

# THE DIAGNOSTIC MODEL OF EARLY STAGE OF ORAL MALIGNANT LESION BASED ON SINGLE NUCLEOTIDE POLYMORPHISMS

**AUTORES:** María Fernanda Galíndez Costa<sup>1</sup>, Andrés V. Carrica<sup>1</sup>, Ignacio Segura<sup>2</sup>, Rene Panico<sup>1</sup>, José Barra<sup>3</sup>, Ana María Zarate<sup>2</sup>, Mabel Brunotto<sup>2</sup>

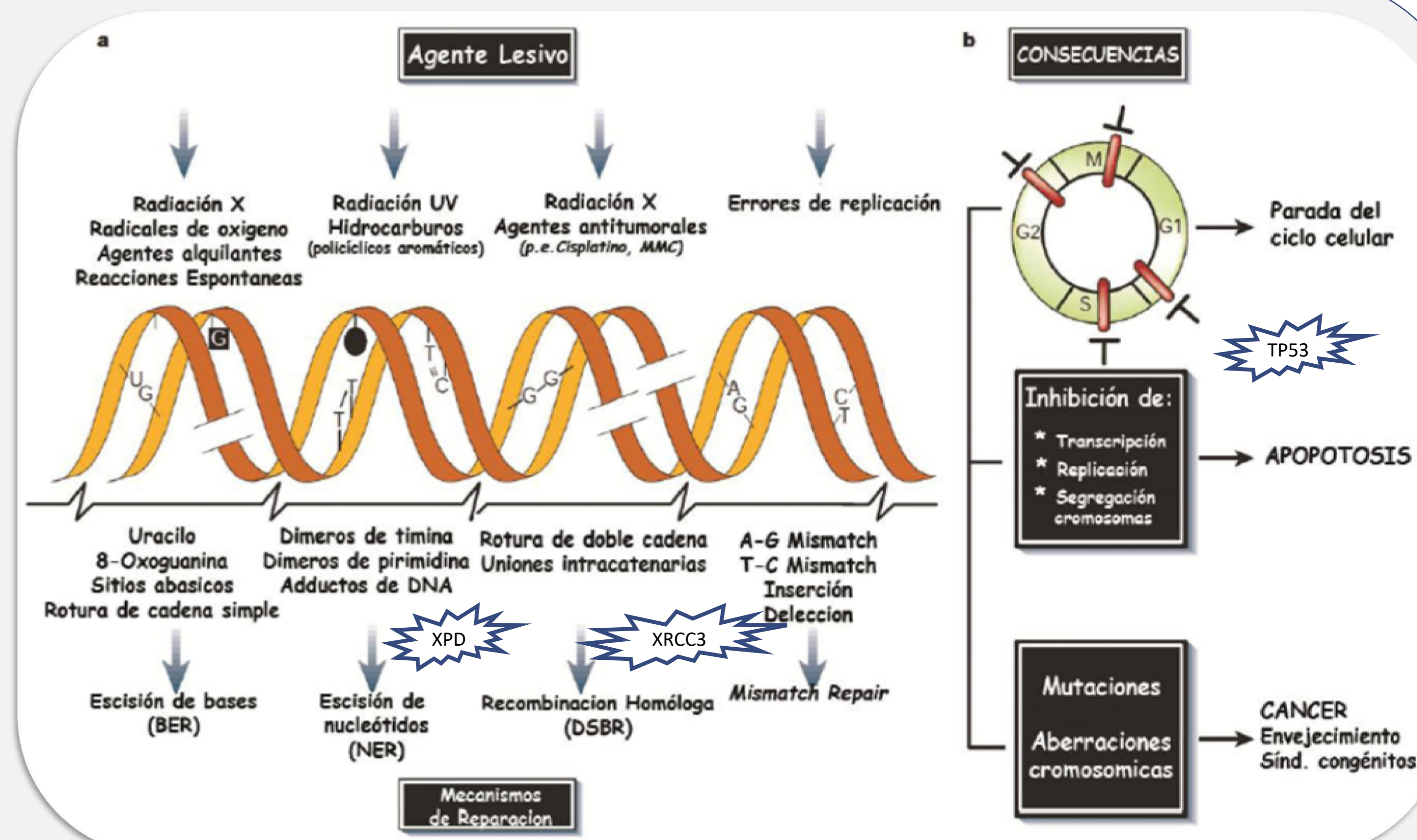
<sup>1</sup>Universidad Nacional de Córdoba, Facultad de Odontología, <sup>1</sup>Departamento de Patología Bucal;

<sup>2</sup> Universidad Nacional de Córdoba, Facultad de Odontología Departamento de Biología Bucal;

<sup>3</sup>Universidad Nacional de Córdoba, Facultad de Ciencias Químicas, Departamento de Química Biológica Centro de Investigaciones en Química Biológica de Córdoba (CIQUIBIC, UNC-CONICET)

**Introducción:** El cáncer es una enfermedad compleja y heterogénea que surge por las interacciones de factores genéticos y ambientales tras los cuales una célula escapa de los controles de su división y diferenciación. Una de las herramientas más valiosas para el diagnóstico temprano del cáncer oral (CO) es el reconocimiento de los riesgos poblacionales e individuales, que depende de la disponibilidad de estrategias metodológicas para identificar los perfiles genotípicos de las personas. Los genes de TP53, XPD, XRCC3 participan en la regulación del ciclo celular y la reparación del ADN, estos resultan importantes en la carcinogénesis ya que estabilizan el genoma reduciendo mutaciones generadas por carcinógenos.

**Objetivo:** evaluar los caracteres genotípicos (polimorfismos de genes individuales o de grupos de genes ya identificados) de pacientes con cáncer oral (CO) a fin de desarrollar un modelo estadístico de predicción de riesgo para poblaciones de Argentina, con el fin de mejorar su prevención, tratamiento y seguimiento.



