the identification of predictive biomarkers and groups at increased risk for oral cancer and the implementation of a variety of health care strategies. However, the results of this study should be confirmed by additional investigations that include a greater number of patients and in different regions of Argentina.

Key words: P53 codon 72 polymorphism; XRCC3; XPD; NFK β ; oral cancer; oral potentially malignant disorders; prediction scores

Introducción

El cáncer forma parte de un gran grupo de patologías denominadas *Enfermedades Crónicas No Transmisibles* (ECNT) y es considerado una de las principales causas de muerte en el mundo. La Organización Mundial de la Salud (OMS) estima que 7.6 millones de personas murieron durante el año 2005 y que 84 millones morirán en los siguientes diez años sino se realizan acciones adecuadas (Bray et al. 2018).

Las enfermedades no transmisibles, incluido el cáncer, están superando a las enfermedades infecciosas como la principal amenaza para la atención de la salud en países de ingresos medios y bajos. Los países de América Latina y el Caribe están luchando por responder al aumento de la morbilidad y mortalidad por estas enfermedades. Los Ministerios de Salud, en países en vías de desarrollo como Argentina, enfrentan grandes desafíos en el cuidado de pacientes con cáncer avanzado; debido a falta de financiamiento, inequidad de recursos y servicios en la población, carencia de una atención de salud adecuada, condicionada por factores socioeconómicos, geográficos, étnicos, entre otros. Por esto resulta importante avanzar en investigaciones que conduzcan a generar conocimientos en pos de la prevención y diagnóstico temprano del cáncer (Goss et al. 2013).

El cáncer de cabeza y cuello (HNC, del inglés *Head and Neck Cancer*), comprenden neoplasias malignas que se ubican anatómicamente por arriba de la caja torácica y por debajo de la base craneana, incluyendo neoplasias malignas que asientan sobre las superficies de las mucosas de cavidad bucal, faringe, laringe, senos paranasales; y tumores provenientes de las glándulas salivales (Cohen et al. 2018).

La mayoría de los cánceres que se desarrollan en la cavidad bucal son carcinomas bucales de células escamosas (CBCE); siendo el sexto cáncer más prevalente en la humanidad, presentando alta morbilidad y bajas tasas de supervivencia (promedio de sobrevida de 5 años) (Brunotto & Zarate 2012; Ferlay et al. 2012). El cáncer bucal se caracteriza por que su prevalencia e incidencia cambia de acuerdo con el área geográfica (Sarode et al. 2020).

La incidencia de CBCE en América del Sur varía de acuerdo con los registros de cada país y las tasas más altas corresponden a Brasil (Curado et al. 2016). La mayoría de los tumores son diagnosticados en estadios tardíos, y casi el 30% de los casos registrados no incluye el estadio al momento del diagnóstico. En cuanto a la mortalidad en América del Sur por CBCE, varía desde 0,72 a 6,04/100.000 habitantes (Curado et al. 2016). Se observó una gran heterogeneidad de los registros de CBCE en sudamericanos, por lo que las bases de datos públicas y representativas de CBCE en América del Sur son insuficientes y desactualizadas, generando estadísticas incompletas que no reflejan el verdadero problema de esta patología en nuestro continente (Curado et al. 2016).

En lo que respecta a la Provincia de Córdoba, Argentina, según los datos del Registro Provincial de Tumores, el cáncer bucal (CB) y de orofaringe, durante el período 2004-2013 no se presentó como una localización frecuente, no estando dentro de los diez tumores más frecuentes en la población cordobesa. Según estos registros, en el período anteriormente mencionado, se diagnosticaron con CB 466 mujeres, de las cuales 181 fallecieron y 1043 varones, de los cuales, 499 fallecieron (Ministerio de Salud, Gobierno de la Provincia de Córdoba. Registro de Tumores. 2017; <https://www.cba.gov.ar/material-de-difusion/registro-de-tumores/>).

Estas patologías, en general, presentan una baja prevalencia en relación con otras enfermedades, pero impactan negativamente en la calidad de vida de las personas, porque conducen a trastornos graves en la salud general y oral. Además, conducen a la muerte en período relativamente corto de tiempo (Zarate et al. 2017).

Como es conocido, previo a una neoplasia existen lesiones que pueden desarrollar características malignas a futuro. Este conjunto de lesiones o condiciones previas a una neoplasia son nombradas Desórdenes potencialmente malignos (DPM) y el riesgo de malignización varía según los factores relacionados con el paciente o la lesión (Speight et al. 2018).

Por lo tanto, el concepto de DPM, reconocido en el año 2007 por la OMS, involucra a las lesiones conocidas como *pre-cáncer*, *pre-malignas*, entre otras. El término DPM conceptualmente incorpora la posibilidad de transformación maligna, independientemente a los componentes clínicos o histológicos y tiene una finalidad predictiva de riesgo de cáncer. Aunque estos DPM supongan un riesgo aumentado de transformación maligna, es muy difícil predecir el comportamiento de cada paciente en forma individual (Warnakulasuriya 2020).

Dentro de los DPM el más frecuente es la leucoplasia, a la cual le siguen otros como los líquenes y liquenoides orales (Speight et al. 2018). Tanto CBCE y DPM presentan una epidemiología compleja debido a su naturaleza multifactorial, entre las cuales se reconoce la genética (Brunotto et al. 2014).

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 a aquellos cuyo diagnóstico se realiza en etapas más avanzadas de la enfermedad. Por lo cual, la identificación de predisposiciones genéticas individuales para el desarrollo de cáncer bucal es una estrategia importante porque permite el desarrollo de nuevas herramientas para la

prevención, detección precoz de esta enfermedad. Los países en desarrollo como Argentina no tienen datos sobre la composición genética. Las investigaciones sobre este tema son fundamentales para aportar conocimientos que mejoren las estrategias de prevención y reduzcan los costes de la terapia del cáncer.

Marco Teórico

Cáncer de cabeza y cuello

Epidemiología

El cáncer es la segunda causa de muerte en el mundo; se estima que las muertes por cáncer en los últimos 10 años han sido del 15% en países desarrollados y de un 30% en países en vías de desarrollo (WHO 2013). Anualmente 11 millones de personas son diagnosticadas con algún tipo de cáncer y cerca de 7 millones de pacientes mueren por esta patología.

En Argentina, también el cáncer es la segunda causa de muerte después de las enfermedades cardiovasculares, con tasas comparables a Canadá y Estados Unidos. Así mismo, existe en Argentina una variabilidad substancial entre las distintas regiones del país y la incidencia y tipo de cáncer (Bosetti et al. 2005; Carioli et al. 2017). Las tasas de cáncer están aumentando anualmente debido al incremento de la población, diagnósticos precoces y la exposición a mayores factores de riesgo (WHO 2007).

Las distintas variedades de cánceres parecen estar relacionadas a diferentes factores de riesgo a las que están expuestas las poblaciones, debido a sus hábitos y entornos de vida. Es conocido que el 95% de los cánceres más comunes están causados por factores ambientales y, de ellos, más de la tercera parte están ligados a factores nutricionales como una de las causas principales (WHO 2007, Sarode et al. 2020).

El cáncer oral se caracteriza por una evidente variación geográfica en su incidencia y prevalencia, con una amplia diversidad en su distribución en varias partes del mundo. Según los más recientes informes de análisis disponibles de GLOBOCAN 2018 de la OMS, en ese año (2018) se incluyeron alrededor de 354.864 casos recién diagnosticados de cáncer de labio y cavidad oral y alrededor de 928.887 casos nuevos de cáncer de orofaringe, lo que representa alrededor del 2% y 0,5 % de todas las neoplasias notificadas. La tasa de incidencia estandarizada por edad proyectada mundial de cáncer de labio y cavidad oral en 2018 es 4.0 por 100.000. De manera similar, se informó una tasa de mortalidad de 177.384 en todo el mundo por cáncer oral en 2018, presenta una tasa de mortalidad estandarizada de 2 / 100.000 individuos. Por otro lado, la incidencia estandarizada por edad y la tasa de mortalidad del cáncer de orofaringe es de 1,1 y 0,57 por 100.000, respectivamente. Según los informes globales, la mayor proporción de cáncer oral se diagnostica en Asia (64,2%) seguida de Europa (17,4%), América del Norte (7,6%), América Latina y el Caribe (5,6%), África (3,8%) y Oceanía (1,3%). Sin embargo, se observa un patrón de tasa de mortalidad ligeramente diferente con la tasa más alta observada en Asia (73,3%) seguida de Europa (13,6%),

Evaluación de marcadores genéticos asociados a cáncer oral para la predicción de riesgo

África (5,3%), América Latina y el Caribe (4,4%), América del Norte (2,9%). %) y Oceanía (0,56%). La ASR global de incidencia de cáncer oral es consistentemente más alta en hombres (5,8 por 100.000) en comparación con mujeres (2,3 por 100.000) (GLOBOCAN 2018; Petersen 2005) (Figura 1).

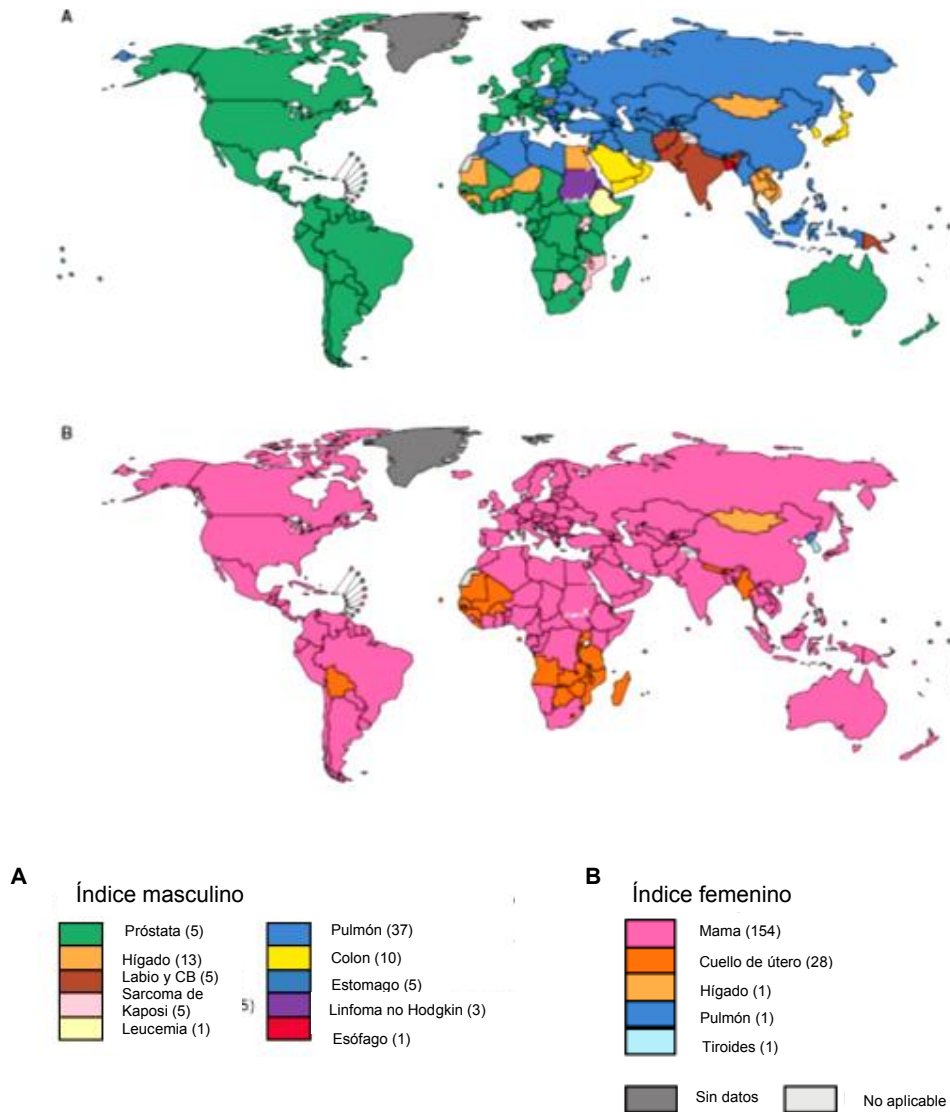


Figura 1. Incidencia de cáncer a nivel mundial según género. **A.** Incidencia de cáncer en varones; **B.** Incidencia de cáncer en mujeres. Figura extraída de Petersen PE. Strengthening the prevention of oral cancer: the WHO perspective. *Community Dent Oral Epidemiol.* 2005;33(6):397-399. doi:10.1111/j.1600-0528.2005.00251.x

Factores de riesgo

Tabaco

El hábito de fumar tabaco es uno de los factores más importantes para el desarrollo de casi todos los cánceres en el mundo (Beynon et al. 2018). El humo del cigarrillo contiene elementos cancerígenos como: nitrosaminas, benzopirenos y aminas aromáticas. Estos subproductos sufren alteraciones producidas por enzimas oxidativas, por lo que el producto final se convierte en pobre en electrones y en un agente apto para ser unido covalentemente al ADN, generando aductos (uniones relativamente estables entre un grupo químico adicional y alguna base nitrogenada, no asociada con la fisiología normal) (Kim et al. 2016). El consumo de tabaco expone al epitelio oral a radicales libres de oxígeno y de nitrógeno. Los niveles elevados de estos radicales libres se encuentran en lesiones denominadas precancerosas y cancerosas (Choudhari et al. 2014).

Este factor, el tabaco, en los cánceres de cabeza y cuello, es muy relevante en su desarrollo. En países como India el tabaco es combinado con el mascado de *betel* (planta cultivada en India, Indonesia y Malasia con propiedades estimulantes de saliva y medicinales y con asociación a la presencia de carcinomas escamosos de esófago) y bebidas de alto tenor alcohólico. Además, existen personas que fuman con la parte encendida del cigarrillo dentro de la boca (este hecho se conoce como fumador inverso) este hábito está relacionado con el riesgo de desarrollar cáncer de paladar duro (Galbiatti et al. 2013).

Por otra parte, estudios experimentales de inducción de carcinogénesis por 9,10-dimetil-1,2-benzantraceno (DMBA), aplicado en el agua de bebida de los animales, de forma tópica sobre piel de los animales o bien inyectado en un órgano han permitido estudiar el proceso de malignización a causa de este factor. La forma de acción del carcinógeno DMBA, un hidrocarburo policíclico aromático, es bien conocida. Este actúa a través de receptores aril hidrocarburo (AhR) activando el citocromo p450. El DMBA es oxidado generando diversos compuestos entre los cuales el 3,4 diol-1,2-epoxi es capaz de unirse covalentemente al ADN y causar una mutación. Esta vía es similar a la descrita para el metabolismo de la nicotina (Brunotto et al. 2006; Brunotto et al. 2009).

Alcohol

Con relación al alcohol se ha observado que presenta varios efectos pro-carcinógenos (Beynon et al. 2018), incluyendo procesos como la producción de acetaldehído, generación de especies oxígeno reactivas y la interferencia de diferentes pasos en el metabolismo del carbono. El fracaso de la transferencia de metilos producida por el consumo de alcohol puede ser uno de los eventos importante en la carcinogénesis (Kawakita & Matsuo 2017). Un de los efectos que produce la ingesta de alcohol es incrementar la permeabilidad de la mucosa oral, disolviendo los lípidos componentes del epitelio, causando atrofia epitelial y la interferencia en la síntesis y reparación del ADN. Por otra parte, también se ha observado que presenta genotoxicidad y efectos mutagénicos. Su consumo crónico se ha asociado con un deterioro de la inmunidad innata y adquirida generando una mayor susceptibilidad a las infecciones y neoplasias (Kawakita & Matsuo 2017).

Carcinógenos Biológicos

Entre los carcinógenos biológicos conocidos se pueden mencionar algunos virus como el Virus del Papiloma Humano (VPH), considerados factores de riesgo de diferentes tipos de cáncer. La asociación entre VPH y los cánceres de cabeza y cuello fue sugerida desde hace 30 años. El VPH contribuye a la carcinogénesis por dos proteínas codificadas por éste (de la Cour et al. 2020).

Se han descrito aproximadamente 200 genotipos o "tipos" de VPH. La OMS ha definido doce tipos de VPH como de alto riesgo y presentan un alto potencial oncogénico (Bouvard et al. 2009). Al menos 10 de estos tipos de VPH oncogénicos (16, 18, 31, 33, 45, 51, 52, 56, 58 y 59), así como 6 tipos de VPH de bajo riesgo (11, 32, 44, 53 y 81), se han aislado de tumores de cabeza y cuello. Se ha identificado al VPH16 como principal causa viral de estos tumores. Todos los papilomavirus poseen un genoma de aproximadamente 8 kilobases que codifican 8 marcos de lectura abiertos (MLA) que permiten la replicación del genoma viral y el ensamblaje de partículas virales. Estos MLA del genoma del VPH se organizan en función del momento de expresión con respecto al ciclo de vida viral, reconociendo genes tempranos (E1, E2, E4, E5, E6 y E7) y tardíos (L1 y L2) (Faraji et al. 2017).

Por otra parte, se ha sugerido que la presencia de *Cándida* está relacionada a la iniciación de cáncer bucal. Estudios clínicos han informado que lesiones de leucoplasia infectadas con *Cándida* presentaron una mayor tendencia a producir displasias; hecho avalado por estudios experimentales en embriones de pollo que verificaron que las infecciones epiteliales con *Cándida* presentan mayor metaplasia y fenotipos proliferativos (Engku et al. 2020).

La evidencia indica el mayor papel de la especie *Cándida* en la carcinogénesis oral se basa en el hecho de que ciertas especies tienen mayor potencial de nitrosación. Este hecho produce compuestos de nitrosamina que juegan un papel en el inicio de la carcinogénesis (Sanjaya et al. 2011).

Dieta

Se conoce que los hábitos dietarios y nutricionales juegan un rol relevante en el desarrollo de diferentes tipos de neoplasmas. Particularmente, se ha establecido que una dieta rica en frutas, vegetales, carotenoides y otras vitaminas han sido asociadas con una reducción de riesgo de cáncer como los cánceres de cabeza y cuello. Entre los macronutrientes consumidos en la dieta los lípidos pueden incorporarse como grasas sólidas o como aceites. Los lípidos con una alta proporción de ácidos grasos saturados son sólidos o semisólido a temperatura ambiente, en tanto los compuestos con grandes cantidades de ácidos grasos insaturados suelen ser líquidos.

La Organización Mundial de la Salud recomienda como límite diario de consumo de lípidos un 15 a 30% del total de consumo energético diario y en relación a las grasas saturados un consumo no mayor a 10% diario del consumo energético (WHO 2007).

Carcinogénesis

La carcinogénesis es un proceso multifactorial complejo que tiene lugar cuando las células sufren una serie de cambios genéticos, que se van acumulando, y conducen a modificaciones geno-fenotípicas en una célula normal transformándola en maligna. En la historia natural del desarrollo del cáncer, como los observados en el tejido epitelial de la mucosa bucal (Figura 2), los cambios que se inician en un epitelio normal lo modifican transformándolo a un epitelio hiperplásico, displásico, carcinoma in situ y finalmente en un carcinoma invasor (Argiris et al, 2008).

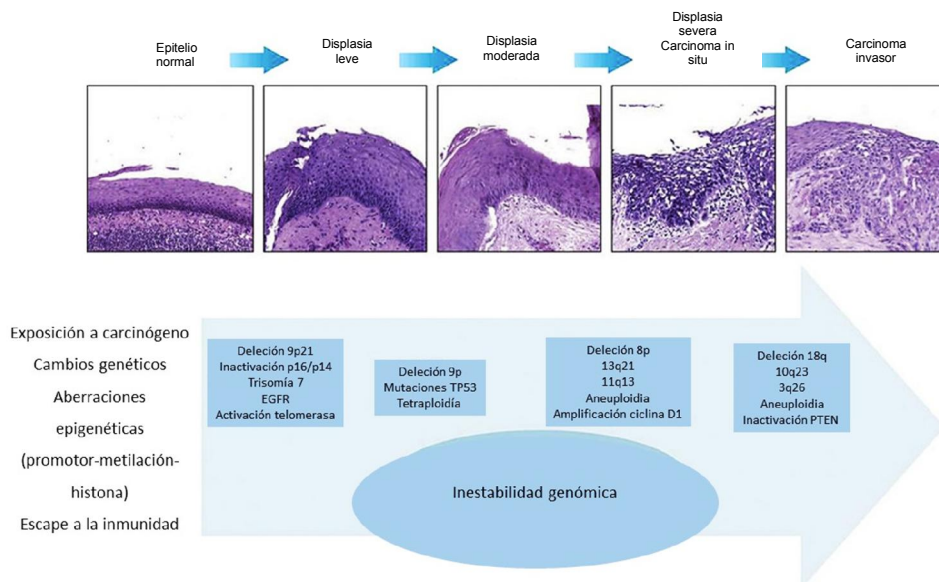


Figura 2. Carcinogénesis oral, proceso complejo de varios pasos caracterizado por una acumulación de alteraciones genéticas y epigenéticas, que conducen a la inestabilidad genómica. Figura extraída y modificada de Argiris et al. 2008.

En este proceso se han visto múltiples eventos genéticos y/o epigenéticos que alteran a los proto-oncogenes, los genes supresores de tumores, las vías regulatorias de funciones celulares como división celular, diferenciación y apoptosis (Choi & Myers 2008).

Los genes supresores de tumores promueven el desarrollo de tumores cuando se inactivan y los oncogenes promueven la formación de tumores cuando se activan. Cuando el proto-oncogén se altera y se activa anormalmente se convierte en un oncogén que tiene la capacidad para promover proliferación celular descontrolada ya que anula los puntos de control durante el ciclo celular. Los oncogenes se pueden clasificar según sus funciones de la siguiente manera: (I) factores de crecimiento o receptores de factores de crecimiento (hst-1, int-2, EGFR / erbB, c-erbB-2 / Her-2, sis); (II) transductores de señal intracelular (RAS, RAF, STAT-3); (III) factores de transcripción (MYC, FOS, JUN, C-MYC); (IV) reguladores del ciclo celular (ciclina D1); y (V) los implicados en la inhibición de la apoptosis (Bcl-2, BAX) (Choi & Myers 2008). Por su parte los genes supresores de tumores suelen estar implicados en la regulación del ciclo celular, incluyendo detención del ciclo celular y apoptosis.

A diferencia de los oncogenes, que puede ser activado por la mutación de solo uno de los dos genes, los genes supresores de tumores son inactivados por cualquiera de varios mecanismos, incluidas mutaciones puntuales y / o delección, en uno o ambos alelos del gen. Una vez que estos genes se inactivan, la célula escapa con fuerza al control del ciclo celular, predisponiéndolo a un crecimiento incontrolado y división, que contribuye al fenotipo maligno. Uno de los genes supresores de tumores más estudiado en el cáncer es el p53 (Choi & Myers 2008).

El uso de técnicas moleculares para diagnosticar lesiones precancerosas y cáncer oral pueden mejorar notablemente la detección temprana de alteraciones que son invisibles bajo el microscopio. Esta identificaría a los pacientes con alto riesgo de contraer la enfermedad (Tanaka & Ishigamori 2011).

Una vez que la célula ha sufrido las modificaciones comienza la expansión clonal para dar lugar a la formación de un tumor. Las células hijas heredan las mutaciones de la madre. Pero estas alteraciones genéticas no son transmitidas por un progenitor a sus hijos, a menos que estén presentes en las células germinales, en cuyo caso estaríamos ante un síndrome hereditario de predisposición al cáncer (Greaves & Maley 2012).

Por otro lado, el hecho de heredar una mutación patogénica en uno de los genes críticos del cáncer ya sea un oncogén o un gen supresor, no implica que el individuo vaya a desarrollar un tumor. Se define como penetrancia genética la proporción de individuos de una población que, presentando un determinado genotipo (mutación en un alelo), expresa un determinado fenotipo (en este caso cáncer). Cuando todos los portadores de la mutación desarrollan cáncer, se dice que la penetrancia es completa, y en caso contrario incompleta, pudiendo ser más alta o baja. Si bien la mayoría de los síndromes de cáncer familiar se deben a mutaciones en genes de alta penetrancia, principalmente genes supresores, solamente las mutaciones de p53 (Síndrome de Li-Fraumeni) y del gen APC (Síndrome de Poliposis Adenomatosa Familiar) presentan una penetrancia completa (Turnbull & Hodgson 2005). La mejor forma de identificar los genes de baja penetrancia es mediante el estudio de sus polimorfismos de nucleótido sencillo (SNP).

Un **polimorfismo** se define como la existencia de dos o más formas alternativas de un gen en una población, de modo que la variante menos frecuente no pueda ser explicada por una mutación patogénica recurrente, para lo cual, debe estar presente en más del 1% de los individuos (Erichsen & Chanock 2004). Se estima que existen más de 10 millones de polimorfismos en el genoma humano, que aparecen con una frecuencia relativamente alta en la población, y a diferencia de las mutaciones

patogénicas, conllevan un escaso o nulo incremento del riesgo de cáncer por sí mismas (Botstein & Risch 2003).

Es necesaria la concurrencia de varios polimorfismos que actúen de forma sinérgica o de mutaciones patogénicas en otros genes o de determinadas circunstancias ambientales para que estos modificadores tengan algún efecto sobre el desarrollo de cáncer (Gabriel 2007; Erichsen & Chanock 2004).

El cáncer es una enfermedad compleja y heterogénea que surge por las interacciones de factores genéticos y ambientales, como factores fisicoquímicos, socioculturales y tipo de dieta, tras los cuales una célula escapa de los controles sobre su división y diferenciación (Secchi et al. 2019). La base se ha establecido en el descubrimiento de mutaciones que producen oncogenes con ganancia dominante de función y genes supresores de tumores con pérdida recesiva de función. Ambas clases de genes cancerosos se han identificado a través de su alteración en las células cancerosas humanas y animales y por la obtención de fenotipos de cáncer en modelos experimentales (Greaves & Maley 2012).

Durante el proceso, la célula adquiere nuevas características que determinaran el crecimiento maligno que son autosuficiencia en las señales de crecimiento, insensibilidad a la muerte celular programada (apoptosis), potencial replicativo ilimitado, angiogénesis sostenida e invasión de tejidos y metástasis y que han sido mencionadas como *marcas distintivas* del cáncer (*hallmarks*, en inglés). (Hanahan & Weinberg 2011) (Figura 3).

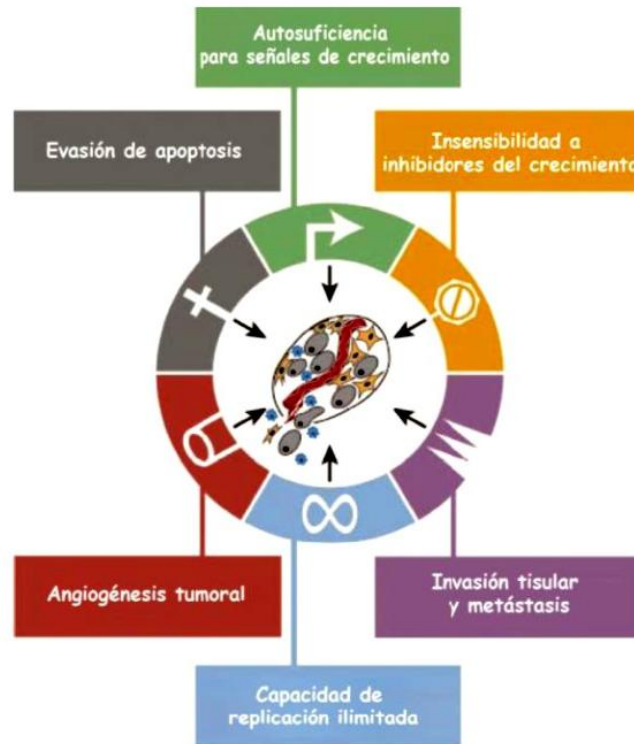


Figura 3: Características distintivas que adquieren las células durante la transformación tumoral. Figura extraída y modificada de Hanahan et al. 2011.

Para que las células adquieran todas las capacidades anteriormente descritas necesitan de la adición sucesiva de numerosas alteraciones genéticas y epigenéticas que aún no han sido totalmente caracterizadas. Estas alteraciones afectan tanto a diferentes funciones de la célula tumoral como a las células de su entorno. (Hanahan & Weinberg 2011).

En su primera publicación científica, los autores Hanahan & Weinberg (2000) propusieron que se podían reconocer seis características distintivas del modelo de células cancerosas, como son señales proliferativas sostenidas en el tiempo, capacidad de evasión de moléculas supresoras del crecimiento, resistencia a la muerte celular (apoptosis), replicación inmortal, inducción de angiogénesis y activación de invasión y metástasis.

Las características del cáncer descritas por Hanahan & Weinberg (2000; 2011) han demostrado ser fundamentales en la comprensión de los rasgos comunes del cáncer y en el diseño racional de fármacos. No exentos de críticas y con la comprensión de los diferentes aspectos de la tumorigénesis que se han enfocado más claramente en los últimos años, intentando dibujar una imagen más organizada y actualizada de las

características del cáncer. Con este criterio se definen siete características distintivas del cáncer: crecimiento selectivo y ventaja proliferativa, respuesta al estrés alterada que favorece la supervivencia general, vascularización, invasión y metástasis, recableado metabólico, un microambiente propicio y modulación inmune, al tiempo que destacamos algunas consideraciones para el futuro del campo (Hanahan & Weinberg 2011).

En la investigación sobre prevención de cáncer se ha avanzado en el reconocimiento de marcas emergentes del desarrollo del cáncer como destrucción de las células y la desregulación de los procesos generadores de energía en la célula, inestabilidad y mutación del genoma y procesos relacionados a la inflamación. Sin embargo, en el cáncer bucal, una mayor precisión de mal pronóstico aún se debe avanzar mucho más (Sasahira et al. 2018).

Los Proto-oncogenes son genes que, en las células normales, promueven el crecimiento y la proliferación celular o inhiben la muerte celular programada (apoptosis). En un sentido más amplio, podrían incluirse a todos aquellos genes que inhiben procesos de diferenciación y los que promueven procesos como la angiogénesis, invasividad, metástasis, etc. Las mutaciones en ellos producen una ganancia en su actividad, pasando a denominarse oncogenes (Osborne & Tripathy 2005).

Los genes supresores de tumores son aquellos que frenan la proliferación celular, ya que regulan de forma negativa la división y el crecimiento de las células. Para que favorezcan el desarrollo tumoral es necesario que las proteínas codificadas por ellos no sean funcionales lo que supone que o bien se alteren los dos alelos o que la mutación de uno de uno de ellos dé lugar a una proteína que inactive la del alelo normal, por lo que las alteraciones de estos genes se consideran recesivas. A su vez, se dividen en “*gatekeepers*” y “*caretakers*”. Los primeros, están directamente implicados en la regulación de la proliferación, diferenciación y apoptosis celular. Cuando se produce la pérdida de función, fallan los mecanismos de control y la célula adquiere una ventaja proliferativa respecto al resto. Los genes “*caretakers*” en cambio, controlan la replicación del ADN, la transcripción, la reparación del ADN y los *checkpoints* del ciclo celular. Estos genes son, por tanto, los encargados de mantener la integridad del genoma (Osborne & Tripathy 2004; Lain 2005; Ali et al. 2017)

Recientemente se determinó mediante la metodología de *next-generation sequencing* que el gen TP53, uno de los genes más mutados en el carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello (HNSCC del inglés *Head and Neck Squamous Cell Carcinoma*) (Zarate et al. 2017; Brunotto et al. 2006; Zhou et al. 2016). TP53 promueve la detención del ciclo celular e inicia las vías de reparación del ADN (Fisher 2017). Uno de los

polimorfismos de un solo nucleótido (SNP) en la posición 72 del gen TP53 genera un derivado proteico que contiene arginina o prolina. Los estudios de cultivo celular relacionados con las funciones celulares de este polimorfismo observaron que la variante de arginina (R72) tiene una acción supresora sobre la transformación maligna y aumenta la actividad apoptótica (Zarate et al. 2017).

Los mecanismos de reparación del ADN son esenciales para la integridad del genoma y para prevenir el desarrollo del cáncer. Varios genes están implicados en estos procesos, como el xeroderma pigmentoso grupo D (XPD) y el complemento cruzado de reparación de rayos X 3 (XRCC3). El gen XPD participa en la reparación por escisión de nucleótidos (NER), mientras que el gen XRCC3 participa en la reparación de roturas de doble cadena de ADN mediante recombinación homóloga (Brunotto et al. 2014; Yuan et al. 2011; Santos et al. 2018; Szkandera et al. 2013; Tsai et al. 2014). Un SNP del gen XPD se caracteriza por una variación de nucleótidos en el codón 751, que cambia el aminoácido lisina (Lys) a glicina (Gln), y se asocia con diferentes neoplasias (Yuan et al. 2011; Szkandera et al. 2013). Uno de los polimorfismos más comunes del gen XRCC3 es una sustitución no conservadora de treonina (Thr) por metionina (Met) en el codón 241 (exón 7), asociado con la sensibilidad a la radiación del daño en el ADN (Santos et al. 2018).

Los procesos inflamatorios crónicos se reconocen como un sello distintivo de la progresión de la malignidad (Diakos et al. 2014; Hannahan & Weinberg 2011). Entre los genes implicados en los procesos inflamatorios se encuentra el factor nuclear $\text{K}\beta$ (NFK β), que participa en la regulación de una variedad de procesos celulares que conducen a la tumorigénesis. El haplotipo -519-C se ha asociado significativamente con el riesgo de desarrollar cáncer gástrico y cáncer de cabeza y cuello (Wang et al. 2010). Nuestra elección de polimorfismos se basó en un trabajo previo nuestro de meta-análisis, en el que encontramos una asociación con CBCE en una población mundial (Brunotto et al. 2014). Los SNP son la forma más abundante de variación del ADN en el genoma humano y contribuyen a las diferencias fenotípicas. Por lo tanto, es interesante conocer la conformación alélica de estos SNP en sujetos con CBCE y DPM en diferentes poblaciones, que es un recurso valioso para mapear rasgos genéticos complejos.

Una de las herramientas más valiosas para la prevención y el diagnóstico precoz es el reconocimiento de los riesgos poblacionales e individuales, que depende de la disponibilidad de estrategias metodológicas para identificar perfiles genotípicos y fenotípicos en la población y, por lo tanto, predecir los riesgos de enfermarse (Li et al. 2018).

Hasta donde se conoce, no hay datos genéticos sobre estos SNP en la ciudad de Córdoba, Argentina, excepto el SNP del codón 72 TP53 (Zarate et al. 2017).

Proteína supresora de tumores: TP53

Entre los genes supresores de tumores se puede mencionar a la proteína TP53. El tipo salvaje de la proteína TP53 es un potente inhibidor de la progresión del ciclo celular, regula el crecimiento y la apoptosis de células cuyo ADN ha sido dañado por agentes del medio ambiente. Al respecto, se sabe que la proteína TP53 es esencial para regular el ciclo celular y es capaz de detener el ciclo en la etapa G1 de células. Este gen se encuentra localizado en el brazo corto del cromosoma 17 humano, y codifica para fosfoproteínas, elementos claves en el control del ciclo celular (Batchelor et al. 2009).

La forma activa de la proteína TP53 es un tetrámero de unidades idénticas. La importancia de la proteína TP53 es la elevada incidencia de su mutación encontrándose esta forma en el 50% de los cánceres estudiados. Esta mutación estructural produce una inactivación de su tipo salvaje, ya que interrumpe su normal funcionamiento y puede contribuir a la malignidad de los tumores (Liu et al. 2015).

En la década de los '80 se demostró mediante técnica de marcación que la proteína TP53 se localiza preferentemente en el citoplasma en la mayoría de las células normales, mientras que en las células transformadas o con un rápido crecimiento la inmuno-marcación de la misma se incrementa en el núcleo celular. La proteína TP53 se encuentra estrechamente asociada a la proteína MDM2, que actúa como regulador negativo de la TP53. La MDM2 es una ubiquitina ligasa E3, la cual junto con la proteína p300, "co-activador transcripcional", degradan a la TP53 por ubiquitinación y procesos dependientes de proteosomas (Olivier et al. 2004). Por otra parte, la proteína TP53 es esencial para el punto de control que detiene en G1 las células con ADN dañado (Figura 4).

El gen supresor de tumores TP53 tiene un rol clave en las respuestas al estrés celular, con el fin de preservar la estabilidad del genoma. Esta función la cumple a través de mecanismos transcripcionales y no transcripcionales que regulan procesos como la apoptosis, la autofagia, la progresión del ciclo celular, la senescencia, reparación del ADN y el metabolismo celular. Universalmente es reconocido como un marcador de los cánceres humanos cuando se encuentra mutado (Brunotto et al. 2006; Brunotto et al. 2009; Zárate et al. 2013; Liu et al. 2016).

La proteína TP53 es un factor de transcripción que promueve la síntesis de proteínas como la p21, que inhibe el crecimiento celular o induce la muerte por apoptosis. Este

factor de transcripción responde a estímulos genotóxicos y transcribe genes de unión específica a secuencias de ADN que detienen el ciclo celular. En el caso particular de la proteína TP53, si la misma se encuentra mutada no produce la detención del ciclo celular, generando un acumulo de células anormales (Comel et al. 2014).

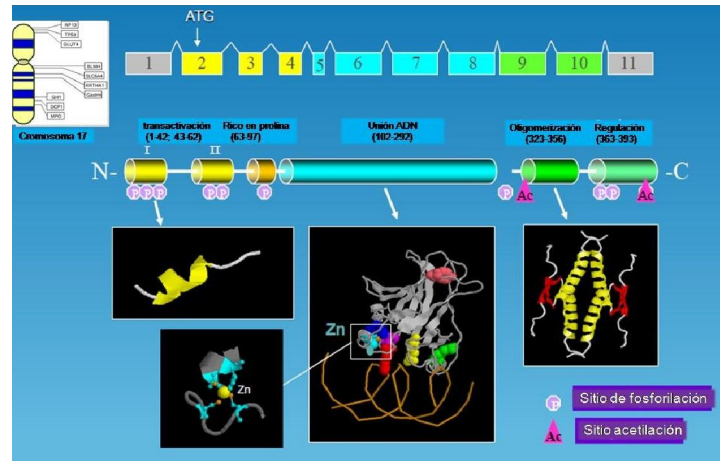


Figura 4. Representación esquemática y 3D de la proteína TP53 y su localización en el cromosoma 17 (arriba izq.). Figura extraída y modificada del sitio de la IARC-agencia internacional para la investigación del Cáncer de la Organización Mundial de la Salud: http://p53.fr/TP53_publications/publications.html

La proteína TP53 normal actúa como una potente barrera contra el cáncer. Las mutaciones TP53 en tumores, que en general son sustituciones de un solo nucleótido de una secuencia codificante, son un sello distintivo de la mayoría de los cánceres humanos y causan defectos dramáticos en la función de esta proteína. En general, se espera que sólo una pequeña fracción de las más de 200 variaciones de secuencia de origen natural (polimorfismos de un solo nucleótido, SNP) de TP53 en poblaciones humanas provoquen impactos negativos en la función de ésta de allí que resulta importante el conocimiento de las diferentes frecuencias de SNP en diferentes poblaciones mundiales (Whibley et al. 2009)

Reparación del ADN

Según la teoría Darwiniana la supervivencia de una especie puede aumentar gracias a cambios genéticos favorables en el proceso de selección natural, sin embargo, la supervivencia de cada individuo en particular requiere una estabilidad genética (Nadeau 2001).

Evaluación de marcadores genéticos asociados a cáncer oral para la predicción de riesgo

La diversidad genética en la línea germinal es esencial para permitir la selección de la aptitud genética, basada en dicha teoría de evolución, sin embargo dichas mutaciones permiten también el aumento de riesgo de enfermedades hereditarias o predisposición a tales enfermedades. Además, las mutaciones en las células somáticas pueden tener numerosas consecuencias fenotípicas, de los cuales el cáncer es quizás el más grave. La exposición a diferentes factores del medio ambiente o incluso del medio intracelular puede originar daños al ADN, así como también mutaciones que provienen de errores espontáneos durante la replicación del material genético (Friedberg 2016).

Para evitarlo, existen mecanismos extremadamente precisos de replicación del ADN, así como también mecanismos que se encargan de reparar las lesiones que se producen en él constantemente por agentes externos. Las enzimas reparadoras de ADN supervisan continuamente los cromosomas para corregir los daños en los nucleótidos producidos por factores ambientales como la radiación solar ultravioleta, radiaciones ionizantes o el humo del tabaco; productos del metabolismo celular normal como el agua oxigenada, las moléculas de oxígeno reactivas y ciertos metabolitos que actúan como agentes alquilantes; o la desaminación espontánea (Friedberg 2016).

Se conocen diferentes mecanismos de reparación de ADN como son Reversión Directa, Reparación por Escisión de Base (BER, del inglés Base Excision Repair) (Abbots & Wilson 2017), los de reparación por escisión de nucleótido (NER, del inglés Nucleotide Excision Repair) y la reparación por ruptura de la doble cadena de ADN por Recombinación de Extremos No Homólogos o Recombinación Homóloga (HR) (Kolodner 2016) como lo muestra la Figura 5 (Hoeijmakers 2001).

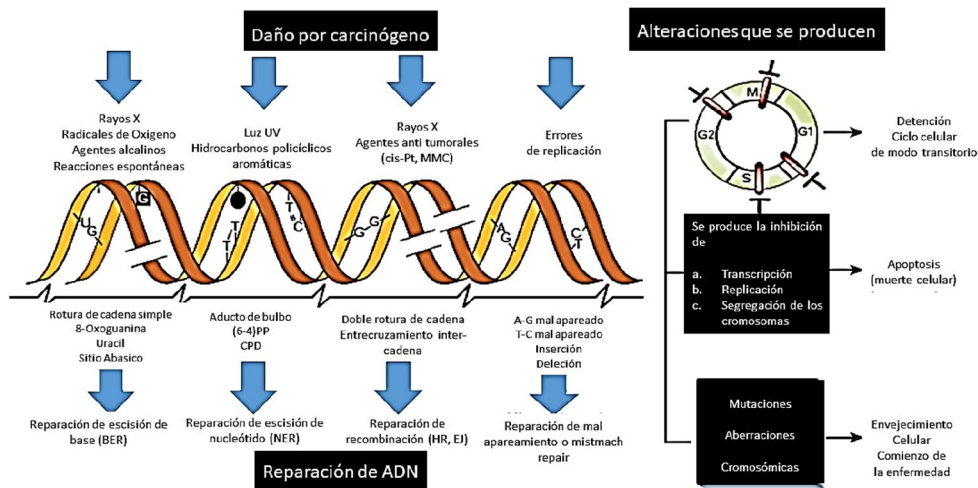


Figura 5. Agentes de daño al ADN, mecanismos de reparación y consecuencias. (6-4) PP: pirimidina- (6,4) –pirimidona; CPD: pirimidina de ciclobutano. Figura extraída y modificada de Hoeijmakers 2001.

Evaluación de marcadores genéticos asociados a cáncer oral para la predicción de riesgo

Reparación por escisión de base (BER)

En la célula eucariota humana, el mecanismo de reparación de ADN conocido como BER, se basa en tres puntos que son reconocimiento del daño, escisión de la base dañada y nueva síntesis de ADN libre de errores. Muchos de los genes involucrados en BER están altamente conservados desde bacterias hasta humanos indicando que el mismo es una vía de reparación fundamental en la mayoría de los organismos vivos. Este mecanismo de reparación (BER) está especializado en reparar bases únicas dañadas por pequeñas modificaciones químicas como son la oxidación por alquilación y daño por desaminación. En general, las modificaciones de base son pro-mutagénicas y / o citotóxicas, dependiendo de cómo interfieran con la función del ADN durante la replicación y transcripción. El proceso BER inicia con una enzima ADN glicosilasa específica para el reconocimiento de daño de ADN y eliminación de la base dañada. Aunque cada enzima ADN glicosilasa tiene una estructura distinta y especificidad para cada sustrato, todas las glicosilasas comparten el modo de acción para el reconocimiento de daños que involucra los siguientes pasos: 1) quitar hacia afuera de la hélice la base dañada, catalizar la escisión de un enlace N-glicosídico, liberar una base libre y crear un sitio a básico (sitioapurínico / apirimidínico o sitio AP) (Lee & Kang 2019) (Figura 6).

Reparación por escisión de nucleótidos (NER)

El proceso NER es reconocido por ser una vía de reparación única en humanos que permite la eliminación de las foto-lesiones producidas por los rayos UV. Estas radiaciones generan la formación de un dímero de pirimidina de ciclobutano (CPD), lesión no voluminosa y un producto de pirimidina- (6,4) -pirimidona (6-4PP), lesión voluminosa. Además, también elimina de forma eficiente una gama extremadamente amplia de lesiones de ADN estructuralmente no relacionadas, incluidos aductos químicos de gran tamaño o voluminosos, y reticulaciones intracadenas (Figura 6) (Lee & Kang 2019).

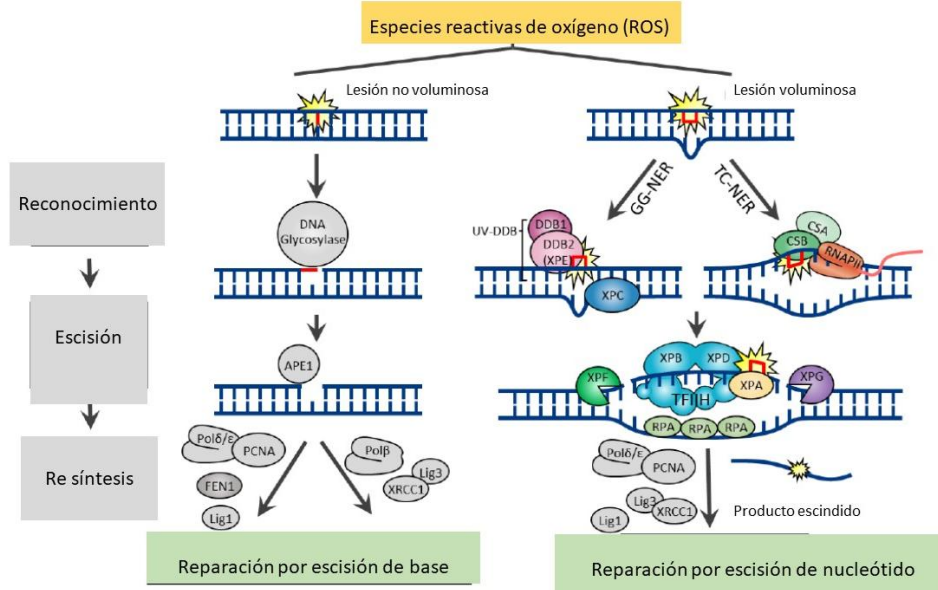


Figura 6. Mecanismos de reparación por daño de ADN causado por especies reactivas de oxígeno (ROS). GG-NER: NER del genoma global; TC-NER: NER acoplado a la transcripción. Figura extraída y modificada de Lee and Kang 2019.

Los mecanismos NER están relacionados a dos sub-rutas: una denominada NER del genoma global (GG-NER); y otra NER acoplado a la transcripción (TC-NER). La primera vía es responsable de eliminar las lesiones en todo el genoma, mientras que la segunda es para aquellas en la cadena de transcripción de genes activos (Scrima et al. 2008; Lans et al. 2019). La verificación y reparación del daño del ADN por NER puede realizarse a través de: a) XPA (*Xeroderma pigmentosum, grupo de complementación A*) que reconoce nucleótidos modificados en la hebra dañada y, en consecuencia, facilita el reclutamiento del factor de transcripción TFIIH (TFIIH), incluyendo XPD (*Xeroderma pigmentosum, grupo de complementación D*), XPB (*Xeroderma pigmentosum, grupo de complementación B*), y subunidades TTDA y p62 (Borsos et al. 2020).

Reparación por recombinación homóloga (HR)

El mecanismo de recombinación homóloga (HR) implica el intercambio de información entre regiones homólogas del genoma; y resulta importante cuando se ha dañado la doble cadena de ADN, así como también es fundamental para la preservación de las

horquillas de replicación, para el mantenimiento de los telómeros y la segregación cromosómica en la meiosis (San Filippo et al. 2008).

En este proceso se acercan los dos cromosomas homólogos y se utiliza la región sin daños del homólogo como molde para sustituir la región dañada del cromosoma roto. Este se inicia mediante la adhesión a los extremos de la cadena de ADN de varias proteínas, fundamentalmente el complejo MRN, formado por MRE11, RAD50 y NSB1, y con actividad exonucleasa, que expone los bordes y añade unas colas de cadena simple en sentido 3'. La recombinasa RAD51 induce entonces la unión a las moléculas de ADN homólogas. La unión de RAD51 a la cadena simple de ADN (ssADN) está favorecida y regulada por su interacción con BRCA2 y catalizada por múltiples proteínas, como XRCC2, XRCC3, y varias isoformas de RAD51, capaces de encontrar secuencias homologas en todo el genoma y catalizar la reacción de intercambio formando dos "loops" o anillos en la cadena de ADN. Una vez que estos anillos se forman, la enzima ADN sintetasa copia la cadena molde y repara el daño. (Joseph San Filippo 2008, Hoeijmakers 2001) (Figura 7).

Para promover la invasión de hebras en secuencia homóloga, la exonucleasa 58-38 del complejo RAD50/ MRE11/ NBS1 expone tanto 38 timina como 30 (I) RPA facilita el montaje de RAD51 filamento de nucleoproteína que incluye proteínas que actúan con RAD51, XRCC3. Así RAD52 estimula el filamento montaje (II) Luego se utiliza la copia intacta de la doble hebra para copiar adecuadamente los extremos rotos a través de la síntesis del ADN y con ello se repara el daño (III). Quedan ambas cadenas reparadas (IV) (Hoeijmakers 2001).

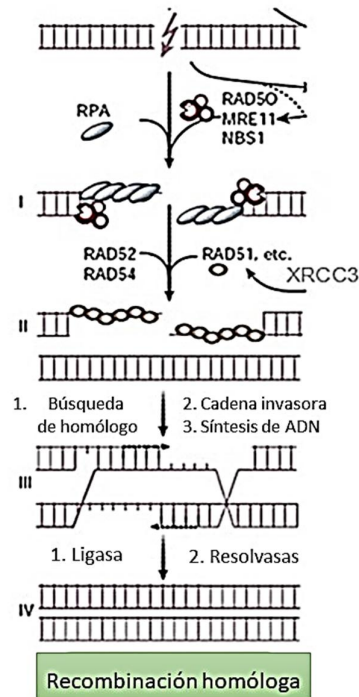


Figura 7. Mecanismo de reparación de ADN por recombinación homóloga. Figura extraída y modificada de Hoeijmakers 2001.

Gen Xeroderma Pigmentoso D (XPD)

El gen XPD (*Xeroderma Pigmentoso D*), también denominado ERCC2, es un gen de 54.3kb, localizado en 19q13.32. Codifica una helicasa de 760 aminoácidos, que forma parte del complejo TFHIIH (Factor de transcripción HIIH). Esta enzima helicasa es dependiente de ATP y abre la hélice de ADN en sentido 5'- 3' para que se inicie el proceso de transcripción (por RNA polimerasa II) o la reparación del ADN por escisión de nucleótidos (NER) (Fan Wang 2008).

Las mutaciones estudiadas en el gen XPD pueden conducir a síndromes con predisposición al cáncer o síndromes que cursan con progeria, como es el caso del Xeroderma Pigmentoso, el Síndrome de Cockayne o la Tricotiodistrofia (Lehmann 2003).

Además de estas mutaciones se conocen múltiples polimorfismos en dicho gen. Varios de estos cambios genéticos se localizan en regiones no codificantes, por lo cual no produce daño alguno, sin embargo, hay otros cambios que se expresan en regiones codificantes (exones) y que traen como consecuencia una modificación conformacional de la proteína. (Monaco et al. 2009).

Uno de los polimorfismos ubicado en el codón 751 genera un cambio de un aminoácido Lisina (Lys) por un aminoácido Glutamina (Gln); generando un cambio conformacional en el extremo carboxilo terminal de la proteína, al que en condiciones normales se une p44, proteína responsable de activar su función helicasa de XPD dentro del complejo TFIIH (Clarkson & Wood 2005; Monaco et al. 2009). Si bien esta alteración no elimina por completo la actividad de XPD, si disminuye de manera importante su actividad, comprometiendo la reparación del ADN; a causa de este hecho las células son más sensibles a las lesiones inducidas por exposición a factores como los rayos UV entre otros. Esta variante polimórfica está presente en aproximadamente el 30-40% de la población general (Clarkson & Wood 2005) (Figura 8).

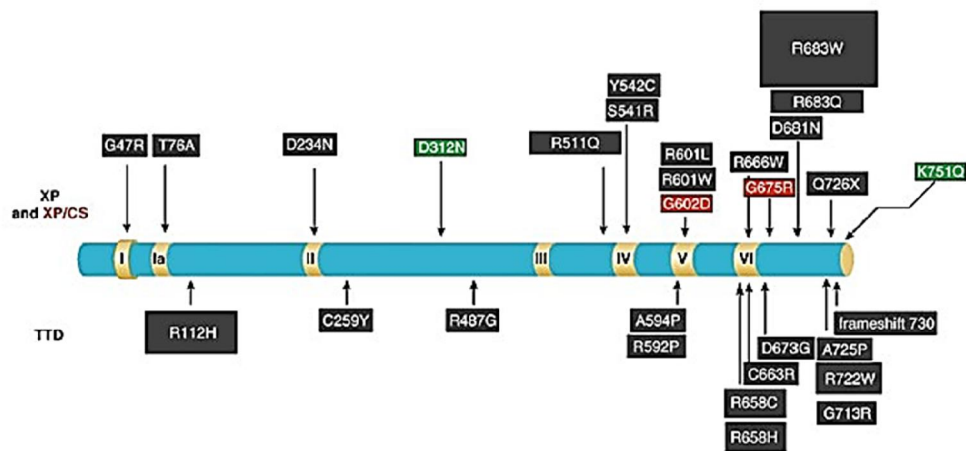


Figura 8: Estructura del gen XPD. En la parte superior del esquema, se muestran las mutaciones han sido asociadas sólo con XP (cuadros negros) y con XP y Síndrome de Cockayne (cuadros rojos). En la parte inferior, se muestran las mutaciones asociadas a TTD. Los cuadros verdes muestran los SNP's que implican cambios funcionales. Los números romanos I-VI señalan los siete dominios con actividad helicasa. Figura extraída de Clarkson and Wood 2005.

Complementación cruzada de reparación de rayos X Grupo 3 (XRCC3)

XRCC3 es uno, de un grupo de genes originalmente identificados por su capacidad para complementar ciertas líneas celulares de roedores mutados por hipersensibilidad a la radiación ionizante y otros agentes que dañan el ADN, por lo que se lo denominó "complemento cruzado de reparación de rayos X" (XRCC) (Brenneman et al. 2000). Más recientemente dicho gen, ha sido clonado, secuenciado y se ha encontrado que tiene

homología de secuencia con el gen de reparación y recombinación homóloga RAD51 (Brenneman et al. 2000).

El gen XRCC3 (del inglés *X-ray repair cross complementation Group 3*) se localiza en 14q32.33 y estructuralmente es similar a RAD51, con el que interactúa y juega un papel clave en la reparación de roturas de doble cadena de ADN (DSB) por el mecanismo de recombinación homóloga (Schild et al. 2000). XRCC3 regula la activación de RAD51 y juntos coordinan la progresión de la horquilla de replicación durante el recorrido de hebras en la síntesis para la conservación genética (Henry-Mowatt et al. 2003; Forget et al. 2004) (Figura 9).

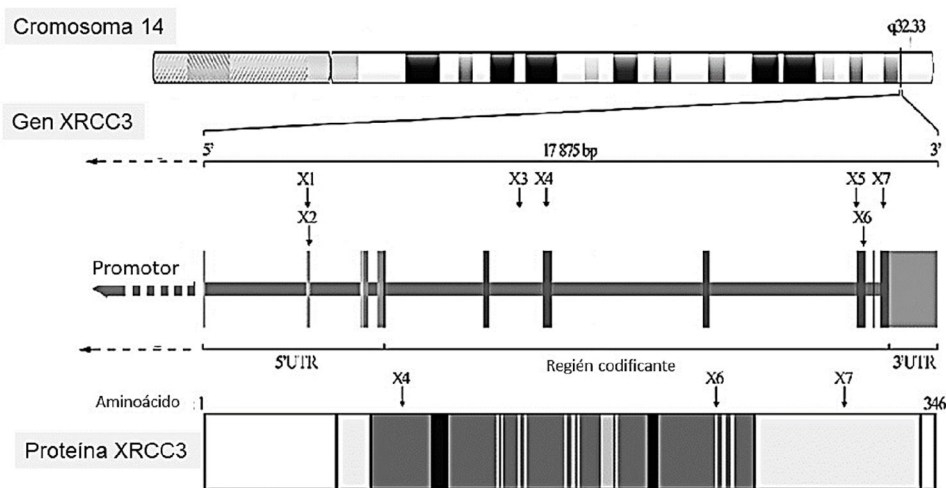


Figura 9. Estructura del gen y proteína XRCC3. Figura extraída y modificada de Gresner et al. 2020.

Las células con mutaciones del gen XRCC3, presentan una gran sensibilidad a las radiaciones ionizantes, así como a los agentes alquilantes (Forget et al. 2004). La sustitución de Citosina (C) por Timina (T) en posición 18067 (exón 7) de XRCC3 se traduce en el cambio de Threonina (Thr) por Metionina (Met) en el codón 241. Este cambio elimina un sitio de fosforilación de la proteína, impidiendo la interacción de XRCC3 con otros elementos de la vía de reparación de ruptura de la doble cadena y alterando la capacidad de reparación celular (Matullo et al. 2001). Según los distintos estudios, la frecuencia del alelo Met en la población general oscila entre el 22 y el 44% de la población general (Krupa et al. 2009).

A pesar de que se han identificado varios polimorfismos en XRCC3, Thr241Met es probablemente el más estudiado de ellos, debido a su relativamente alta frecuencia en

la población general y a que ha podido establecerse su significado biológico. (Krupa et al. 2009, Zhan et al. 2013).

Factor de transcripción nuclear B (NF-κB)

Este gen codifica una proteína de 105 kDa que puede sufrir un procesamiento co-traducciona del proteosoma 26S para generar una proteína de 50 kDa. La proteína de 105 kDa es un inhibidor específico de transcripción y la de 50 kDa es una subunidad de unión a ADN del complejo proteico NF-κB.

NF-κB es un factor de transcripción que es activado por diversos estímulos intra- y extracelulares, tales como citoquinas, radicales libres de oxígeno, radiación UV y productos bacterianos y virales. El complejo NF-κB activado es traslocado al núcleo celular y estimula la expresión de genes implicados en una amplia variedad de procesos biológicos. Una activación inapropiada de NF-κB se ha asociado con un cierto número de enfermedades inflamatorias, mientras que una inhibición persistente de NF-κB conduce a un desarrollo incorrecto de células del sistema inmune o un retraso en el crecimiento celular.

El factor de transcripción nuclear Kappa B (NFκB) fue descrito por primera vez en 1986 y desde entonces fue tema de investigación debido a sus mecanismos de regulación y su acción sobre las vías inflamatorias y reguladoras de muerte célula (Escárcega et al. 2007).

El NFκB es una familia de siete factores de transcripción relacionados estructuralmente, que desempeñan un papel central en el crecimiento cardiovascular, la respuesta al estrés, e inflamación, controlando la expresión de la red de genes. Éste se encuentra en el citoplasma unido a proteínas inhibitorias (IκB), las cuales después de un estímulo adecuado (estrés oxidativo, luz ultravioleta, liposacáridos bacterianos, virus, etc.) son fosforiladas, ubiquitinizadas y degradadas por el proteosoma, permitiendo así la liberación del NFκB, que se transloca al núcleo donde regula la transcripción de genes dianas (Gilmore 2006).

Las vías de activación más estudiadas del NFκB son dos, las denominadas canónicas o clásicas y las vías alternativas, respectivamente. El paso normativo ascendente común en ambas vías es la activación de un complejo de quinasa IκB (IKK), que consta de subunidades de quinasa catalítica (IKKa y / o IKKb) y una proteína de detección de andamio llamada NF-κB modulador esencial llamado NEMO. Como tal, la activación de los dímeros NF-κB es el resultado de fosforilación mediada por IKK degradación inducida del inhibidor IκB, que permite que los dímeros NF-κB entren en el núcleo y

activen la expresión de genes diana específicos (TD Gilmore 2006). Los genes regulados por el NFκB incluyen los que codifican para interleucina (IL) 2, IL6, IL8, el receptor de IL2, TNF, INF, entre otros, los que participan activamente en el proceso inflamatorio (Escárcega 2007; Echeverri et al. 2008).

Recientemente, diversos autores han descrito el papel del NFκB en la inhibición de la apoptosis o muerte celular programada, la cual se lleva a cabo a través de la secreción de una serie de proteínas “provida celular” y anti apoptóticas, las cuales perpetúan el ciclo celular. Por lo tanto, al ser una vía ligada a la inflamación, los factores que influyen sobre ésta también lo hacen en la vida de las diferentes células. Como resultado, la inflamación crónica y la sobreestimulación del NFκB logran causar desarrollo y crecimiento celular incontrolado (Escárcega 2010).

En general, el NFκB actúa como antagonista de los supresores tumorales p53, basado en su habilidad para promover la supervivencia celular, inhibir muerte celular programada y estimular la proliferación celular. Actualmente se acepta que el control de la respuesta inflamatoria está directamente relacionado con el control de la supervivencia celular, a través de la transcripción de proteínas anti-apoptóticas que a su vez conllevan proliferación celular incrementada y crecimiento tumoral. Múltiples informes en las últimas décadas indican que la inflamación crónica y la subsecuente activación del NFκB puede producir tumorigénesis (Slomiany & Solimiany 2018).

La variante mutada del gen de NFκB-519T puede presentar una expresión de proteína IκB más baja lo que daría lugar a una sobre activación de la proteína de NFκB y como consecuencia una perpetuación de la célula en el ciclo, dando lugar al crecimiento y desarrollo celular descontrolado (Shao-Cong Sun 2017).

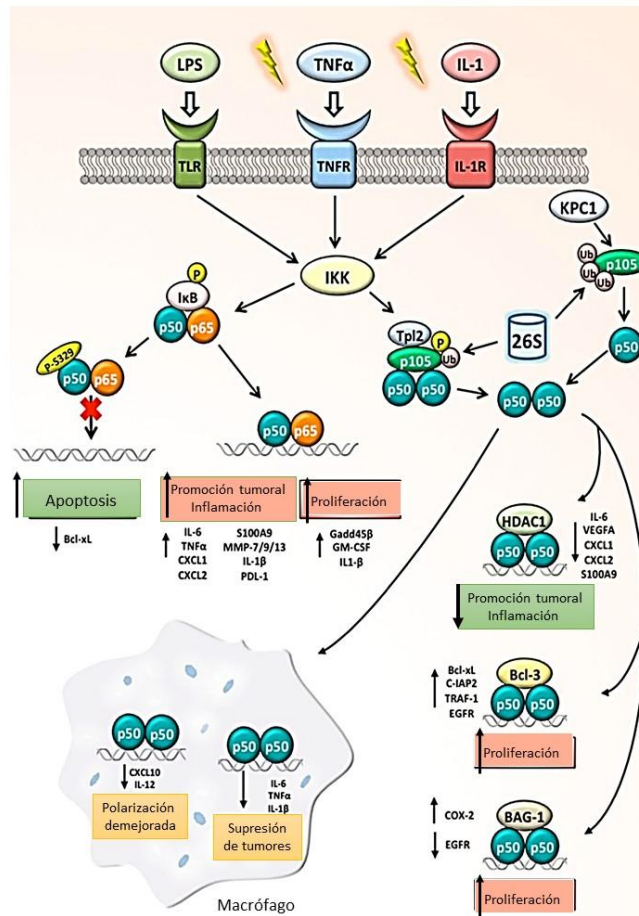


Figura 10. Regulación de NFKB1 p105 / p50 de la expresión génica en el cáncer. Después de una estimulación inflamatoria, IKK funciona como el activador clave de la vía de señalización NFKB1. Fosforilación y ubiquitinación de I B libera dímeros p50: p65 que pueden impulsar la transcripción de promotores de tumores genes inflamatorios y genes anti-apoptóticos y proliferativos. La fosforilación de p50 en el sitio S329 altera la unión del dímero p50: p65 al ADN, disminuyendo la expresión de Bcl-xL, lo que conduce a un aumento de la apoptosis, obstaculizar la progresión del cáncer. La fosforilación y ubiquitinación de p105 conduce a su procesamiento por el Proteasoma 26S, que libera homodímeros p50. El complejo p50: p50: HDAC1 reprime la promoción de tumores la expresión de genes inflamatorios actuando, así como un complejo supresor de tumores, mientras que los homodímeros p50 en complejo con Bcl-3 o BAG-1 puede impulsar la proliferación. En macrófagos, homodímero p50 aberrante la represión de CXCL10 e IL-12 conduce a una polarización M1 alterada. Mientras que p50: p50 represión de los mediadores proinflamatorios y proliferativos también pueden promover la supresión de tumores. Figura extraída y modificada de Concetti & Wilson 2018.

Relación entre los polimorfismos seleccionados

Como anteriormente se mencionó la proteína TP53 es el guardián del genoma ya que es capaz de identificar el daño al ADN y actuar para subsanar el mismo. Por lo cual esta proteína activa mecanismos de reparación de ADN como antes se mencionó o bien conduce a las células a apoptosis (Bieging et al. 2014) (Figura 11).

Por otra parte, está ampliamente documentado que la inflamación crónica está relacionada al desarrollo de tumores. Por lo cual proteínas el factor nuclear κ B (NF- κ B), un factor de transcripción que es esencial para las respuestas inflamatorias, y es una de las moléculas más importantes que vinculan la inflamación crónica con el cáncer. La activación de NF- κ B influye sobre genes pro-proliferativos y antiapoptóticos y afecta a muchas vías de señalización, incluidas las que involucran a STAT3, AP1, factores reguladores de interferón, NRF2, Notch, WNT- β -catenina y p53 (Taniguchi et al. 2018)

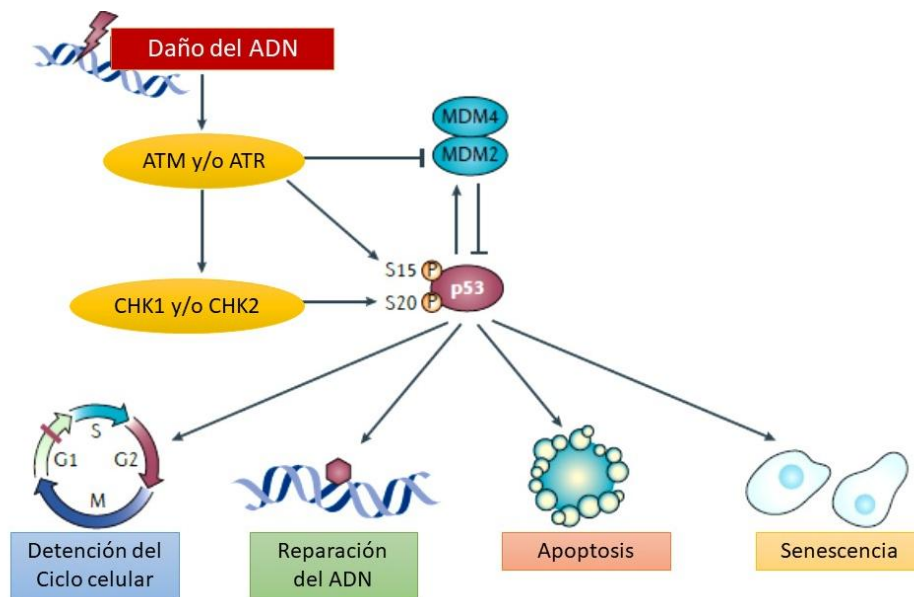


Figura 11. Activación y respuesta de p53. La fosforilación de p53 ocurre en varios sitios, particularmente en el extremo amino, como en las serinas 15 y 20. MDM2 y MDM4, reguladores negativos de p53, se unen a los dominios de activación transcripcional de p53. Figura extraída y modificada de Bieging et al. 2014.

Hipótesis

La evaluación de los caracteres genotípicos (polimorfismos) de los pacientes con cáncer bucal nos permitirá el desarrollo de un modelo de predicción de riesgo con el fin de mejorar su prevención, diagnóstico y tratamiento.

Objetivos

Objetivo General

Evaluar y desarrollar modelos de predicción de riesgo para cáncer bucal a partir de variables genóticas (polimorfismos de genes individuales o de grupos de genes ya identificados o nuevos) ajustadas por variables medio ambiente (exposición laboral de riesgo) y hábitos de riesgos (tabaco, alcohol) en pacientes adultos.

Objetivos Específicos

1. Determinar patrones de biomarcadores genóticos polimórficos individuales y poblacionales mediante técnicas alelo específico y/o de secuenciación ajustados por variables de género, de hábitos y de medio ambiente en la construcción de modelos de predicción de riesgo de carcinomas bucales y desórdenes potencialmente malignos de la mucosa bucal en pacientes adultos.
2. Evaluar la especificidad y sensibilidad de los modelos construidos con las variables analizadas de las distintas patologías en estudio para la predicción de la condición de enfermedad, mediante la comparación de tasas de error de mala clasificación estimadas por validación cruzada y del área bajo la curva ROC.
3. Construir un algoritmo de puntuaciones -scores- de factores de riesgo para pacientes adultos con carcinomas bucales y desórdenes potencialmente malignos.

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. 1379-[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° 16T, libro de actas N°101 con fecha 09 de mayo de 2017); todos los pacientes firmaron los formularios de consentimiento informado (Anexo 1).

Diseño y pacientes

Se diseñó un estudio transversal de 38 sujetos controles, 41 pacientes con CBCE y 61 pacientes con DPM, de ambos sexos, con edades comprendidas entre 36 y 80 años, que concurren por demanda espontánea a la Cátedra A de Estomatología de la Facultad de Odontología, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina, entre los años 2014 y 2018. El tamaño de la muestra se relaciona con el número de pacientes atendidos en este servicio, que en promedio registra 6 y 10 pacientes por año con CBCE y DPM, respectivamente (Piemonte et al. 2009).

Los **controles** seleccionados y los pacientes con DPM / CBCE presentaron características biodemográficas similares como rango de edad, sexo y región geográfica, así como la ausencia de patologías neoplásicas.

Los **criterios de exclusión** de este estudio fueron: pacientes que hubieran sido tratados con corticoides o quimioterapia; pacientes con antecedentes de diagnóstico de otros cánceres; pacientes con enfermedades sistémicas como las inmunológicas; pacientes que fuesen alcohólicos crónicos; pacientes consumidores de drogas y pacientes con infección de VPH (Virus Papilloma Humano).

Los datos clínicos, genéticos y ambientales se registraron en una sola historia clínica siguiendo protocolos propios (Zarate et al. 2013; Secchi et al. 2015; Secchi et al. 2019). Se les preguntó a los pacientes sobre estilo de vida, edad, género, lugar de origen, hábito de fumar y alcohol. Las variables fueron categorizadas según trabajos publicados propios (Secchi et al. 2019). Además, se les realizó un examen clínico de la cavidad bucal mediante inspección visual y palpación de la mucosa oral.

Se constituyeron tres grupos de estudio:

- a) *Carcinoma Bucal de Células Escamosas (CBCE)*: pacientes con diagnóstico de carcinoma oral de células escamosas de acuerdo con los criterios CIE-10 C06-C06;
- b) *Desórdenes Orales Potencialmente Malignos (DPM)*: según los criterios descritos por Warnakulasuriya et al. 2009.
- c) *Control*: pacientes con lesiones orales distintas de *CBCE / DPM*. Los controles fueron pacientes que concurrieron al mismo lugar de atención que los casos por razones no relacionadas con el cáncer o las lesiones precancerosas.

Aislamiento de ADN y genotipado

Las muestras de mucosa bucal normal, corroboradas por la tinción de Papanicolaou (Anexo 2), se obtuvieron mediante cepillado y se almacenaron en tubos Eppendorf estériles a -30°C (Anexo 2). El ADN se aisló como se describió previamente por Zarate et al. 2013.

Se usó ADN genómico para realizar la reacción en cadena de la polimerasa (PCR, del inglés *Polimerase Chain Reaction*) y Polimorfismos de longitud de Fragmentos de Restricción (RFLP del inglés *restriction fragment length polymerase*) específicas de alelo. Los polimorfismos TP53 R72P, XPD Lys751Gln, XRCC3 T241M y NFKB1 -519 C> T se analizaron después de la amplificación por PCR en geles de agarosa al 3%. Los polimorfismos de TP53 R72P (rs 1042522; G> C) se analizaron usando los cebadores 5'-GCCAGAGGCTGCTCCCC-3' y 5'-CGTGCAAGTCACAGACTT-3' para Prolina (177 pb) o 5'-TCCCCCTTGCCGTCCCAA-3' y 5'-CTGGTCCCGG- 3' para Arginina (141 pb). Para los polimorfismos XPD Lys751Gln rs13181, XPD se amplificó por PCR usando los cebadores 5'-TCAAACATCCTGTCCCTACT-3' y 5'-CTGCGATTAAAGGCTGTGGA-3'. El producto de PCR XPD (344 pb) se digirió con PstI a 37 ° C durante 3 h, y los polimorfismos se determinaron como AA (234 y 110 pb), AC (234, 171, 110 y 63 pb) o CC (171, 110 y 63 pb). Para los polimorfismos XRCC3 T241M rs861539, XRCC3 se amplificó por PCR usando los cebadores 5'-GGTCGAGTGACAGTCCAAAC-3' y 5'-TGCAACGGCTGAGGGTCTT-3'. El producto de PCR XRCC3 (455 pb) se digirió con NlaIII a 37 ° C durante 3 h, y los polimorfismos se determinaron como CC (315 y 140 pb), CT (315, 210, 140 y 105 pb) o TT (210, 140 y 105 pb). Para los polimorfismos NFKB1-519 rs 2233408 C / T, NFKB1 se amplificó por PCR utilizando los cebadores 5'-GCTTTCACAACCTTCTACCTG-3' y 5'-AGAGTGAAATGATGGCTG-3'. El producto de PCR NFKB1 (188 pb) se digirió con

MnII a 37 ° C durante 6 h, y los polimorfismos se determinaron como CC (188 pb) o CT y TT (121 y 67 pb) (Anexo 3).

No fue posible determinar todos los polimorfismos en todos los sujetos. Se muestra un gel representativo en la Figura 13 para cada polimorfismo.

La PCR se obtuvo en un volumen final de 50 µl. La amplificación por PCR se realizó en el termociclador iCycler de BioRad, utilizando el siguiente protocolo: 5 minutos a 95°C, 30 segundos a 95°C, 30 segundos a 60°C -55°C dependiendo del SNP, y 45 segundos a 72°C durante 35 ciclos, con 5 minutos adicionales. a 72°C después del último ciclo. Los productos de PCR se separaron en un gel de agarosa al 3% TBE (Tris / Borate / EDTA) y se tiñeron con bromuro de etidio. Se utilizó un marcador de DNA de 100 bp (Cien Marker- Promega USA). El control negativo se realizó con todos los reactivos excluyendo el ADN del paciente.

Técnica para Polimorfismos de longitud de Fragmentos de Restricción

A posterior de la amplificación del SNP por PCR, el producto obtenido (50 µl) se trasvasó a tubos eppendorf de 1,5 ml. Luego se agregó 6 µl de Acetato de Potasio (3M), y se añadió 2 a 4 vol. de etanol al 100%; se mezcló y se dejó 10 min a -20°C. A posterior se centrifugó a 13.000 rpm por 15 min a 4°C. Se eliminó el sobrenadante, y luego, se lavó el precipitado con 100 µl de etanol 70% a -20°C. Se centrifugó 5 min 13.000 rpm a 4°C y se eliminó el sobrenadante. Nuevamente se centrifugó 30 segundos 13.000 rpm a 4°C y se eliminó el sobrenadante. Luego se secó el precipitado de 30 min a 1 h aproximadamente a temperatura ambiente, se re-suspendió en 50µl de agua milli-Q estéril y se tomó una alícuota 8µl para su análisis por restricción. Finalmente se realizó la digestión con la enzima de restricción adecuada según el protocolo descrito en la literatura para cada SNP.

Puntaje de riesgo

Para obtener un puntaje de riesgo, para cada paciente, la metodología que se siguió fue:

1. Se construyeron modelos logísticos para cada SNP.
2. Se estimaron los valores predichos de los diferentes SNP para cada paciente con el modelo logístico construido.

3. A partir de los valores predichos se estimaron las áreas bajo la curva ROC (del inglés *Receiver Operating Characteristic*).
4. Se asignó a cada variante de los SNPs un valor entero correspondiente de una escala 1 a 6. Siendo el valor 1 el de menor precisión y el 6 el de mayor precisión según los valores obtenidos de A-ROC (área bajo la curva ROC). Se optó por colocar un número entero con el fin de simplificar su uso en las decisiones clínicas y basados en escalas como Glasgow Outcome Scale (Lindenmann et al. 2020).
5. Se calculó el puntaje o *score* para cada paciente como la suma de los scores asignados a cada variante de SNP. Un total de 10 puntos correspondió a un paciente que presenta las variantes mutadas en los 4 genes, y 0 el que no presenta ninguna.
6. La validación estadística se realizó a posterior de los *scores* obtenidos para cada paciente mediante la estimaron los errores de clasificación obtenidos por análisis discriminante logístico, basados en muestras de entrenamiento obtenidas por bootstrap (Musonda et al. 2011; Dwivedi et al. 2017). El análisis logístico discriminante se basa en el supuesto de que las razones de probabilidad de los grupos tienen una forma exponencial; incluye regresores binarios y continuos (Liou & Chang, 2015).
7. En la Figura 12 se resume el diseño metodológico (ANEXO 4):

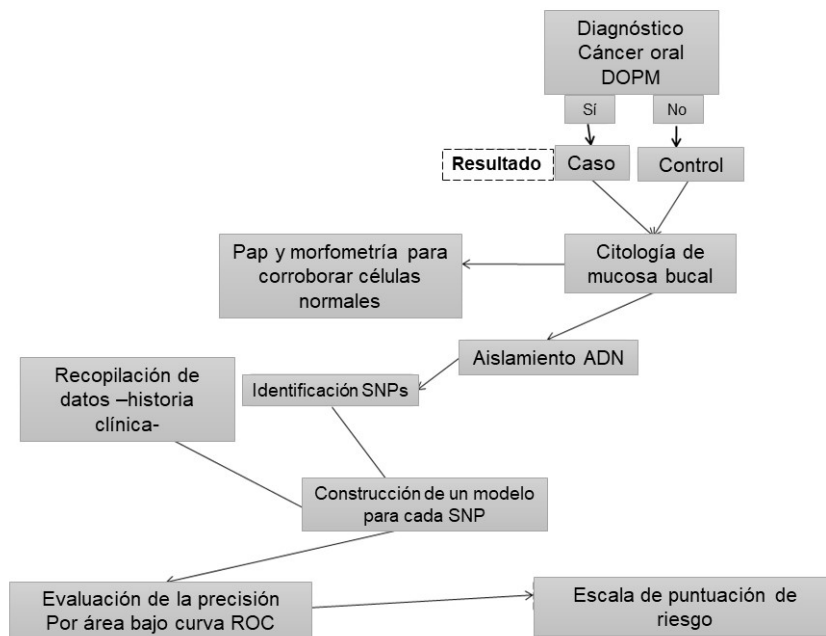


Figura 12: Diseño Metodológico para cáncer oral. Estudio transversal de pacientes adultos de ambos géneros que concurren por demanda espontánea a la Cátedra de Estomatología “A” de la Facultad de Odontología, Universidad Nacional de Córdoba. Los datos clínicos, genéticos y medio ambientales serán registrados mediante Historia Clínica según criterios propios (Piemonte et al., 2009; Zarate et al., 2013;

Secchi et al., 2015). 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 excluyeron pacientes con corticoterapias o quimioterapias que modifiquen la clínica de las lesiones bucales y/o con enfermedades sistémicas, alcoholismo crónico, consumo de drogas, patologías sistémicas y cánceres de otras localizaciones.

Análisis Estadístico

El nivel crítico para establecer la significación estadística se estableció en $p \leq 0,05$. Los datos categóricos se describieron por de 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 fue realizada mediante Análisis de Correspondencia Múltiple y el modelo logístico. Los datos fueron analizados por el software Infostat (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).

Resultados

Los aspectos bio-demográficos, clínicos y los hábitos de riesgo de los sujetos se muestran en la Tabla 1. La población de estudio consistió en 53.6% mujeres (Control: 23, CBCE: 14, DPM: 38) y 46.4% hombres (Control: 15, CBCE: 27, DPM: 23). Se observó un porcentaje significativamente mayor de hombres entre los pacientes diagnosticados con CBCE (65,9%) (Tabla 1A). Las mujeres fueron una mayoría no significativa en pacientes diagnosticados con DPM (62.3%) (Tabla 1B).

La lengua fue el área anatómica más frecuente de lesiones malignas en pacientes con CBCE (63.2%) (Tabla 1A); mientras que la mucosa yugal fue la localización más frecuente en pacientes con DPM (47.5%) (Tabla 1B).

Los bebedores de alcohol mostraron un mayor riesgo de desarrollar CBCE (OR = 3.33; IC 95% [1.04, 10.64]) u DPM (OR = 4.62; IC 95% [1.52, 14.1]) (Tabla 1A-B), mientras que los consumidores de tabaco mostraron un mayor riesgo de desarrollar CBCE (OR = 5.09; IC 95% [1.46, 17.77]) u DPM (OR = 45; IC 95% [10.5, 186.7]) (Tabla 1A-B).

La distribución de frecuencias de todos los genotipos estaba en equilibrio de Hardy-Weinberg ($p > 0.05$) para los sujetos control, pero el polimorfismo NFK β -519 mostró un desequilibrio del alelo T, aunque esto puede haber sido atribuible al tamaño de la muestra.

Los tres genotipos se detectaron en todos los SNP estudiados (TP53Arg72Pro, XPD Lys751Gln, XRCC3Thr241Met y NFK β -519) (Figura 13 A-D).

Tabla 1. EVALUACIÓN DE MARCADORES GENÉTICOS ASOCIADOS A CÁNCER ORAL PARA LA PREDICCIÓN DE RIESGO: Características de la población. **A)** Controles vs. CBCE divididos según las variables analizadas género, edad, tabaco, alcohol, y clínica; **B)** Controles vs DPM divididos según las variables analizadas género, edad, tabaco, alcohol, y clínica.

IC: Intervalo de confianza. **FA:** Frecuencia absoluta: **FR%:** %frecuencia relativa. **LI:** límite inferior; **LS:** límite superior. **OR.** Odd ratio. P-valor<0,05 indica significación estadística.

A)

| Población | Variables | Punto de corte | Control (n=38) FA (FR%) | CBCE (n=41) FA (FR%) | p-valor | OR | 95%CI | |
|-----------------------|------------------------------|----------------|-------------------------------|----------------------------|-------------------------|-------------|-------------|--------------|
| | | | | | | | LI | LS |
| Aspectos demográficos | Género | 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 (años) | <45 años | 11 (28,9) | 5 (12,2) | Categoría de referencia | | | |
| | | ≥ 45 años | 27 (71,1) | 36 (87,8) | 0,0722 | 2,85 | 0,92 | 8,84 |
| Hábitos de riesgo | Tabaco ¹ | Nunca/ex | 30 (78,9) | 18 (44,4) | Categoría de referencia | | | |
| | | Actual | 8 (21,1) | 23 (57,6) | 0,0107 | 5,09 | 1,46 | 17,77 |
| | Alcohol ² | Nunca/ex | 26 (68,4) | 16 (39,4) | Categoría de referencia | | | |
| | | Actual | 12 (31,6) | 25 (60,6) | 0,0438 | 3,33 | 1,04 | 10,64 |
| Clínica | Sitio anatómico de la lesión | Lengua | | 26 (63,2) | 0,0004 | No estimado | | |
| | | Mucosa Yugal | | 10 (23,7) | | | | |
| | | Otros sitios | | 5 (13,2) | | | | |

B)

| Población | Variables | Punto de corte | Control (n=38) FA (FR%) | CBCE (n=41) FA (FR%) | p-valor | OR | 95%CI | |
|-----------------------|------------------------------|----------------|-------------------------------|----------------------------|-------------------------|-------------|-------------|--------------|
| | | | | | | | LI | LS |
| Aspectos demográficos | Género | 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 (años) | <45 años | 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 |
| Hábitos de riesgo | Tobaco ¹ | Nunca/ex | 30 (78,9) | 16 (26,2) | Categoría de referencia | | | |
| | | Actual | 8 (21,1) | 45 (73,8) | 0,0001 | 45 | 10,5 | 186,7 |
| | Alcohol ² | Nunca/ex | 26 (68,4) | 19 (31,1) | Categoría de referencia | | | |
| | | Actual | 12 (31,6) | 42 (68,9) | 0,0066 | 4,62 | 1,52 | 14,1 |
| Clínica | Sitio anatómico de la lesión | Lengua | | 17 (27,9) | 0,0679 | No estimado | | |
| | | Mucosa Yugal | | 29 (47,5) | | | | |
| | | Otros sitios | | 15 (24,6) | | | | |

¹Fumador: consumo actual de al menos un cigarrillo/día durante un período mínimo de 1 año;

²Alcohol: consumo actual de 2 bebidas/semana durante un período mínimo de 1 año.

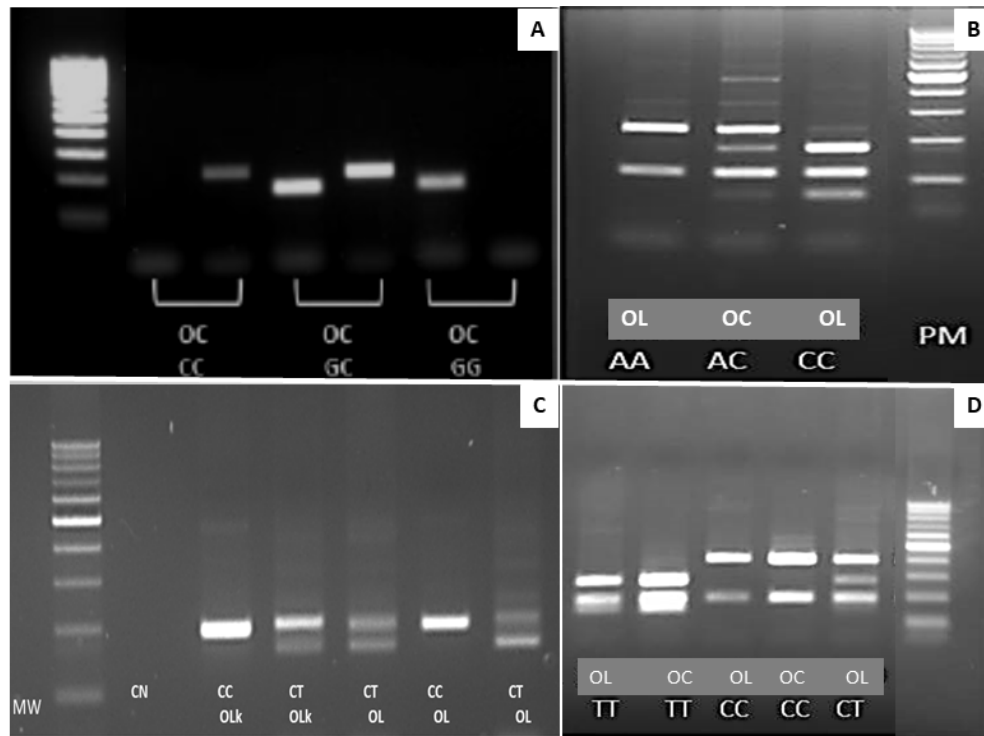


Figura 13. EVALUACIÓN DE MARCADORES GENÉTICOS ASOCIADOS A CÁNCER ORAL PARA LA PREDICCIÓN DE RIESGO: Genotipos -PCR en gel 3% de agarosa. MW: peso molecular (del inglés *molecular weight*). OL: líquen oral; OLk: leucoplasia oral; OC: cáncer oral; Con: control. **A.**; Variante Arg72: 142bp; variante Pro72 178bp CG: heterocigota; CC y GG: homocigota. **B** Genotipos de XPD 751. **AA:** 234-110 bp; **CC:** 161-110-63 bp; **AC:** 234-171-110-63 bp. **C.** Genotipos de NFKB β -519, **CC:**188 bp; **CT/TT:** 121 y 67 bp. **D:** Genotipos de XRCC3 241, CC: 315-140 bp; **CT:** 315-210-140 bp; **TT:** 210-140 bp.

En general, las proporciones de genotipos homocigotos o heterocigotos de todos los SNP estudiados fueron significativamente diferentes en cada grupo (Tabla 2). Sin embargo, las proporciones de XRCC3 T241M no variaron entre homocigotos y heterocigotos en pacientes con CBCE. NFKB-519 fue el único SNP que no presentó un genotipo heterocigoto en controles y pacientes con CBCE, pero el genotipo heterocigoto se observó en pacientes con DPM (Tabla 2 y 3)

El análisis de asociación bivariada mostró que el alelo C (GC + CC) de TP53 R72P se correlaciona con la presencia de DPM o CBCE ($p = 0.0061$) (Tabla 3). Mientras que la frecuencia de GC + CC en los controles fue de 60%, observándose un aumento considerable en pacientes con DPM (81.8%) y en pacientes con CBCE (85.5%) (Tabla 4). Los pacientes que portaban el alelo C tenían cuatro o tres veces más probabilidades de desarrollar lesiones premalignas (OR: 4.67; IC del 95%: 1.65 a 13.22) o malignas (OR: 3.14; IC del 95%: 1.09 a 9.07), respectivamente (Tabla 5). Los SNP de XPD y

XRCC3 no estaban asociados con DPM u CBCE (Tabla 5), pero el alelo T de NFK β -519 se observó significativamente asociado con DPM ($p = 0.0193$) (Tabla 2). Los pacientes que portaban el alelo T de NFK β -519 tenían nueve veces más probabilidades de desarrollar DPM (OR = 9,26; IC del 95% [1,13, 75,68] (Tabla 5).

Para analizar la distribución de SNP según el diagnóstico, realizamos análisis de correspondencia múltiple (AMC). El ACM mostró que la inercia ajustada para las dos primeras dimensiones fue del 61,2%. La primera dimensión explicó el 36,4% de la variabilidad de los datos, y las categorías se organizaron principalmente a lo largo del primer eje (Figura 13). Los pacientes con CBCE y DPM se asociaron con los genotipos GC / CC de TP53 R72P, genotipos CT / TT de NFK β -519, genotipos heterocigotos de XRCC3 T241M y XPD Lys751Gln, y la presencia de hábitos de riesgo (alcohol y tabaco), mientras que los controles estaban relacionados con el genotipo GG de TP53 R72P y sin hábitos de riesgo (Figura 14).

Tabla 2. EVALUACIÓN DE MARCADORES GENÉTICOS ASOCIADOS A CÁNCER ORAL PARA LA PREDICCIÓN DE RIESGO: Genotipos de los SNPs estudiados divididos por grupo. P-valor < 0.05 indica significación estadística para rechazar Ho: las proporciones en cada grupo son homogéneas. DPM: desórdenes potencialmente malignos; CBCE: carcinoma bucal de células escamosas. * Alelo sano.

| Gen-SNPs (n=140) | Genotipo | Control | | | DPM (n=61) | | | CBCE (n=41) | | |
|----------------------------|----------|---------|-------|---------------|---------------|-------|---------------|----------------|-------|---------------|
| | | N | % | p | N | % | P | N | % | P |
| TP53Arg72Pro rs1042522 | GG* | 14 | 40 | 0,0344 | 10 | 18,18 | 0,0001 | 8 | 19,51 | 0,0002 |
| | GC | 16 | 45,71 | | 38 | 69,09 | | 26 | 63,41 | |
| | CC | 5 | 14,29 | | 7 | 12,73 | | 7 | 17,07 | |
| XPDLys751Gln rs13181 | AA* | 14 | 41,18 | 0,0083 | 23 | 40,35 | 0,0001 | 12 | 31,58 | 0,0016 |
| | AC | 17 | 50 | | 31 | 54,39 | | 22 | 57,89 | |
| | CC | 3 | 8,82 | | 3 | 5,26 | | 4 | 10,53 | |
| XRCC3Thr241Met rs861539 | CC* | 16 | 50 | 0,0014 | 20 | 47,62 | 0,0015 | 12 | 41,38 | 0,1846 |
| | CT | 15 | 46,88 | | 19 | 45,24 | | 12 | 41,38 | |
| | TT | 1 | 3,13 | | 3 | 7,14 | | 5 | 17,24 | |
| NFKβ C/T rs2233408 | CC* | 32 | 96,97 | 0,0001 | 38 | 77,55 | 0,0001 | 31 | 91,18 | 0,0001 |
| | CT | 0 | 0,00 | | 5 | 10,20 | | 0 | 0,00 | |
| | TT | 1 | 3,03 | | 6 | 12,24 | | 3 | 8,82 | |

Tabla 3. EVALUACIÓN DE MARCADORES GENÉTICOS ASOCIADOS A CÁNCER ORAL PARA LA PREDICCIÓN DE RIESGO: Genotipos de los SNPs estudiados divididos por grupo. Genotipos de los SNPs estudiados divididos por grupo. P-valor < 0.05 indica significación estadística para rechazar Ho: las proporciones en cada grupo son homogéneas. DPM: desórdenes potencialmente malignos; CBCE: carcinoma bucal de células escamosas; OLk: leucoplasia oral; OL: liquen oral. *Alelo sano.

| Gene-SNPs (n=140) | Genotipo | Control (n=38) | | | CBCE (n=41) | | | OLk (n=22) | | | OL (n=39) | | |
|----------------------------|----------|-------------------|-------|---------------|----------------|-------|---------------|---------------|-------|---------------|--------------|-------|---------------|
| | | AF | RF% | p | AF | RF% | p | AF | RF% | p | AF | RF% | P |
| TP53Arg72Pro rs1042522 | GG * | 14 | 40 | 0,0344 | 8 | 19,51 | 0,0002 | 2 | 11,11 | 0.0003 | 8 | 21,62 | 0,0002 |
| | GC | 16 | 45,71 | | 26 | 63,41 | | 14 | 77,78 | | 24 | 64,86 | |
| | CC | 5 | 14,29 | | 7 | 17,07 | | 2 | 11,11 | | 5 | 13,51 | |
| XPDLys751Gln rs13181 | AA * | 14 | 41,18 | 0,0083 | 12 | 30,77 | 0,0036 | 9 | 45 | 0.6547 | 14 | 38,89 | 0,0009 |
| | AC | 17 | 50 | | 22 | 56,41 | | 11 | 55 | | 20 | 55,56 | |
| | CC | 3 | 8,82 | | 5 | 12,82 | | 0 | 0 | | 2 | 5,56 | |
| XRCC3Thr241Met rs861539 | CC * | 16 | 50 | 0,0014 | 13 | 43,33 | 0,1496 | 6 | 54,55 | 0.763 | 13 | 43,33 | 0,0247 |
| | CT | 15 | 46,88 | | 12 | 40 | | 5 | 45,45 | | 14 | 46,67 | |
| | TT | 1 | 3,13 | | 5 | 16,67 | | 0 | 0 | | 3 | 10 | |
| NFKβ-519 C/T rs 2233408 | CC * | 32 | 96,97 | 0,0001 | 31 | 91,18 | 0,0001 | 11 | 78,87 | 0.0015 | 26 | 76,47 | 0,0001 |
| | CT | 0 | 0,00 | | 0 | 0,00 | | 1 | 7,14 | | 4 | 11,76 | |
| | TT | 1 | 3,03 | | 3 | 8,82 | | 2 | 14,29 | | 4 | 11,76 | |

Tabla 4. EVALUACIÓN DE MARCADORES GENÉTICOS ASOCIADOS A CÁNCER ORAL PARA LA PREDICCIÓN DE RIESGO: Genotipos de SNPs estudiados por grupo. El valor $P < 0.05$ indica significación estadística para el rechazo H_0 : las proporciones de los controles para cada genotipo son proporciones iguales para DPM y CBCE. DPM: trastornos orales potencialmente malignos; CBCE: carcinoma oral de células escamosas. * Alelo sano.

| Gen SNPs | Genotipo | Control N (%) | DPM N (%) | CBCE N (%) | p-valor * |
|-----------------------------|----------|------------------|--------------|---------------|---------------|
| TP53Arg72Pro rs1042522 | GG* | 14 (40) | 10 (18,2) | 8 (19,5) | 0,0364 |
| | GC | 16 (45,7) | 38 (69,1) | 26 (63,4) | |
| | CC | 5 (14,3) | 7 (12,7) | 7 (17,1) | |
| | GC+CC | 21 (60,0) | 45 (81,8) | 35 (85,5) | 0,0061 |
| XPDLys751Gln rs13181 | AA* | 14 (41,2) | 23 (40,3) | 12 (31,6) | 0,7952 |
| | AC | 17 (50,0) | 31 (54,4) | 22 (57,9) | |
| | CC | 3 (8,8) | 3 (5,3) | 4 (10,5) | |
| | AC +CC | 20 (58,8) | 34 (59,6) | 26 (68,4) | 0,6236 |
| NFKB-519 C/T rs2233408 | CC* | 32 (96,9) | 38 (77,6) | 31 (91,2) | 0,0187 |
| | CT | 0 (0,0) | 5 (10,2) | 0 (0,0) | |
| | TT | 1 (3,0) | 6 (12,2) | 3 (8,8) | |
| | CT+TT | 1 (3,0) | 11 (22,4) | 3 (8,8) | 0,0193 |
| XRCC3-Thr241Met rs861539 | CC* | 16 (50,0) | 20 (47,6) | 12 (41,4) | 0,4003 |
| | CT | 15 (46,9) | 19 (45,2) | 12 (41,4) | |
| | TT | 1 (3,1) | 3 (7,1) | 5 (17,2) | |
| | CT+TT | 16 (50,0) | 21 (50,0) | 17 (58,6) | 0,7851 |

Evaluación de marcadores genéticos asociados a cáncer oral para la predicción de riesgo

Tabla 5. EVALUACIÓN DE MARCADORES GENÉTICOS ASOCIADOS A CÁNCER ORAL PARA LA PREDICCIÓN DE RIESGO: Modelos logísticos de regresión para cada SNP (polimorfismo de un solo nucleótido). Modelo: Logit (presencia de variante mutada) = $\beta_0 + \beta_1$ diagnóstico. Ajustado por hábitos de riesgo (alcohol / tabaco). OR: odd ratio; IC: intervalo de confianza; LI: límite inferior; LS: límite superior. DPM: desórdenes potencialmente malignos; CBCE: carcinoma oral de células escamosas. El control es la categoría de referencia.

| SNP | Diagnóstico | OR | IC 95% | | p-valor |
|------------------------------------|-------------|------|--------|-------|---------------|
| | | | LI | LS | |
| TP53Arg72Pro rs1042522 | Control | 1 | | | |
| | DPM | 4,67 | 1,65 | 13,22 | 0,0037 |
| | CBCE | 3,14 | 1,09 | 9,07 | 0,0341 |
| XPD Lys751Gln rs13181 | Control | 1 | | | |
| | DPM | 1,03 | 0,44 | 2,46 | 0,9382 |
| | CBCE | 1,52 | 0,58 | 3,99 | 0,3984 |
| XRCC3Thr241Met rs861539 | Control | 1 | | | |
| | DPM | 1,1 | 0,44 | 2,76 | 0,8391 |
| | CBCE | 1,42 | 0,51 | 3,9 | 0,5004 |
| NFK β -519 C/T rs 2233408 | Control | 1 | | | |
| | DPM | 9,26 | 1,13 | 75,68 | 0,0378 |
| | CBCE | 3,1 | 0,31 | 31,4 | 0,3389 |

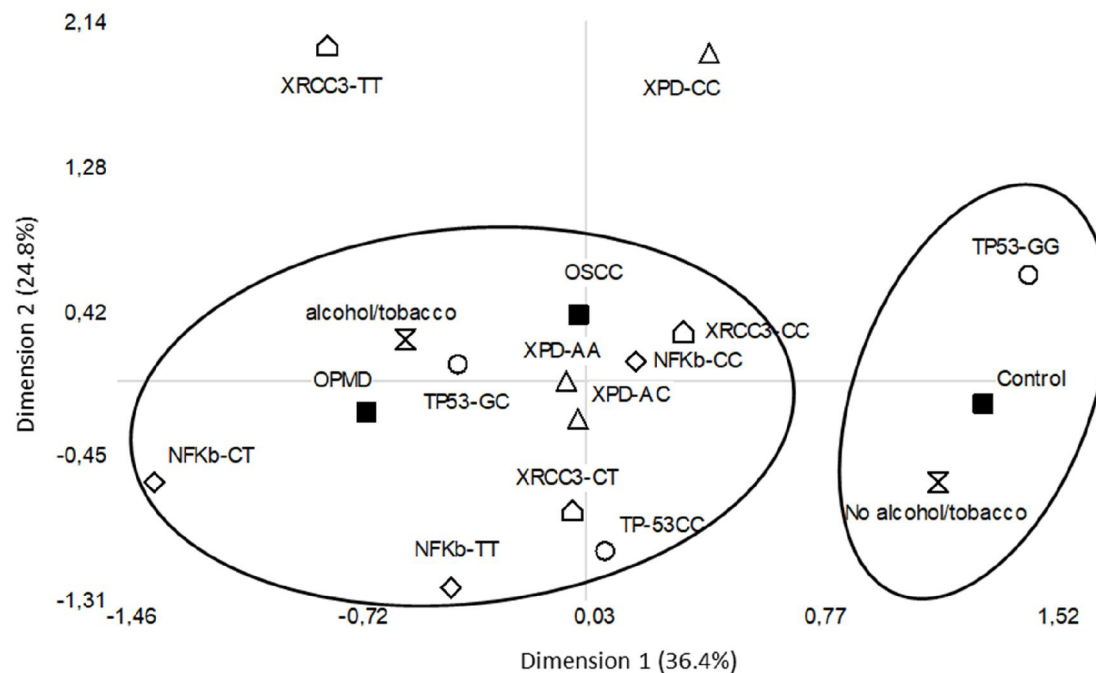


Figura 14. EVALUACIÓN DE MARCADORES GENÉTICOS ASOCIADOS A CÁNCER ORAL PARA LA PREDICCIÓN DE RIESGO: Análisis de correspondencia múltiple (proyección en las 2 primeras dimensiones). La inercia acumulada fue del 36,4%. Dimensión 1; 24,8%. Dimensión 2. DPM: desórdenes potencialmente malignos; CBCE: cáncer oral de células escamosas. Genotipos de XPD^{Lys751Gln}: AA-CC-AC; Genotipos de NFKβ -519, CC-CT-TT; Genotipos de XRCC3^{T241M}, CC-CT-TT.

Evaluación de marcadores genéticos asociados a cáncer oral para la predicción de riesgo

Puntaje o Score

Para obtener el puntaje se estableció un rango de todos los SNP que presentaron un p-valor significativo de su área bajo la curva ROC (A-ROC) ($p \leq 0,05$). La validación estadística se realizó a través del método discriminación logística y tasas de error por mal clasificación por el método *leave-one-out*.

En las Figuras 15 y 16 se muestran las curvas ROC y su correspondiente área bajo la curva (A-ROC). Estas A-ROC son indicativas de la precisión con la que se clasifica a un paciente en relación a un control; el SNP del TP53 Arg72Pro resultó ser el más preciso (A-ROC=0,748) y el XRCC3-Thr241Met el menos preciso (A-ROC=0,655). Las A-ROC para los pacientes con DPM en relación a sus controles mostraron la misma precisión que los pacientes con CEBC (Figura 15).

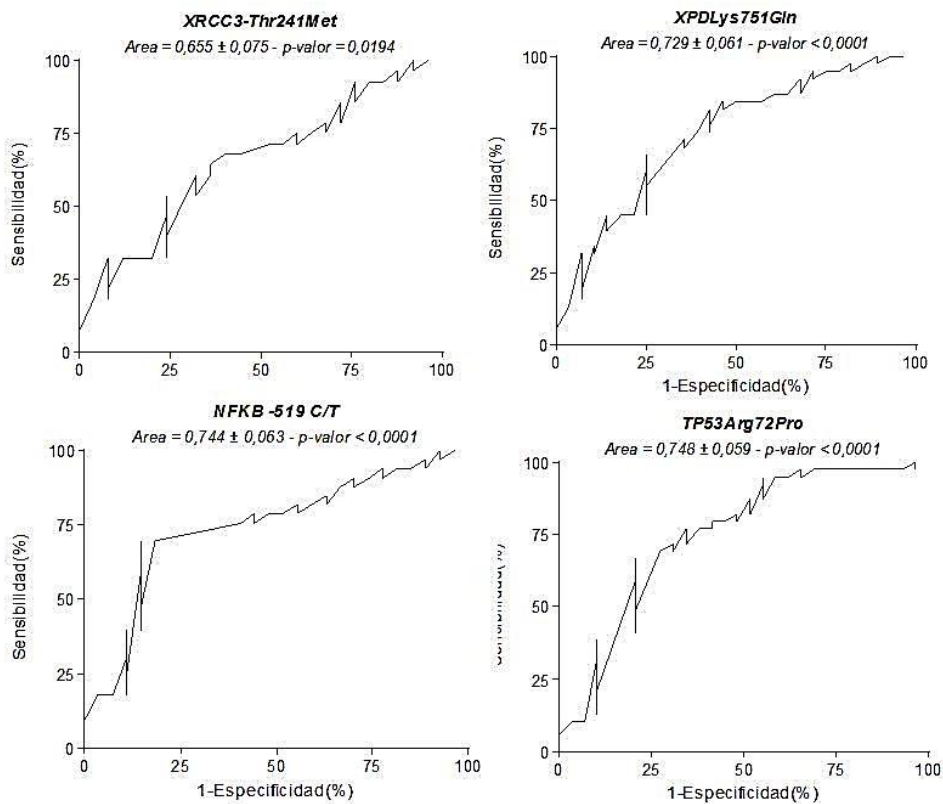


Figura 15. EVALUACIÓN DE MARCADORES GENÉTICOS ASOCIADOS A CÁNCER ORAL PARA LA PREDICCIÓN DE RIESGO: Curvas ROC y su correspondiente valor del área bajo la curva para clasificar pacientes con CBCE (cáncer bucal de células escamosas) en relación a sus controles.

Por otra parte, el valor medio (mediana) de *score* de los controles fue de 4,5 de los pacientes con CEBC fue de 6 y de los pacientes con DPM fue de 5,5. El valor medio de los *scores* de pacientes con CEBC o DPM fueron significativamente mayores comparados con los controles ($p\text{-valor}_{\text{Mann Whitney CEBC}}=0,02$ y $p\text{-valor}_{\text{Mann Whitney DPM}}=0,04$).

Posteriormente, se estableció el valor de la mediana de los controles como punto de corte para convertir la variable cuantitativa “*score*” en cualitativa. El 75,6% de los pacientes con CEBC y el 64,5% de los pacientes con DPM presentaron puntajes mayores a 4,5.

A partir de aplicar un Método Multivariado Jerárquico de clasificación se obtuvo una tasa de error por clasificación cruzada del 24,39% para los pacientes con CBCE y del 36,4% para los pacientes con DPM (Figura 16).

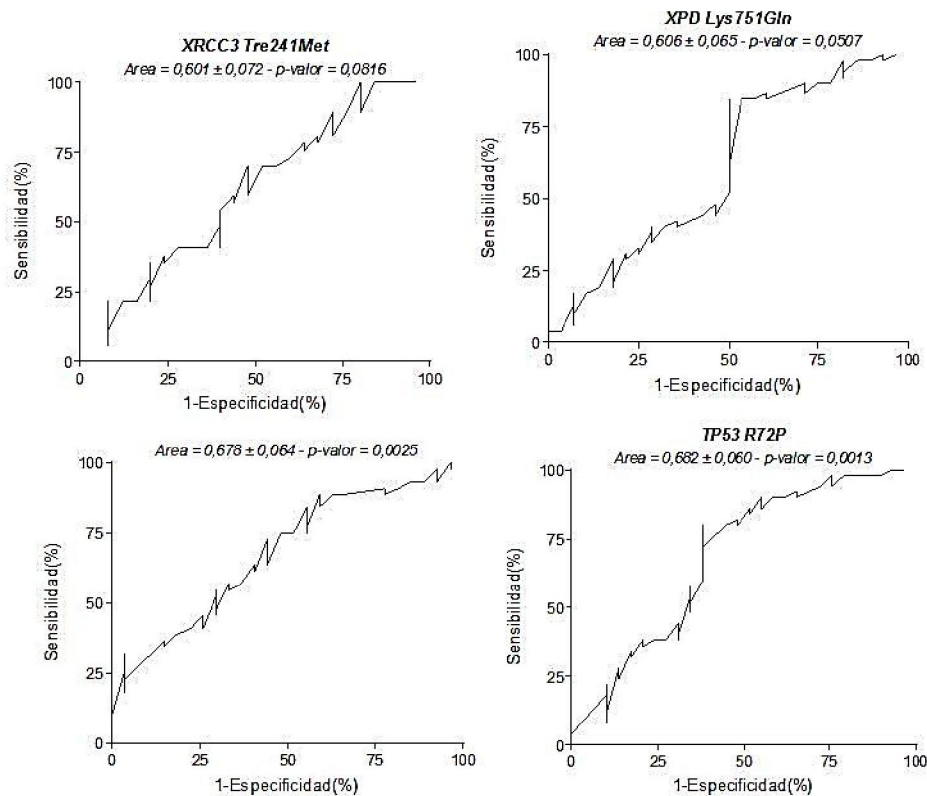


Figura 16. EVALUACIÓN DE MARCADORES GENÉTICOS ASOCIADOS A CÁNCER ORAL PARA LA PREDICCIÓN DE RIESGO: Curvas ROC y su correspondiente valor del área bajo la curva para clasificar pacientes con DPM (desórdenes potencialmente malignos) en relación a sus controles.

De todos los sujetos controles 6 tuvieron una puntuación 0 es decir no presentaron ninguna variante genética mientras que de los CBCE solo dos tuvieron puntaje 0 y de los PDM solo 3.

Los puntajes obtenidos fueron significativamente diferentes entre el grupo control (mediana=8) y CBCE (median=10,5) (p-value Wilcoxon test=0,0026); y entre los controles (mediana=7,5) y los pacientes con DPM (mediana=11) (p-value Wilcoxon test=0,0006).

Sin embargo, cuando se compararon los valores medios de los grupos CBCE y DPM no se observaron diferencias significativas (p-value Wilcoxon test=0,7625). Aplicando la regresión logística a fin de obtener una medida de asociación se observó que los scores obtenidos tanto para CBCE y PMD estaban asociados a la presencia de lesión maligna (OR=1,8; 95%CI [1,1; 1,3]; p=0,003) o pre-maligna (OR=1,7; 95%CI [1,1; 1,3]; p=0,002).

Discusión

Las enfermedades humanas complejas como el cáncer oral y sus diversas respuestas biológicas se han relacionado con múltiples polimorfismos (Bhowmik et al. 2015). Este trabajo estudió las frecuencias alélicas y genotípicas de polimorfismos del codón 72 de TP53, el codón 751 de XPD, el codón 241 de XCCR3 y NFK β -519 en pacientes con CBCE y DPM. Hasta donde sabemos, no existe literatura científica sobre caracterización de la población en Córdoba, Argentina, de los polimorfismos genéticos evaluados en este estudio, o en relación con las variaciones que se pueden observar en una población de pacientes con cáncer de cavidad oral.

La población argentina actual tiene un origen étnico heterogéneo, conferido principalmente por oleadas de inmigrantes europeos y su integración con la población nativa (Rivera 2015). 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 (Rivera 2015; Luisi et al. 2020)

TP53 R72P

La población cordobesa mostró altas frecuencias del alelo G de TP53 R72P, corroborando nuestros propios estudios previos (Zarate et al. 2017) y otros (Tsai et al. 2002; Hou et al. 2015). 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 (Tsai et al. 2002). Poblaciones como la población 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 (Hou et al. 2015).

Un gran número de estudios epidemiológicos han relacionado al SNP 72 (R72P) TP53 y en su mayoría han asociado la variante prolixa del codón 72 al riesgo de desarrollar cáncer y, también, se ha sugerido diferencias de cómo influye el R72P TP53 en relación a la especificidad de tejidos a la exposición de diferentes carcinógenos medioambientales (Sarkar et al. 2014).

XPB Lys751Gln

El XPD Lys751Gln SNP presentó proporciones significativamente diferentes en cada grupo de estudio. La frecuencia alélica de Gln (variante genética) varió; con 10% en pacientes con CBCE, 9% en controles y 5% en pacientes con DPM (Tabla 2). El alelo Gln es el más común de los 5 polimorfismos descritos para este gen, con una frecuencia de alelos del 22% (Köberle et al. 2016). Sin embargo, no se observó asociación entre los genotipos de XPD Lys751Gln y el caso o la condición de control.

Los estudios en cáncer colorrectal no mostraron asociación entre la variante 751Gln y este cáncer en pacientes polacos (Mucha et al. 2018). Sin embargo, los estudios realizados en el tracto digestivo y el cáncer de pulmón en poblaciones chinas mostraron una asociación entre el fenotipo Gln / Gln y el cáncer (Haina et al. 2014).

XRCC3 T241M

El alelo T del polimorfismo XRCC3 T241M mostró una proporción significativamente baja (3%) en los grupos de control y en pacientes con DPM. Se ha observado una proporción similar en poblaciones de China, India y Tailandia (Mandal & Mittal, 2018). Por otro lado, los genotipos más prevalentes, tanto en CBCE como en DPM, fueron CC y CT. Esto coincidió con los estudios realizados en poblaciones de descendientes de europeos, estadounidenses e italianos en Brasil (Duarte et al. 2005; dos Santos Pereira et al. 2016).

El polimorfismo XRCC3 T241M involucrado en la reparación de rotura de doble cadena (DSB) también se ha estudiado en pacientes con HNSCC con resultados contradictorios (Farnebo et al. 2015). En relación con la presencia del polimorfismo SNP XRCC3T241M exón 7 y DPM / CBCE, no observamos una asociación significativa entre estas patologías y este polimorfismo. Otros autores encontraron esta asociación en el cáncer de vejiga (Impronta et al. 2008), cáncer de pulmón y colorrectal (Kietthubthew et al. 2006) y en el carcinoma de células epiteliales (Mandal et al. 2010). En un estudio sobre varios SNP de reparación de ADN en pacientes con HNSCC, se observó que XRCC3 T241M se correlaciona significativamente con la edad de inicio. Este SNP se relacionó con pacientes menores de 45 años con el alelo T (Kostrzewska-Poczekaj et al. 2013). En nuestro estudio, la mayoría de los sujetos (80% en promedio) eran mayores de 45 años.

NFKB-519

En relación con el SNP NFKB-519, se observaron proporciones significativamente diferentes de los genotipos identificados en los pacientes con DPM, y particularmente el genotipo heterocigoto se identificó en estos pacientes, a diferencia de los controles y los pacientes con CBCE, donde este genotipo no se detectó. En estudios en pacientes con carcinoma hepatocelular, se observó una asociación significativa entre la presencia de este polimorfismo y la patología (He et al. 2013); sin embargo, en otro estudio, no se observó una relación significativa entre la presencia de este polimorfismo y HNSCC (Brunotto et al. 2014).

Relación de los polimorfismos estudiados

La gráfica AMC mostró que los pacientes con CBCE o DPM estaban relacionados con la presencia del alelo heterocigoto y homocigoto mutado de TP53 R72P y NFKβ-519 y genes de reparación de ADN heterocigotos XRCC3 y XPD.

La presencia del alelo T de XRCC3 241M, que produce un cambio de aminoácidos de treonina a metionina, tiene un impacto biológico en la función de la enzima y/o la interacción con otras proteínas involucradas en el daño y reparación del ADN (Matullo et al. 2001). El gen XRCC3 es uno de los genes que participan en la vía de reparación de la escisión de base (BER) del ADN, que es un mecanismo de primera línea que evita la inestabilidad del genoma, ya que contribuye a la defensa celular contra la mayoría de las fuentes endógenas y exógenas de lesiones genotóxicas. La reparación BER en las lesiones de la base se inicia por una glucosilasa de ADN específica del daño, que elimina la base aberrante (Poletto et al. 2016). Además, los pacientes con CBCE están relacionados con la presencia del alelo C (variante genética) de TP53R72P. Se sabe que el genotipo heterocigoto puede estar asociado con un alto riesgo de desarrollar CBCE y DPM (Zarate et al. 2017). Esto puede deberse a que el alelo C de TP53R72P es menos eficiente en la supresión de la transformación celular y lleva más tiempo inducir la apoptosis. Sin embargo, numerosos estudios que relacionan TP53R72P con cáncer han llevado a resultados controvertidos. En un estudio realizado en Taiwán, se informó que el fenotipo Arg / Arg aumenta el riesgo de desarrollar CBCE 2.7 veces (Bau et al. 2007). En un estudio realizado en el norte de Irán, no encontraron una asociación significativa entre los genotipos TP53R72P y CBCE (Hou et al. 2015). Otros autores hicieron observaciones similares en estudios realizados en una población blanca no hispana y en una población indígena con carcinomas de cabeza y cuello (Sina et al.

2014; Shen et al. 2002; Katiyar et al. 2003). Por otro lado, Twu et al. 2006 informó que el genotipo heterocigoto G / C está asociado con un mayor riesgo de carcinoma de células escamosas hipofaríngeas en una población de Taiwán.

Varios estudios han relacionado p53 con mecanismos de reparación de ADN. Estos mostraron que el ADN no reparado por roturas de cadena sencilla desencadena una regulación negativa dependiente de p53 / Sp1 de APE1. Esta última es la endonucleasa responsable de la incisión del ADN durante la BER. Es importante tener en cuenta que, si la función de p53 se ve afectada, conduce a una falla en la coordinación de BER (Poletto et al. 2016; Williams & Schumacher 2016).

Los pacientes diagnosticados con DPM se asociaron con la presencia del genotipo heterocigoto de NFK β SNP. Las patologías como el liquen oral se han asociado con procesos inflamatorios crónicos (Williams & Schumacher 2016; Fouad & Aanei 2017). Del total de DPM incluidos en este estudio, el 64% eran OL. Además, se sabe que el factor de transcripción NF- κ B regula múltiples aspectos de las funciones inmunes innatas y adaptativas y sirve como mediador fundamental de las respuestas inflamatorias (Ganesh et al. 2018).

Nuestros resultados indican que los roles que desempeñan los polimorfismos en el cáncer o el desarrollo precanceroso son diferentes en diferentes poblaciones; Por lo tanto, es posible que las variaciones se deban a diferencias geográficas, así como a factores como el alcohol, el consumo de tabaco y el estilo de vida. Los datos obtenidos en los numerosos estudios sobre polimorfismos en genes de reparación de ADN no siempre coinciden. Esto hecho sugiere que el equilibrio específico entre las señales apoptóticas y los efectos de la reparación son diferente en los distintos tejidos. Las variantes menos eficientes pueden dar lugar a señales de protección en algunos tejidos, mientras que en otros pueden activar factores de riesgo.

Por otra parte, un aspecto relevante en la prevención del cáncer es identificar las susceptibilidades individuales para el desarrollo del cáncer a través del perfil genómico. Este proporciona información importante sobre los mecanismos que conducen al cáncer que en última instancia pueden facilitar nuevas vías para prevenir esta enfermedad.

Se obtuvo con un punto de corte para CBCE o DPM de 4.5; es decir que un paciente con *scores* mayores a los puntos de corte establecidos tendría más riesgo de presentar CBCE/DPM. Probablemente porque las variantes mutadas generarían condiciones más propicias para la malignidad celular (Figura 17).

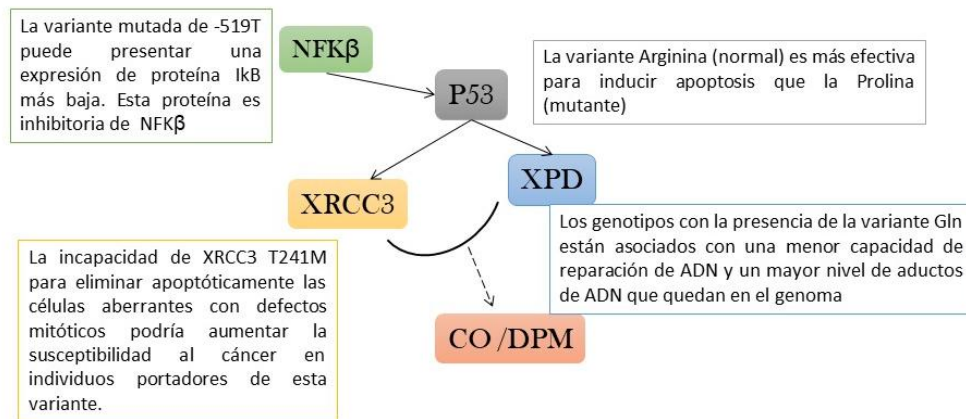


Figura 17. Resumen de los distintos efectos biológicos de cada uno de los SNPs

En general varios estudios, incluidos los nuestros (Zarate et al. 2017), demuestran que el gen *TP53* es un punto pivotante relacionado con procesos inflamatorios y de reparación de ADN (Merkel et al. 2017). Se conoce que, aproximadamente, el 90% de los polimorfismos del *TP53* están ubicados en secuencias no codificantes. Uno de los polimorfismos más estudiados en poblaciones humanas, como anteriormente se mencionó, es el SNP del codón 72 (R72P). Particularmente, se ha estudiado la asociación entre la presencia de este SNP y la susceptibilidad de los individuos para desarrollar cáncer. Una década atrás, un estudio reportó una fuerte relación entre la presencia del SNP *TP53* R72P en una población de mujeres y el desarrollo de cáncer cervical. Este estudio mostró que la oncoproteína E6 del Virus del Papiloma Humano (HPV) en la mucosa del cérvix de las mujeres causaba la degradación de las células con haplotipos arginina (Tommasino et al. 2003). Este estudio fue el inicio de una serie de investigaciones acerca de la susceptibilidad de los portadores del alelo prolina para desarrollar diferentes tipos de cánceres o fenotipos malignos. Además, también se ha relacionado el SNP *TP53*-72P al desarrollo de cáncer de cabeza y cuello en personas de edades menores a 50 años o con peores pronósticos en el desarrollo del cáncer (Jones et al. 2004; Shen et al. 2002).

Se ha sugerido que el polimorfismo del codón 72 con mutaciones sin sentido podría afectar las propiedades de la proteína mutante TP53. Las formas mutantes asociadas a tumores, alterarían la conformación de TP53, haciendo que se una al factor de transcripción pro-apoptótico p73α y se inhiba la actividad de la proteína. Esta propiedad nociva adquirida se potencia cuando la mutación somática está en la variante genética

R72, aumentando la interrupción de la actividad apoptótica de p73 α (Bergamaschi et al. 2003; Marin et al. 2000; Zawlik et al. 2008; Vikhanskaya et al. 2005; Whibley et al. 2009). Por otra parte, la relación entre TP53 y los otros genes que estudiamos (*NF-kB*, *XPB* y *XRCC3*) ha sido investigada.

Varios estudios han establecido la existencia de una interrelación primordial entre el NF-kB y el TP53 para la regulación del metabolismo celular de células cancerosas (Mauro et al. 2011; Kawauchi et al. 2008). En las células que portan el tipo salvaje TP53, el NF-kB estimula la respiración mitocondrial a través de la síntesis de citocromo c oxidasa 2 (SCO2, del inglés synthesis of cytochrome c oxidase 2), contrariamente en las células deficientes en TP53, el NF-kB suprime la fosforilación oxidativa y promueve la glicólisis por inducción de los genes de *GLUT3*, cuyos productos estimulan en efecto Warburg (las células cancerosas utilizan la glucólisis para generar lactato en condiciones de normoxia celular) (Taniguchi & Karin, 2018).

Varios autores han informado que el TP53 modula la actividad helicasa de XPB y XPD. Experimentos *in vitro* demostraron que TP53 puede disminuir la actividad helicasa de XPB y XPD (Williams & Schumacher, 2016).

Igualmente, en estudios observacionales se ha observado que la presencia de SNP de *TP53* y *XRCC3* son relevantes para que los individuos caucásicos sean susceptibles de desarrollar cáncer gástrico o CBCE (Carrera-Lasfuentes et al. 2017; dos Santos Pereira et al. 2015). Por otra parte, estudios experimentales mostraron que la variante genética *XRCC3* 241M es deficiente en eliminar apoptóticamente células con defectos mitóticos, lo cual podría incrementar la susceptibilidad de los individuos portadores de esta variante; asimismo se ha relacionado este SNP con la regulación del ciclo celular por el TP53 (Lindh et al. 2006).

Sobre valores de riesgo de desarrollo de CBCE y DPM

La decisión clínica es un proceso activo, direccionado y espontáneo que se da en la mente del clínico cuando interacciona con un paciente (Elogavan et al. 2018). Actualmente existen herramientas que hacen que estas decisiones se basen en literatura científica. Entre estos reportes científicos se pueden mencionar los diversos estudios realizados para encontrar valores de puntajes de identificación temprana de sujetos de riesgo o de seguimiento de pacientes diagnosticados con cánceres de cabeza y cuello (Reis et al. 2011; Xing et al. 2020).

La obtención de puntajes ha sido utilizada en los diferentes tipos de cánceres que afectan al ser humano como el de cabeza y cuello (Xing et al. 2020). Además, varios

autores han utilizado diferentes técnicas para obtener puntajes de riesgo orientados a predecir diferentes situaciones que se presentan en esta patología, como son la invasión linfovascular, la sobrevida, la localización de la lesión, etc. (Xing et al. 2020; Alabi et al. 2020; Wang et al. 2020).

En esta investigación se obtuvo, mediante valores del área bajo la curva ROC de cada SNP estudiado, un punto de corte para CBCE o DPM de 4,5; es decir que un paciente con puntajes o *scores* mayores a este punto de corte presentaría más riesgo de desarrollar CBCE o DPM. Además, los puntajes de riesgo de CBCE y DPM fueron similares, indicando claramente que las lesiones pre-malignas presentan modificaciones moleculares y celulares similares a las lesiones malignas (González et al. 2015).

A modo de ejemplo, cabe destacar que el puntaje por sí solo puede ser relevante para identificar personas con mayor riesgo de desarrollar tumores en cavidad bucal. Por ejemplo, el paciente *ID208* con CBCE presentó un puntaje de 6 puntos (mutaciones en los genes TP53 y XPD) y factores de riesgo asociados como sexo masculino y fumar tabaco. Contrariamente el paciente *ID502* con CBCE (sexo femenino, no fumaba tabaco ni consumía alcohol), con el máximo puntaje de riesgo (10 puntos), es decir que presentaba la variante mutada en los 4 SNPs, pero no presentaba otros factores de riesgo. Los puntajes para cada paciente son sugerentes de que la composición genética de los individuos es un aspecto importante a considerar. Otras investigaciones han utilizado SNPs como predictores de diferentes aspectos en el desarrollo, diagnóstico, seguimiento y sobrevida de pacientes con cáncer. Por ejemplo, en una investigación se estudió el poder predictivo de un clasificador basado en 6 SNP para determinar la recurrencia de carcinoma de células renales después de la cirugía, obteniendo resultados promisorios a ser utilizados en la clínica para la toma de decisiones de tratamientos más personalizados (Wei et al. 2019).

Si bien este estudio fue de corte transversal, de acuerdo a los protocolos terapéuticos y códigos de ética vigentes, algunos pacientes diagnosticados con DPM fueron controlados en otros momentos después de la primera consulta y toma de muestra. Estos pacientes (n=8), al cabo de un año en promedio dentro del periodo de este estudio, desarrollaron carcinoma a células escamosas, y fue notorio que algunos habían presentado un puntaje de riesgo mayor de 4,5.

Nosotros observamos que los pacientes con leucoplasias o líquenes orales presentaban en un 82% el alelo mutado (prolina); y en un porcentaje similar (85%) los pacientes con diagnóstico de CECB. En concordancia con nuestros resultados, estudios en muestras de pacientes con diagnóstico anatómico-patológico de líquen oral y CBCE mostraron que el SNP TP53 R72P es un factor predisponente para convertir el líquen oral en CBCE

(Tabatabaei et al. 2018). Otros estudios de pacientes con lesiones premalignas observaron que los polimorfismos de genes NER, como el *XPD*, o DSB, como *XRCC3*, contribuyen a que pacientes con diagnóstico de DMP sean susceptibles para desarrollar cáncer bucal (Wang et al. 2007; Yang et al. 2008).

Este trabajo muestra resultados auspiciosos que deberán ser confirmados en estudios que incluyan mayor número de pacientes y que pertenezcan a diferentes regiones de Argentina. Sin embargo, el clasificador basado en los cuatro SNPs estudiados podría ser un predictor práctico y confiable a implementar para la predicción de riesgo de CBCE y DPM; pudiendo guiar las decisiones de tratamiento o seguimiento de pacientes.

Una limitación de este estudio puede ser el número bastante pequeño de pacientes y controles incluidos, sin embargo, los resultados del mismo coinciden con las frecuencias alélicas de los genes *TP53* R72P o *XRCC3* T241M observados en muestras poblacionales más grandes de pacientes argentinos (Abba et al. 2003; Barbisan et al. 2011; Pérez et al. 2013).

Por otra parte, 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 (Beane et al. 2017).

Los esfuerzos que se realicen en la detección temprana y prevención del cáncer redundarán en mejorar las estrategias de monitoreo o *screening* basadas en el reconocimiento de factores ambientales y genómicos (Loomans-Kropp & Umar 2019).

Conclusión

Nuestros resultados nos permiten concluir:

Sobre distribución de genotipos de los SNP estudiados

- a. En general, la **frecuencia de los alelos denominados “sanos” de los SNPs estudiados fueron los más frecuentes en la población bajo estudio.**
- b. En relación al SNP del **codón 72 del gen TP53, la población de Córdoba mostró 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.
- c. El **alelo T (variante mutada) del polimorfismo XRCC3T241M presentó una proporción significativamente baja (3%)** en los grupos de control y en pacientes con DPM, con proporciones similares a las observadas en poblaciones de descendientes de europeos, estadounidenses e italianos en Brasil.
- d. Para el SNP **NFKB-519, el genotipo heterocigoto se observó solamente en los pacientes con DPM**, probablemente porque el grupo se compuso mayoritariamente de pacientes con Enfermedades Liquenoides que tienen una base inmunológica.
- e. El **SNP XPDlys751Gln mostró una frecuencia alélica de Gln (variante genética) en general baja** (10% en pacientes con CBCE, 9% en controles y 5% en pacientes con DMP).; este alelo es el más común de los 5 polimorfismos descritos para este gen y que en general tiene una frecuencia alélica del 22%.

Sobre las asociaciones con las patologías y los controles estudiadas

- a. El alelo C (variante mutada) de Pro72 de TP53 está relacionado con CBCE y DPM principalmente por el aumento del genotipo heterocigota.
- b. El alelo T (variante mutada) de NFKB-519 se observó relacionado con DMP tanto para la variante homo como heterocigota.
- c. En tanto que para los SNP de los genes de XPD y XRCC3 no se encontró una asociación significativa entre la patología y las variantes mutadas.

Sobre la predicción de riesgo de CO y DPM utilizando estos SNPs

El punto de corte para CBCE y DPM fue de 4.5. Esto se traduce en que un paciente con **scores mayores** a los puntos de corte establecidos tendría más riesgo de presentar CBCE/DPM. Probablemente porque las variantes mutadas generarían condiciones más propicias para la malignidad celular.

Determinando este score de riesgo en los pacientes que consultan en la práctica diaria se podría incluir a estos en protocolos de seguimiento más estrictos y se controlarían los factores de riesgo externos como tabaco y alcohol.

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

Bibliografía

- Abba, M.C., Villaverde. L.M., Gómez, M.A., Dulout, F.N., Laguens, M.R., Golijow, C.D. The p53 codon 72 genotypes in HPV infection and cervical disease. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2003; 109(1), 63-6. [https://doi.org/10.1016/S0301-2115\(02\)00474-8](https://doi.org/10.1016/S0301-2115(02)00474-8).
- Abbotts R, Wilson DM 3rd. Coordination of DNA single strand break repair. *Free Radic Biol Med.* 2017; 107:228-244. doi:10.1016/j.freeradbiomed.2016.11.039
- Ali J, Sabiha B, Jan HU, Haider SA, Khan AA, Ali SS. Genetic etiology of oral cancer. *Oral Oncol.* 2017; 70:23-28. doi:10.1016/j.oraloncology.2017.05.004
- Argiris A, Karamouzis MV, Raben D, Ferris RL. Head and neck cancer. *Lancet.* 2008;371(9625):1695-1709. doi:10.1016/S0140-6736(08)60728-X, Takuji Tanaka 2011)
- Barbisan, G., Contreras, A., Pérez, L.O., Difranza, L., Golijow, C.D (2011). The effect of TP53 codon 72 and RNASEL codon 462 polymorphisms on the development of cervical cancer in Argentine women. *Cancer Genet.* 204 (5), 270-7. <https://doi.org/10.1016/j.cancergen.2011.04.001>
- 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
- 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.
- Beane J, Campbell JD, Lei 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
- Bergamaschi D, Gasco M, Hiller L, et al. p53 polymorphism influences response in cancer chemotherapy via modulation of p73-dependent apoptosis. *Cancer Cell.* 2003;3(4):387-402. doi:10.1016/s1535-6108(03)00079-5
- Beynon RA, Lang S, Schimansky S, et al. Tobacco smoking and alcohol drinking at diagnosis of head and neck cancer and all-cause mortality: Results from head and neck 5000, a prospective observational cohort of people with head and neck cancer. *Int J Cancer.* 2018;143(5):1114-1127. doi:10.1002/ijc.31416
- Biegging KT, Mello SS, Attardi LD. Unravelling mechanisms of p53-mediated tumour suppression. *Nat Rev Cancer.* 2014;14(5):359-370. doi:10.1038/nrc3711
- Borsos BN, Majoros H, Pankotai T. Emerging Roles of Post-Translational Modifications in Nucleotide Excision Repair. *Cells.* 2020;9(6):1466. Published 2020 Jun 15. doi:10.3390/cells9061466

- Bosetti C, Malvezzi M, Chatenoud L, Negri E, Levi F, La Vecchia C. Trends in cancer mortality in the Americas, 1970-2000. *Ann Oncol.* 2005;16(3):489-511. doi:10.1093/humrep/mdi086
- Botstein D, Risch N. Discovering genotypes underlying human phenotypes: past successes for mendelian disease, future approaches for complex disease. *Nat Genet.* 2003;33 Suppl:228-237. doi:10.1038/ng1090
- Bouvard V, Baan R, Straif K, Grosse Y, Secretan B, El Ghissassi F, et al. A review of human carcinogens--Part B: biological agents. *Lancet Oncol* 2009;10:321-2
- Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, Siegel RL, Torre LA, Jemal A. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin.* 2018;68(6):394-424.
- Brenneman MA, Weiss AE, Nickoloff JA, Chen DJ. XRCC3 is required for efficient repair of chromosome breaks by homologous recombination. *Mutat Res.* 2000;459(2):89-97. doi:10.1016/s0921-8777(00)00002-1
- 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.
- 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.x
- Brunotto M, Zarate AM, Bono A, Barra JL, Berra S. Risk genes in head and neck cancer: a systematic review and meta-analysis of last 5 years. *Oral Oncol.* 2014;50(3):178-188. doi:10.1016/j.oraloncology.2013.12.007
- Brunotto M, Zarate AM. Modelo predictivo para enfermedades complejas [Predictive models for complex diseases]. *Rev Fac Cien Med Univ Nac Cordoba.* 2012;69(1):33-41.
- Carioli G, La Vecchia C, Bertuccio P, et al. Cancer mortality predictions for 2017 in Latin America. *Ann Oncol.* 2017;28(9):2286-2297. doi:10.1093/annonc/mdx301
- Carrera-Lasfuentes P, Lanás A, Bujanda L, et al. Relevance of DNA repair gene polymorphisms to gastric cancer risk and phenotype. *Oncotarget.* 2017;8(22):35848-35862. doi:10.18632/oncotarget.16261
- Cheng S, Wang L, Wang L, Wang Z. Association of XRCC3 gene rs861539 polymorphism with gastric cancer risk: evidence from a case-control study and a meta-analysis. *Int J Clin Exp Pathol.* 2015. 1;8 (2):1911-9.
- Choi S, Myers JN. Molecular pathogenesis of oral squamous cell carcinoma: implications for therapy. *J Dent Res.* 2008;87(1):14-32. doi:10.1177/154405910808700104

- Choudhari SK, Chaudhary M, Gadbail AR, Sharma A, Tekade S. Oxidative and antioxidative mechanisms in oral cancer and precancer: A review. *Oral Oncology*. 2014; 50(1):10-188
- Clarkson SG, Wood RD. Polymorphisms in the human XPD (ERCC2) gene, DNA repair capacity and cancer susceptibility: an appraisal. *DNA Repair (Amst)*. 2005;4(10):1068-1074. doi:10.1016/j.dnarep.2005.07.001
- Cohen N, Fedewa S, Chen AY. Epidemiology and Demographics of the Head and Neck Cancer Population. *Oral Maxillofac Surg Clin North Am*. 2018;30(4):381-395. doi:10.1016/j.coms.2018.06.001
- Comel A, Sorrentino G, Capaci V, Del Sal G. The cytoplasmic side of p53's oncosuppressive activities. *FEBS Lett*. 2014;588(16):2600-2609. doi:10.1016/j.febslet.2014.04.015
- Concetti J, Wilson CL. NFKB1 and Cancer: Friend or Foe? *Cells*. 2018;7(9):133. Published 2018 Sep 7. doi:10.3390/cells7090133
- 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. Doi.org/10.1177/2057178X16653761
- de la Cour CD, Sperling CD, Belmonte F, Syrjänen S, Verdoodt F, Kjaer SK. Prevalence of human papillomavirus in oral epithelial dysplasia: Systematic review and meta-analysis. *Head Neck*. 2020;10.1002/hed.26330. doi:10.1002/hed.26330
- Diakos CI, Charles KA, McMillan DC, Clarke SJ. Cancer-related inflammation and treatment effectiveness. *Lancet Oncol*. 2014; 15(11):e493-503.
- Dos Santos Pereira, J., Fontes, F.L., de Medeiros, S.R., de Almeida Freitas, R., de Souza, L.B., da Costa Miguel, M.C (2016). Association of the XPD and XRCC3 gene polymorphisms with oral squamous cell carcinoma in a Northeastern Brazilian population: A pilot study. *Arch Oral Biol*. 64,19-23. <https://doi.org/10.1016/j.archoralbio.2015.12.004>.
- Echeverri R, Nancy P, Mockus S, Ismena. Factor nuclear κB (NF-κB): signalosoma y su importancia en enfermedades inflamatorias y cáncer. *Rev.Fac.Med*. 2008; 56 (2):133-146.
- Elangovan S, Guzman-Armstrong S, Marshall TA, Johnsen DC. Clinical decision making in the era of evidence-based dentistry. *J Am Dent Assoc*. 2018;149(9):745-747. doi:10.1016/j.adaj.2018.06.001

- Engku Nasrullah Satiman EAF, Ahmad H, Ramzi AB, et al. The role of *Candida albicans* candidalysin ECE1 gene in oral carcinogenesis. *J Oral Pathol Med.* 2020;10.1111/jop.13014. doi:10.1111/jop.13014
- Erichsen HC, Chanock SJ. SNPs in cancer research and treatment. *Br J Cancer.* 2004;90(4):747-751. doi:10.1038/sj.bjc.6601574
- Escárcega RO, Fuentes-Alexandro S, GarcíaCarrasco M, Gatica A, Zamora A. The transcription factor nuclear factor kappa B and cancer. *Clin Oncol (R Coll Radiol)* 2007;19(2):154-161.
- Fan Wang, Dong Chang, Fu-lan Hu, Hong Sui, Bing Han, Dan-dan li, and Ya-shuang Zhao. DNA Repair Gene XPD Polymorphisms and Cancer Risk: A Meta-analysis Based on 56 Case-Control Studies. Department of Epidemiology, Public Health College, Harbin Medical University, Harbin, Heilongjiang Province, People's Republic of China. doi:10.1158/1055-9965.EPI-07-2507
- Faraji F, Zaidi M, Fakhry C, Gaykalova DA. Molecular mechanisms of human papillomavirus-related carcinogenesis in head and neck cancer. *Microbes Infect.* 2017 Sep-Oct;19(9-10):464-475. doi: 10.1016/j.micinf.2017.06.001).
- Farnebo L, Stjernström A, Fredrikson M, Ansell A, Garvin S, Thunell LK. DNA repair genes XPC, XPD, XRCC1, and XRCC3 are associated with risk and survival of squamous cell carcinoma of the head and neck. *DNA Repair (Amst).* 2015;31:64–72. doi:10.1016/j.dnarep.2015.05.003.
- Ferlay J, Soerjomataram I, Dikshit R, Eser S, Mathers C, Rebelo M, et al. Cancer incidence and mortality worldwide: sources, methods and major patterns. 2012
- Fischer M. Census and evaluation of p53 target genes *Oncogene* 2017; 36:3943-56.
- Forget AL, Bennett BT, Knight KL. Xrcc3 is recruited to DNA double strand breaks early and independent of Rad51. *J Cell Biochem.* 2004;93(3):429-436. doi:10.1002/jcb.20232
- Fouad, Y.A. & Aanei, C. (2017) Revisiting the hallmarks of cancer. *American Journal of Cancer Research.* 7(5), 1016–36.
- Friedberg EC. A history of the DNA repair and mutagenesis field: The discovery of base excision repair. *DNA Repair (Amst).* 2016;37:A35-A39. doi:10.1016/j.dnarep.2015.12.003
- Gabriel S. Population genetic tools: application to cancer. *Semin Oncol.* 2007;34(2 Suppl 1):S21-S24. doi:10.1053/j.seminoncol.2007.01.008

- Galbiatti AL, Padovani-Junior JA, Manóglia JV, Rodrigues CD, Pavarino C, Goloni-Bertollo EM. Head and neck cancer: causes, prevention and treatment. *Braz J Otorhinolaryngol* 2013;79:239–47.
- Ganesh, D., Sreenivasan, P., Öhman, J., Wallström, M., Braz-Silva, P.H., Giglio, D., Kjeller, G., Hasséus, B. (2018) Potentially Malignant Oral Disorders and Cancer Transformation. *Anticancer Res.* 38(6):3223-29. <https://doi.org/10.21873/anticancerres.12587>.
- Gilmore TD. Introduction to NF-kappaB: players, pathways, perspectives. *Oncogene.* 2006;25(51):6680-6684. doi:10.1038/sj.onc.1209954
- Global action plan for the prevention and control of noncommunicable diseases 2013-2020. World Health Organization. ISBN 978 92 4 150623 6. Acceso: 15 agosto 2020. Disponible en: https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/94384/9789241506236_eng.pdf;jsessionid=ECE44745178746338A7CDF4988117067?sequence=1
- GLOBOCAN: Estimated Cancer Incidence. *Mortality and Prevalence Worldwide in 2018*. International Agency for Research on Cancer; 2018 Available from: <https://gco.iarc.fr/today/fact-sheets-populations>,
- 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
- Goss PE, Lee BL, Badovinac-Crnjevic T, et al. Planning cancer control in Latin America and the Caribbean. *Lancet Oncol.* 2013;14(5):391-436. doi:10.1016/S1470-2045(13)70048-2).
- Greaves M, Maley CC. Clonal evolution in cancer. *Nature.* 2012;481(7381):306-313. Published 2012 Jan 18. doi:10.1038/nature10762
- Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell.* 2011;144(5):646-674. doi:10.1016/j.cell.2011.02.013
- Hanahan D., Weinberg R.A. The hallmarks of cancer. *Cell.* 2000; 100:57–70. doi:10.1016/S0092-8674(00)81683-9
- Henry-Mowatt J, Jackson D, Masson JY, et al. XRCC3 and Rad51 modulate replication fork progression on damaged vertebrate chromosomes. *Mol Cell.* 2003;11(4):1109-1117. doi:10.1016/s1097-2765(03)00132-1
- Hoeijmakers JH. Genome maintenance mechanisms for preventing cancer. *Nature.* 2001;411(6835):366-374. doi:10.1038/35077232
- 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>.
- Jones A. The molecular cell biology of head and neck cancer with clinical applications. Section 1: Fundamental biology and the basis of cancer. *Clin Otolaryngol Allied Sci.* 2004;29(5):475-491. doi:10.1111/j.1365-2273.2004.00834.x
- Katiyar, S., Thelma, B.K., Murthy, N.S., Hedau, S., Jain, N., Gopalkrishna, V., Das, B.C.(2003). 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.* 252, 117-24
- Kawakita D, Matsuo K. Alcohol and head and neck cancer. *Cancer Metastasis Rev.* 2017;36(3):425-434. doi:10.1007/s10555-017-9690-0
- Kawauchi K, Araki K, Tobiume K, Tanaka N. Activated p53 induces NF-kappaB DNA binding but suppresses its transcriptional activation. *Biochem Biophys Res Commun.* 2008;372(1):137-141. doi:10.1016/j.bbrc.2008.05.021
- Kim S, Guo J, O'Sullivan MG, Gallaher DD, Turesky RJ. Comparative DNA adduct formation and induction of colonic aberrant crypt foci in mice exposed to 2-amino-9H-pyrido[2,3-b]indole, 2-amino-3,4-dimethylimidazo[4,5-f]quinoline, and azoxymethane. *Environ Mol Mutagen.* 2016;57(2):125-136. doi:10.1002/em.21993
- Kolodner RD. A personal historical view of DNA mismatch repair with an emphasis on eukaryotic DNA mismatch repair. *DNA Repair (Amst).* 2016;38:3-13. doi:10.1016/j.dnarep.2015.11.009
- Krupa R, Synowiec E, Pawlowska E, et al. Polymorphism of the homologous recombination repair genes RAD51 and XRCC3 in breast cancer. *Exp Mol Pathol.* 2009;87(1):32-35. doi:10.1016/j.yexmp.2009.04.005
- Lans, H.; Hoeijmakers, J.H.J.; Vermeulen, W.; Marteijn, J.A. The DNA damage response to transcription stress. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **2019**, 20, 766–784.
- Lee TH, Kang TH. DNA Oxidation and Excision Repair Pathways. *Int J Mol Sci.* 2019;20(23):6092. Published 2019 Dec 3. doi:10.3390/ijms20236092
- Lehmann AR. DNA repair-deficient diseases, xeroderma pigmentosum, Cockayne syndrome and trichothiodystrophy. *Biochimie.* 2003;85(11):1101-1111. doi:10.1016/j.biochi.2003.09.010
- Li CC, Shen Z, Bavarian R, Yang F, Bhattacharya A. Oral Cancer: Genetics and the Role of Precision Medicine. *Surg Oncol Clin N Am.* 2020;29(1):127–144. doi:10.1016/j.soc.2019.08.010
- Lindenmann J, Fink-Neuboeck N, Taucher V, et al. Prediction of Postoperative Clinical Outcomes in Resected Stage I Non-Small Cell Lung Cancer Focusing on the

- Preoperative Glasgow Prognostic Score. *Cancers (Basel)*. 2020;12(1): E152. Published 2020 Jan 8. doi:10.3390/cancers12010152.
- Lindh AR, Rafii S, Schultz N, Cox A, Helleday T. Mitotic defects in XRCC3 variants T241M and D213N and their relation to cancer susceptibility. *Hum Mol Genet*. 2006;15(7):1217-1224. doi:10.1093/hmg/ddl037
- Liou DM, Chang WP. Applying data minign for the analysis of breast cancer data. *Methods Mol Biol*.2015; 1246:175-189- doi 10.1007/978-1-4939-1985-7_12
- 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
- Loomans-Kropp HA, Umar A. Cancer prevention and screening: the next step in the era of precision medicine. *NPJ Precis Oncol*. 2019;3:3. Published 2019 Jan 28. doi:10.1038/s41698-018-0075-9.
- Luisi P, García A, Berros JM, Motti JMB, Demarchi DA, Alfaro E, Aquilano E, Argüelles C, Avena S, Bailliet G, Beltramo J, Bravi CM, Cuello M, Dejean C, Dipierri JE, Jurado Medina LS, Lanata JL, Muzzio M, Parolin ML, Pauro M, Paz Sepúlveda PB, Rodríguez Golpe D, Santos MR, Schwab M, Silvero N, Zubrzycki J, Ramallo V, Dopazo H. Fine-scale genomic analyses of admixed individuals reveal unrecognized genetic ancestry components in Argentina. *PLoS One*. 2020 Jul 16;15(7):e0233808. doi:10.1371/journal.pone.0233808.
- Marin MC, Jost CA, Brooks LA, et al. A common polymorphism acts as an intragenic modifier of mutant p53 behaviour. *Nat Genet*. 2000;25(1):47-54. doi:10.1038/75586
- Matullo G, Palli D, Peluso M, et al. XRCC1, XRCC3, XPD gene polymorphisms, smoking and (32) P-DNA adducts in a sample of healthy subjects. *Carcinogenesis*. 2001;22(9):1437-1445. doi:10.1093/carcin/22.9.1437
- Mauro C, Leow SC, Anso E, et al. NF-κB controls energy homeostasis and metabolic adaptation by upregulating mitochondrial respiration. *Nat Cell Biol*. 2011;13(10):1272-1279. Published 2011 Aug 28. doi:10.1038/ncb2324
- Merkel O, Taylor N, Prutsch N, et al. When the guardian sleeps: Reactivation of the p53 pathway in cancer. *Mutat Res*. 2017;773:1-13. doi:10.1016/j.mrrev.2017.02.003
- Monaco R, Rosal R, Dolan MA, Pincus MR, Freyer G, Brandt-Rauf PW. Conformational effects of a common codon 751 polymorphism on the C-terminal domain of the xeroderma pigmentosum D protein. *J Carcinog*. 2009;8:12. doi:10.4103/1477-3163.54918
- Musonda P, Burbos N, Duncan TJ, Crocker SG, Morris EP, Nieto JJ. Comparing the performance of two clinical models in estimating the risk of endometrial cancer in

- symptomatic postmenopausal women. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2011;159(2):433–438. doi:10.1016/j.ejogrb.2011.09.005.
- Nadeau JH. Modifier genes in mice and humans. *Nat Rev Genet.* 2001;2(3):165-174. doi:10.1038/35056009
- Olivier M, Hussain SP, Caron de Fromentel 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.
- Osborne C, Tripathy D. Oncogenes and tumor suppressor genes in breast cancer. 2004, Knowles M. Oncogenes, in Selby Ka (ed) 2005
- Peres MA, Macpherson LMD, Weyant RJ, et al. Oral diseases: a global public health challenge [published correction appears in *Lancet.* 2019 Sep 21;394(10203):1010]. *Lancet.* 2019;394(10194):249–260. doi:10.1016/S0140-6736(19)31146-8
- Pérez, L.O., Crivaro, A., Barbisan, G., Poleri, L., Golijow, C.D (2013). XRCC2 R188H (rs3218536), XRCC3 T241M (rs861539) and R243H (rs77381814) single nucleotide polymorphisms in cervical cancer risk. *Pathol Oncol Res.* 19, 553-8. <https://doi.org/10.1007/s12253-013-9616-2>.
- Petersen PE. Strengthening the prevention of oral cancer: the WHO perspective. *Community Dent Oral Epidemiol.* 2005;33(6):397-399. doi:10.1111/j.1600-0528.2005.00251.x
- Piemonte ED, Lazos JP, Brunotto M. Relationship between chronic traumatism of the oral mucosa, oral potentially malignant disorders and oral cancer. *J Oral Pathol Med.* 2009; 39: 513–517.
- Poletto, M., Legrand, A.J., Fletcher, S.C., Dianov, G.L (2016). p53 coordinates base excision repair to prevent genomic instability. *Nucleic Acids Research.* 44(7), 3165-75. <https://doi.org/10.1093/nar/gkw015>.
- Reis PP, Waldron L, Perez-Ordonez B, et al. A gene signature in histologically normal surgical margins is predictive of oral carcinoma recurrence. *BMC Cancer.* 2011;11:437. Published 2011 Oct 11. doi:10.1186/1471-2407-11-437
- San Filippo J, Sung P, Klein H. Mechanism of eukaryotic homologous recombination. *Annu Rev Biochem.* 2008; 77:229-257. doi:10.1146/annurev.biochem.77.061306.125255
- Sanjaya PR, Gokul S, Gururaj Patil B, Raju R. Candida in oral pre-cancer and oral cancer. *Med Hypotheses.* 2011;77(6):1125-8. doi: 10.1016/j.mehy.2011.09.018.
- Santos EM, Santos HBP, de Matos FR, et al. Clinicopathological significance of SNPs in RAD51 and XRCC3 in oral and oropharyngeal carcinomas. *Oral Dis.* 2018; 23.

- 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
- Sarode G, Maniyar N, Sarode SC, Jafer M, Patil S, Awan KH. Epidemiologic aspects of oral cancer. *Dis Mon*. 2020;100988. doi:10.1016/j.disamonth.2020.100988)
- Sasahira T, Kirita T. Hallmarks of Cancer-Related Newly Prognostic Factors of Oral Squamous Cell Carcinoma. *Int J Mol Sci*. 2018;19(8):2413. Published 2018 Aug 16. doi:10.3390/ijms19082413
- Schild D, Lio YC, Collins DW, Tsomondo T, Chen DJ. Evidence for simultaneous protein interactions between human Rad51 paralogs. *J Biol Chem*. 2000;275(22):16443-16449. doi:10.1074/jbc.M001473200
- Scrima, A.; Konickova, R.; Czyzewski, B.K.; Kawasaki, Y.; Jeffrey, P.D.; Groisman, R.; Nakatani, Y.; Iwai, S.; Pavletich, N.P.; Thoma, N.H. Structural basis of UV DNA-damage recognition by the DDB1-DDB2 complex. *Cell* 2008, 135, 1213–1223.
- 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
- Shen, H., Zheng, Y., Sturgis, E.M., Spitz, M.R., Wei, Q (2002). P53 codon 72 polymorphism and risk of squamous cell carcinoma of the head and neck: a case-control study. *Cancer Lett*. 183(2),123-30. [https://doi.org/10.1016/S0304-3835\(02\)00117-9](https://doi.org/10.1016/S0304-3835(02)00117-9).
- 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*. 19(6), e550-5. <https://doi.org/10.4317/medoral.19794>.
- Sirisena ND, Dissanayake VHW. Focusing attention on ancestral diversity within genomics research: a potential means for promoting equity in the provision of genomics based healthcare services in developing countries. *J Community Genet*. 2017;8(4):275–281. doi:10.1007/s12687-017-0311-y
- Slomiany BL, Slomiany A. Proinflammatory Signaling Cascades of Periodontopathic Oral Pathogen Porphyromonas gingivalis. *Journal of Biosciences and Medicines*. 2018; 6:63-88. <https://doi.org/10.4236/jbm.2018.65009>

- Speight PM, Khurram SA, Kujan O. Oral potentially malignant disorders: risk of progression to malignancy. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol*. 2018;125(6):612-627. doi:10.1016/j.oooo.2017.12.011
- Sun SC. The non-canonical NF- κ B pathway in immunity and inflammation. *Nat Rev Immunol*. 2017;17(9):545-558. doi:10.1038/nri.2017.52
- Szkandera J, Absenger G, Liegl-Atzwanger B, et al. Common gene variants in RAD51, XRCC2 and XPD are not associated with clinical outcome in soft-tissue sarcoma patients. *Cancer Epidemiology* 2013; 37, 1003–09.
- Tabatabaei SH, Sheikhha MH, Karbasi MHA, Zarmehi S, Hoseini M. Evaluation of polymorphism of P53 protein codon 72 in oral lichen planus by PCR technique. *J Dent Res Dent Clin Dent Prospects*. 2018;12(4):245-251. doi:10.15171/joddd.2018.038
- Tanaka T, Ishigamori R. Understanding carcinogenesis for fighting oral cancer. *J Oncol*. 2011;2011:603740. doi:10.1155/2011/603740
- Taniguchi, K., Karin, M. NF- κ B, inflammation, immunity and cancer: coming of age. *Nat Rev Immunol* **18**, 309–324 (2018). <https://doi.org/10.1038/nri.2017.142>
- Tommasino M, Accardi R, Caldeira S, et al. The role of TP53 in Cervical carcinogenesis. *Hum Mutat*. 2003;21(3):307-312. doi:10.1002/humu.10178
- 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.
- Turnbull C, Hodgson S. Genetic predisposition to cancer. *Clin Med (Lond)*. 2005;5(5):491-498. doi:10.7861/clinmedicine.5-5-491
- 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 Formos Med Assoc*. 105(2), 99-104. [https://doi.org/10.1016/S0929-6646\(09\)60330-2](https://doi.org/10.1016/S0929-6646(09)60330-2).
- Vikhanskaya F, Siddique MM, Kei Lee M, Brogginini M, Sabapathy K. Evaluation of the combined effect of p53 codon 72 polymorphism and hotspot mutations in response to anticancer drugs. *Clin Cancer Res*. 2005;11(12):4348-4356. doi:10.1158/1078-0432.CCR-04-1547
- Wang S, Tian L, Zeng Z, et al. IkBalpha polymorphism at promoter región (rs2233408) Li et al. , 2018
- Warnakulasuriya S. Clinical features and presentation of oral potentially malignant disorders. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol*. 2018;125(6):582–590. doi:10.1016/j.oooo.2018.03.011

- Warnakulasuriya S. Oral potentially malignant disorders: A comprehensive review on clinical aspects and management. *Oral Oncol.* 2020;102:104550. doi:10.1016/j.oraloncology.2019.104550
- Wei X, Ren X, Ding Y, et al. Comparative outcomes of radio frequency ablation versus partial nephrectomy for T1 renal tumors: a systematic review. *Transl Androl Urol.* 2019;8(6):601-608. doi:10.21037/tau.2019.10.13
- Whibley C, Pharoah PD, Hollstein M. p53 polymorphisms: cancer implications. *Nat Rev Cancer.* 2009;9(2):95-107. doi:10.1038/nrc2584
- WHO Library Cataloguing-in-Publication Data. Prevention. (Cancer control: Knowledge into action: WHO guide for effective programmes; modulo 2). 2007.
- Williams, A. B., & Schumacher, B (2016). p53 in the DNA-Damage-Repair Process. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine.* 6: <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a026070>dem 42
- Xing L, Guo M, Zhang X, Zhang X, Liu F. A transcriptional metabolic gene-set based prognostic signature is associated with clinical and mutational features in head and neck squamous cell carcinoma. *J Cancer Res Clin Oncol.* 2020;146(3):621-630. doi:10.1007/s00432-020-03155-4
- Yan SK, Wei BJ, Lin ZY, Yang Y, Zhou ZT, Zhang WD. A metabonomic approach to the diagnosis of oral squamous cell carcinoma, oral lichen planus and oral leukoplakia. *Oral Oncol.* 2008;44(5):477-483. doi:10.1016/j.oraloncology.2007.06.007
- Yuan L, Cui D, Zhao EJ, Jia CZ, Wang LD, Lu WQ. XPD Lys751Gln polymorphism and esophageal cancer risk: A meta-analysis involving 2288 cases and 4096 controls. *World J Gastroenterol* 2011; 17: 2343-48.
- 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. *Tumour Biol.* 2017;39(5):1010428317699113. doi:10.1177/1010428317699113
- Zawlik I, Kita D, Vaccarella S, Mittelbronn M, Franceschi S, Ohgaki H. Common polymorphisms in the MDM2 and TP53 genes and the relationship between TP53 mutations and patient outcomes in glioblastomas. *Brain Pathol.* 2009;19(2):188-194. doi:10.1111/j.1750-3639.2008.00170.x
- Zhan P, Wang Q, Qian Q, Yu LK. XRCC3 Thr241Met gene polymorphisms and lung cancer risk: a meta-analysis. *J Exp Clin Cancer Res.* 2013;32(1):1. Published 2013 Jan 4. doi:10.1186/1756-9966-32-1
- Zhou G, Liu Z, Myers JN. TP53 Mutations in Head and Neck Squamous Cell Carcinoma and Their Impact on Disease Progression and Treatment Response *J Cell Biochem* 2016; 117:2682-92.

Producción Científica

Publicaciones

a) De resultados parciales de esta tesis

Galíndez MF, Carrica A, Zarate AM, Secchi D, Don J, 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 Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol.* 2021 Mar;131(3):339-346. doi: 10.1016/j.oooo.2020.11.004. Epub 2020 Nov 20. PMID: 33309268.

b) De investigaciones relacionadas a la temática de la tesis

Secchi DG, Aballay LR, Shivappa N, Hebert JR, **Galíndez Costa MF**, Brunotto M. The inflammatory compounds of Argentinean diet and oral squamous cell carcinoma in adult patients. *Nutr Hosp.* 2019. doi: 10.20960/nh.02613.

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

Presentaciones a congresos

Don J, **Galíndez Costa MF**, Aballay R, Brunotto M, Secchi D. Fatty Acids of the diet and its relation to risk of oral squamous cell carcinoma in patients from Argentina. 7th World Congress of the International Academy of Oral Oncology (IAOO2019) Rome. Agosto-Septiembre 2019.

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° Congreso Brasileiro de Estomatologia e Patologia 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 MF, Don J, Carrica A, Barra JL, Secchi DG, Brunotto M, Zarate AM. Estudio de Polimorfismos de los Genes TP53Arg72Pro, XPD Lys751Gln y XCCR3Thr241Met en Desórdenes Potencialmente Malignos y Cánceres Orales, en una Población Argentina. XXV Jornadas de Jóvenes Investigadores. Grupo Montevideo. Asunción-Paraguay. 2017.

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.

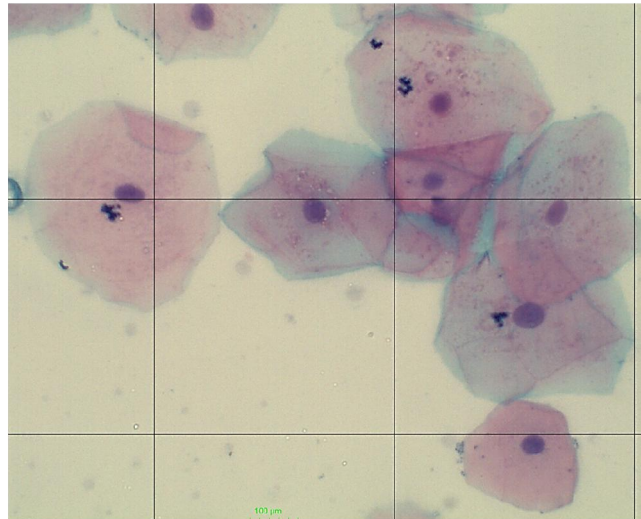
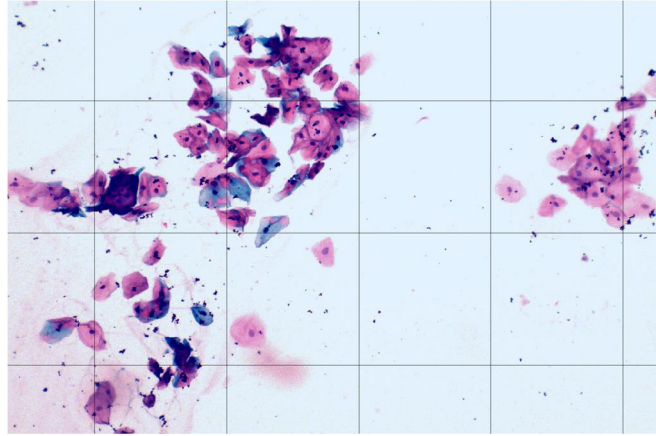
Secchi GD, Aballay L, **Galíndez F**, Gilligan G, Brunotto M, Lanfranchi H. Patrones alimentarios de pacientes adultos con cancer oral. *XLIX Reunión de la Sociedad Argentina de Investigación Odontológica. Mar del Plata. Noviembre Córdoba. Noviembre 2016-Publicado Libro de Resúmenes*

Financiamiento

1. Estudio de biomarcadores de tumorigenesis y su regulación por ácidos grasos dietarios. Subsidiado SECYT-UNC. Res SECYT-UNC 472/18. (\$13850). 2018-2019.
2. Modelo genético y epigenético de riesgo de cáncer de cabeza y cuello en pacientes adultos según ingesta de ácidos grasos en la dieta. Proyecto tipo Consolidar, subsidiado SECYT-UNC. Res SECYT-UNC 411/18. (\$110000 1°y 2° año). 2018-2021.
3. Evaluación de modelos de predicción de riesgo de cáncer bucal en pacientes adultos de Argentina. PICT-2016-2358. FONCYT Res 285/17. \$850000. 2017-2020.
4. Desarrollo de modelos de marcadores genéticos y epigenéticos de predicción de riesgo de cancer oral en pacientes adultos. Proyecto tipo A, subsidiado SECYT-UNC. Subsidiado. Res SECYT-UNC 313/16. \$31000. 2016-2017.

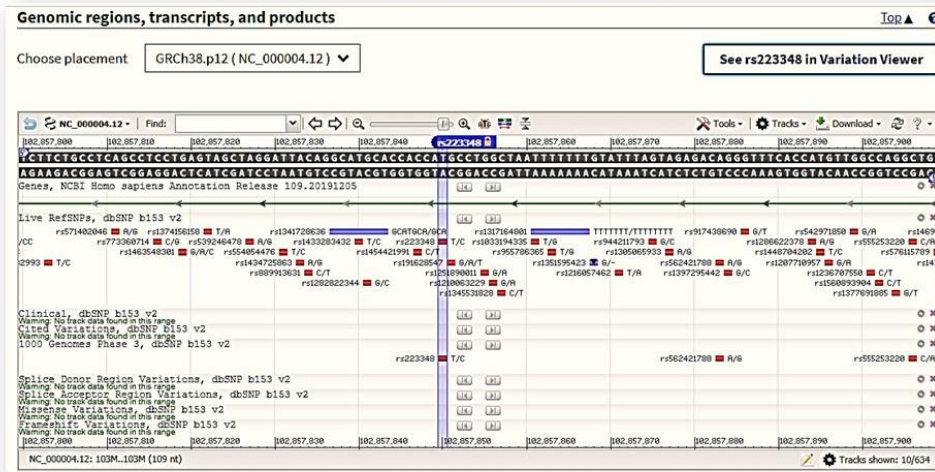
Anexos

Anexo 2

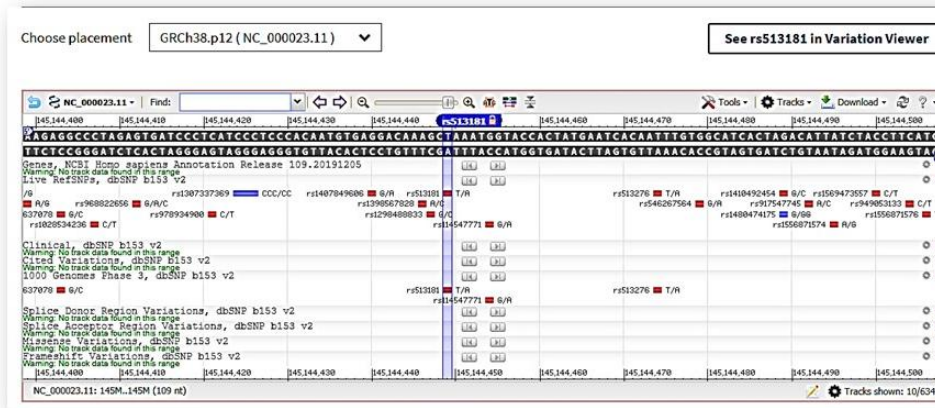


Células epiteliales de mucosa oral sana teñida con Papanicolau. Arriba: aumento 100x. Abajo: aumento 400x.

NFKβ-cromosoma 14 q13-6 exones



XPB-cromosoma 19



Anexo 4

DATOS DE FILIACIÓN:

- SEXO: MASCULINO
- EDAD: 63 AÑOS
- ESTADO CIVIL: CASADO
- RAZA : BLANCA
- NACIONALIDAD: ARGENTINO
- RESIDENCIA: CÓRDOBA CAPITAL
(TODA SU VIDA)
- OCUPACIÓN ACTUAL: DOCENTE
UNIVERSITARIO

MOTIVO DE CONSULTA:

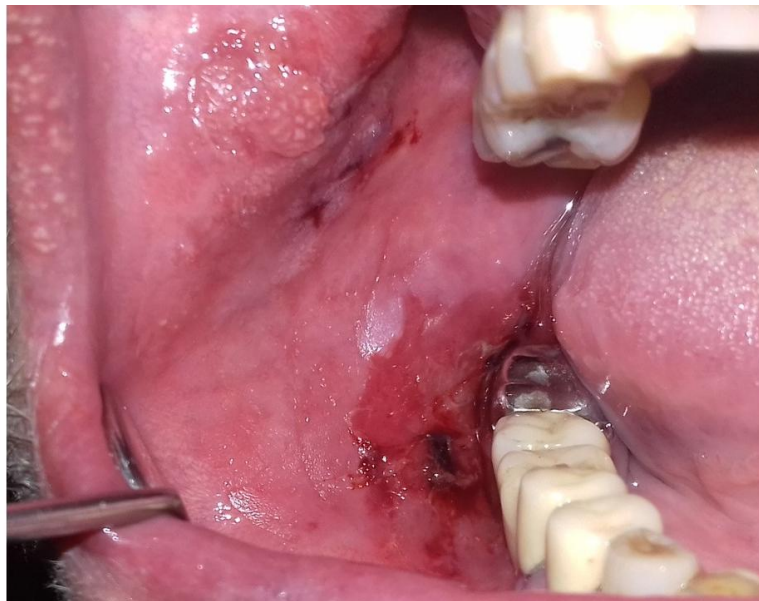
- DERIVADO POR SU ODONTÓLOGO (20/9/16)
(Al mes de su primer consulta con su médico)



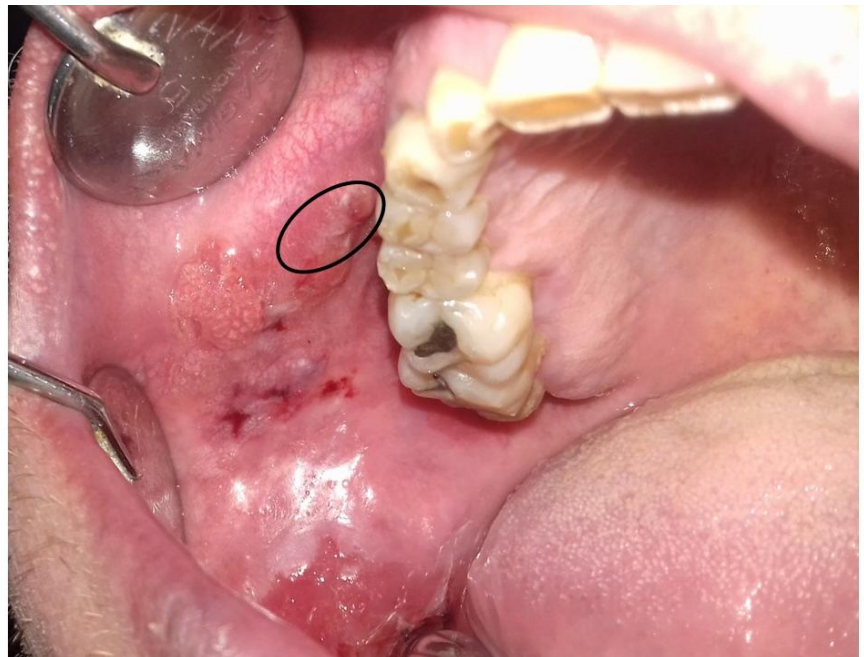
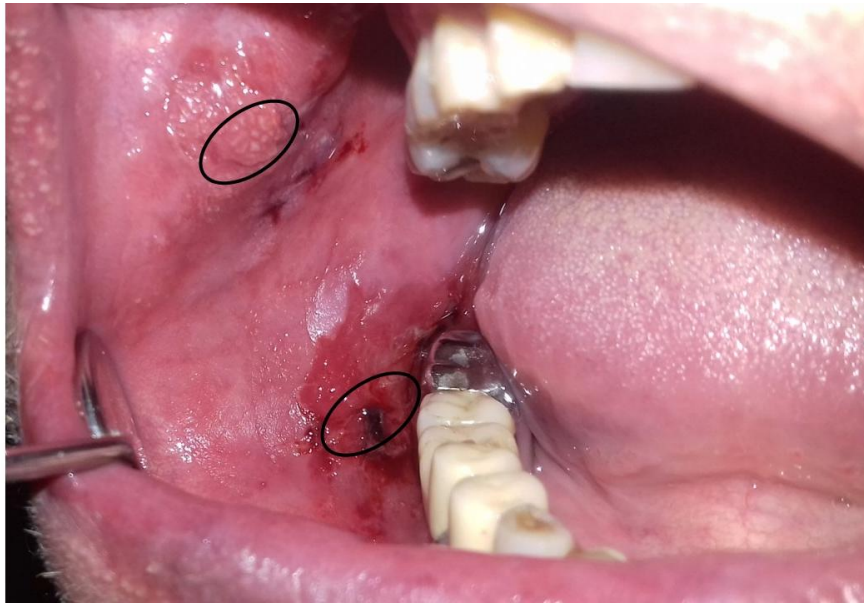
CONSULTORIO PRIVADO

ANTECEDENTES PERSONALES

- o Buen estado de salud general.
- o Dieta completa y equilibrada (Rica en frutas y verduras).
- o Actividad física (Dos veces por semana).
- o Índice de masa corporal de 22 (Normal).
- o Hipertensión controlada (Lotrial).
- o Alteraciones emocionales (*Relata ser muy ansioso como todo docente Universitario*)



SE REALIZA BIOPSIA DE LOS TRES SECTORES MÁS REPRESENTATIVOS TANTO A LA INSPECCIÓN COMO PALPACIÓN 20-09-16
(El mismo día de su primer consulta)




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

|  SOCIEDAD DE BENEFICENCIA - HOSPITAL ITALIANO ROMA 550 - TE: 0351-4106541 - CORDOBA SERVICIO DE ANATOMIA PATOLOGICA | |
|--|---------------------------|
| Paciente | NºProtocolo: . 196.688 |
| Críado del Río | Edad |
| Historia Clínica: 4882601 | 63 |
| Material: MUCOSA YUGAL | Obra Social |
| + MANDIBULA. | OSUNLAR |
| | Cirugía CyC |
| | Fecha Ingreso: 27/12/2016 |
| MACROSCOPIA: "TUMOR DE MANDIBULA": Se recibe un fragmento irregular de 1,5 x 1,5 cm. Al corte, blanquecino y firme. | |
| CORTE POR CONGELACION: POSITIVO - CARCINOMA EPIDERMÓIDE. "TUMOR DE MANDIBULA": Se recibe un fragmento irregular de 0,5 x 0,2 cm, pardo claro y firme. | |
| CORTE POR CONGELACION: POSITIVO - CARCINOMA EPIDERMÓIDE. "VACIAMIENTO CERVICAL NIVEL 1": Dos fragmentos irregulares, el mayor de 6 x 2,5 x 2 cm y el menor de 3 x 2 x 0,5 cm, de los cuales se aíslan cuatro formaciones ganglionares, la mayor de 3 x 1,5 x 1 cm. Se identifica, además, glándula salival de 4 cm de diámetro mayor. "VACIAMIENTO CERVICAL NIVEL 2 Y 3": Varios fragmentos irregulares, el mayor de 6 x 5 x 2 cm y el menor de 1 x 1 x 0,5 cm, de los cuales se aíslan dieciséis ganglios linfáticos, el mayor de 1 x 1 x 1 cm, pardo claro. "LESION DE MUCOSA YUGAL": Un fragmento de 3 x 3 x 1 cm, que presenta una superficie irregular con un área aumentada de consistencia de 2,5 x 1,3 cm, grisácea. La pieza viene marcada con hilo en borde anterior, y opuesto al mismo se observa un área ósea de 1,7 x 0,5 x 0,5 cm. "HUESO MANDIBULAR": Tres fragmentos óseos, el mayor de 3,5 x 1 x 0,7 cm y el menor de 1 x 0,8 x 0,5 cm. "AMPLIACION DE MARGEN OSEO": Un fragmento óseo, de 3 x 1,5 x 0,5 cm. "PIEZA DENTARIA": Pieza dentaria de 2 x 1 x 0,6 cm de coloración pardo clara. | |

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 íntegro.
 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 "MANDIBULA"). MARGENES DE RESECCION NO VALORABLES CON CERTEZA, DADA LA FRAGMENTACION DEL MATERIAL. METASTASIS EN UN GANGLIO LINFATICO DEL "VACIAMIENTO CERVICAL NIVEL 1". VER DESCRIPCION EN EL TEXTO.

Córdoba, 27 de enero de 2017

Dra. SUSANA ELISA CAMINOS
 Médica Cirujana M.P. 18273
 Análisis Patológicos y
 Citología C.E. 4438
 HOSPITAL ITALIANO

RESULTADO DE LA BIOPSIA 17-11-17

DR. LUIS SANTOS SPITALE
 ANATOMOPATOLOGO
 MEDICO CIRUJANO M.P. 5159
 DIR. EN MEDICINA Y CIRUGIA
 ESPECIALISTA EN ANATOMIA PATOLOGICA N. 2310
 ESPECIALISTA EN CITOLOGIA ESCOLAR N. 3152
 JEFE DE SERVICIO DEL HOSPITAL UNIVERSITARIO DE MATERINIDAD Y NEONATOLOGIA
 PROFESOR TITULAR PLENARIO DE PATOLOGIA, FACULTAD DE CIENCIAS MEDICAS,
 UNIVERSIDAD NACIONAL DE CORDOBA.

ISSASA 1954 8º MAPU II 5014 CORDOBA TELEFAX 45500302

MATERIAL BIOPSIA DE ENCA VESTIBULAR, SECTOR DE MOLARES SUPERIOR DERECHA
 PERTENECIENTE A SR. [REDACTED] EDAD: 64 AÑOS
 MEDICO QUE LO ENVIA: PROF. DR. OS. DANTE GUSTAVO SECCHI
 N° DE INFORME: 59230 RECIBIDO: 17 DE NOVIEMBRE DE 2017

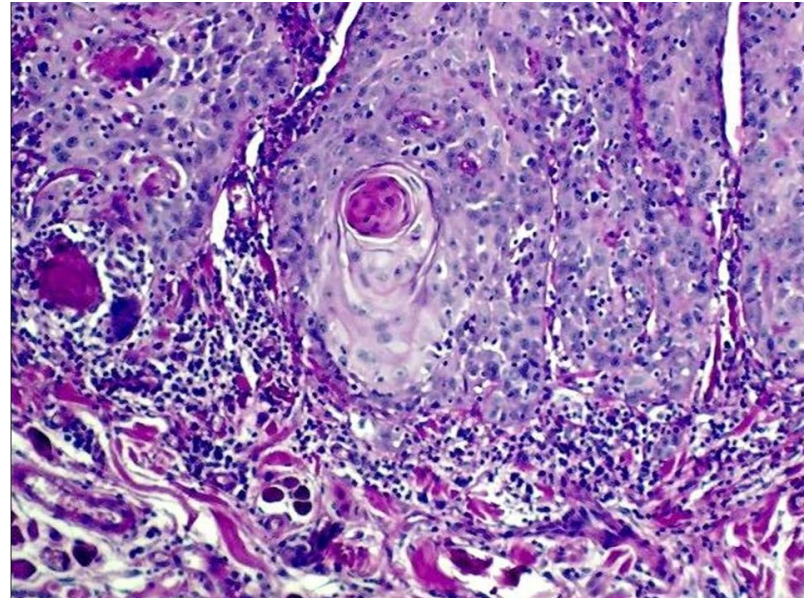
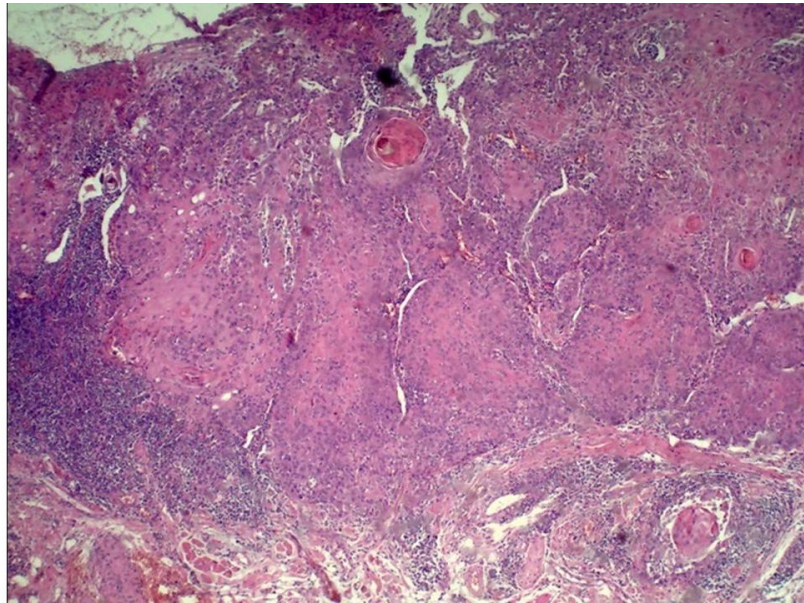
M/ CRE SCOP: D/ S FRAC: IENTI S BLAND IECIN: S D I T. #105 DE CONSIG ENCA
 N. EDIAN: 1. 7QUE: #D. N. FU: DOS EN FORMOI: 10 x 6 y 8 5 m. 1 CA IA L. NO.-

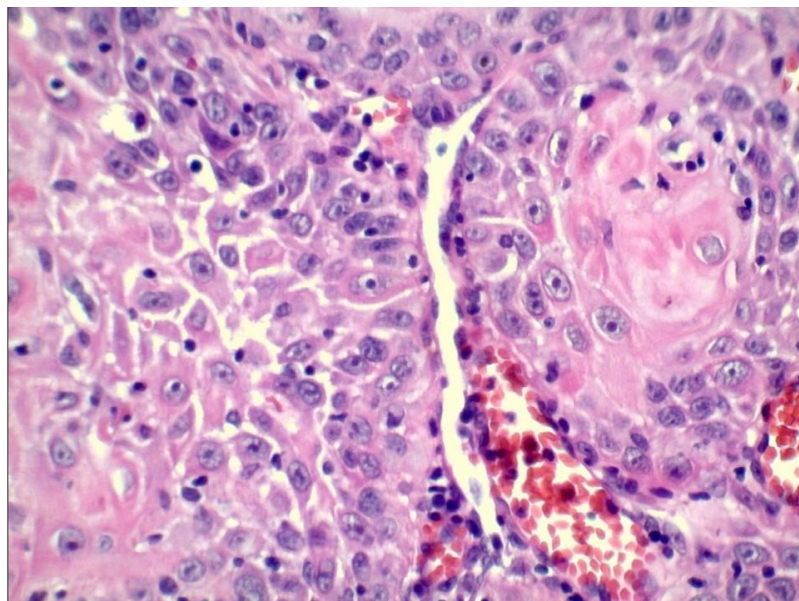
MICROSCOPIA: LOS PREPARADOS HISTOLOGICOS MUESTRAN SECCIONES DE UNA PROLIFERACION DE CELULAS NEOPLASICAS EPITELIALES ATIPICAS, CON ANISOCARIOSIS, HIPERCROMATISMO NUCLEAR, FIGURAS DE MITOSIS ATIPICAS Y QUERATINIZACION, CON FORMACION DE "PERLAS CORNEAS". NO HAY EVIDENCIAS DE AREAS ANAPLASICAS. LA NEOPLASIA EXHIBE AREAS ULCERADAS E INFILTRA EL CORION SUBYACENTE, CON FIBROSIS REACTIVA Y NAPAS DE INFILTRADO INFLAMATORIO CRONICO LINFOPLOSMOCITARIO.-

DIAGNOSTICO: Rotulado "biopsia de enca vestibular de región molar superior derecha", con lesiones vinculables a **CARCINOMA DE CÉLULAS ESCAMOSAS INVASOR, DE TIPO DIFERENCIADO.-**

CONCORDANTE

Córdoba, 23 Noviembre 2017 DR. LUIS SANTOS SPITALE
 Anatomopatologo





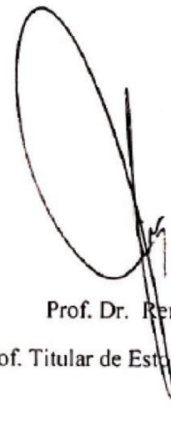
Anexo 5

A quien corresponda:

Por la presente, declaro tener conocimiento que los grupos de pacientes incluidos en el trabajo de Tesis Doctoral titulado: "EVALUACIÓN DE MARCADORES GENÉTICOS ASOCIADOS A CÁNCER ORAL PARA LA PREDICCIÓN DE RIESGO" realizado por la Od. María Fernanda Galíndez Costa, Prof. Asistente de la Cátedra a mi cargo, pertenecen a individuos que concurren a la consulta estomatológica en las instalaciones de la Cátedra de Estomatología "A".

Además, autorizo al Doctorando en cuestión realizar el trabajo de su Tesis Doctoral ya mencionado en las instalaciones de Estomatología "A" disponiendo de las mismas y del reclutamiento de los pacientes bajo estudio.

Para ser presentado, ante la autoridad que corresponda, saludo atte.



Prof. Dr. René Luis Panico
Prof. Titular de Estomatología "A"
FO.UNC.