**Materiales y métodos:** Se realizó un estudio caso-control (2:1) en pacientes mayores de 18 años de ambos sexos (n=100) atendidos por demanda espontánea en la Cátedra de Estomatología "A" de la Facultad de Odontología-UNC- Argentina. Todos los datos fueron registrados en una historia clínica médica-odontológica, los pacientes considerados casos fueron diagnosticados de CO por biopsia. Los controles no presentaban lesiones de ninguna patología. Se excluyeron pacientes con corticoterapia o quimioterapia, enfermedades sistémicas graves o no compensadas, alcoholismo crónico y consumo de drogas. La toma de material se realizó por citología exfoliativa (CE) utilizando cytobrush (Medibrush®, Medical Engineering, Buenos Aires, Argentina) del lado sano opuesto a la lesión y de similar lugar en los controles. Se realizó extracción de ADN siguiendo protocolos propios (Zarate et al., 2013, 2017). El ADN genómico (150 ng) se amplificó por PCR convencional a 50µl de volumen final, utilizando los cebadores para identificar los polimorfismos de TP53 Codón 72er 1042522, XPD Lys751Gln y XRCC3 Thr241Met. Los productos de PCR fueron separados en un gel de agarosa 2% (Tris/Borato/EDTA) pre-teñido con bromuro de etidio. Se utilizó un marcador de DNA de 100 bp (Cien Marker- Promega USA).

**Análisis estadísticos:** se realizó regresión logística y curva de ROC.

Este estudio está aprobado por el Comité de Ética e Investigación del Adulto- Hospital Córdoba- nº 1378

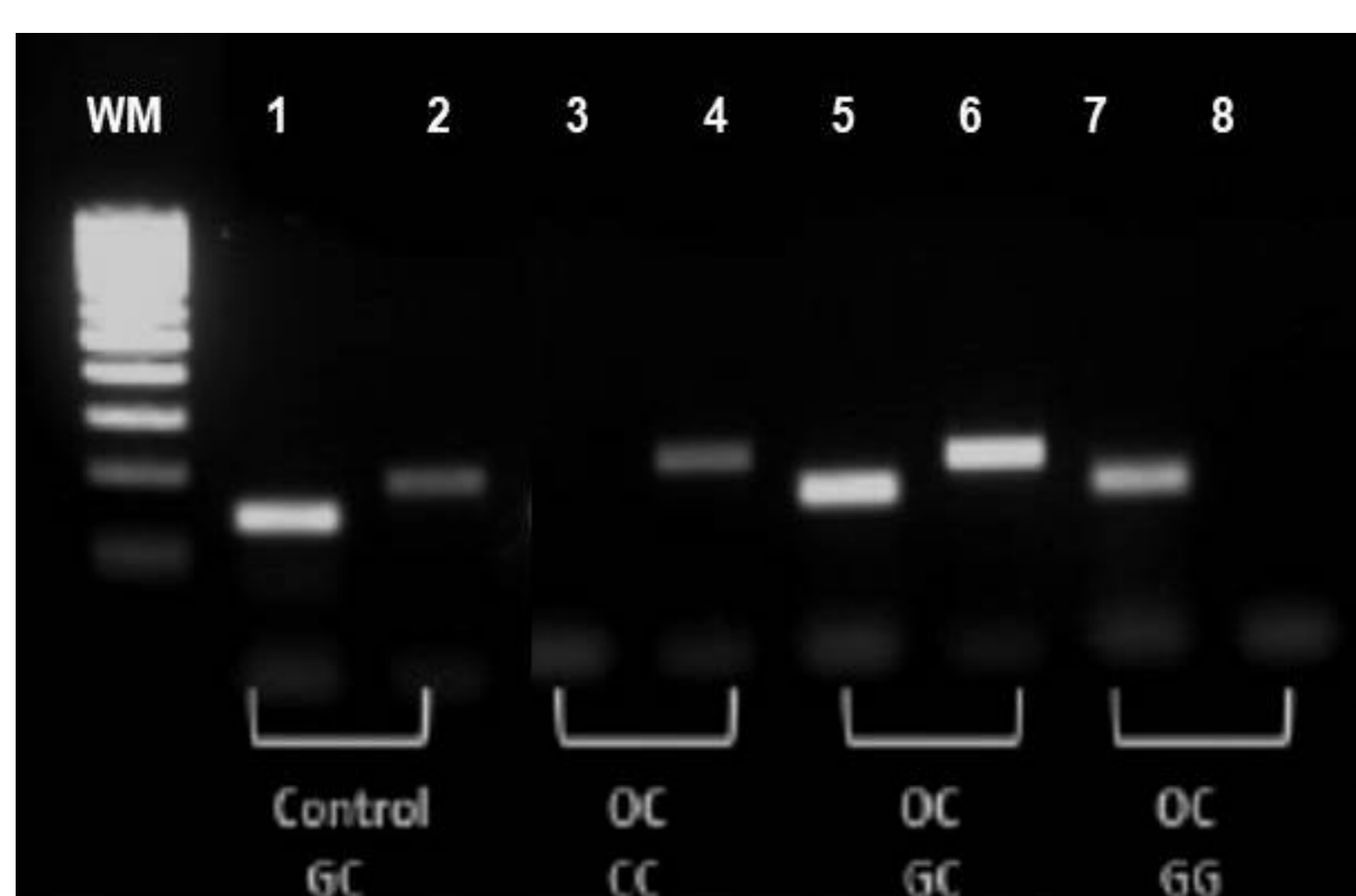
(<http://www.cba.gov.ar/listado-de-investigaciones-registradas/>)



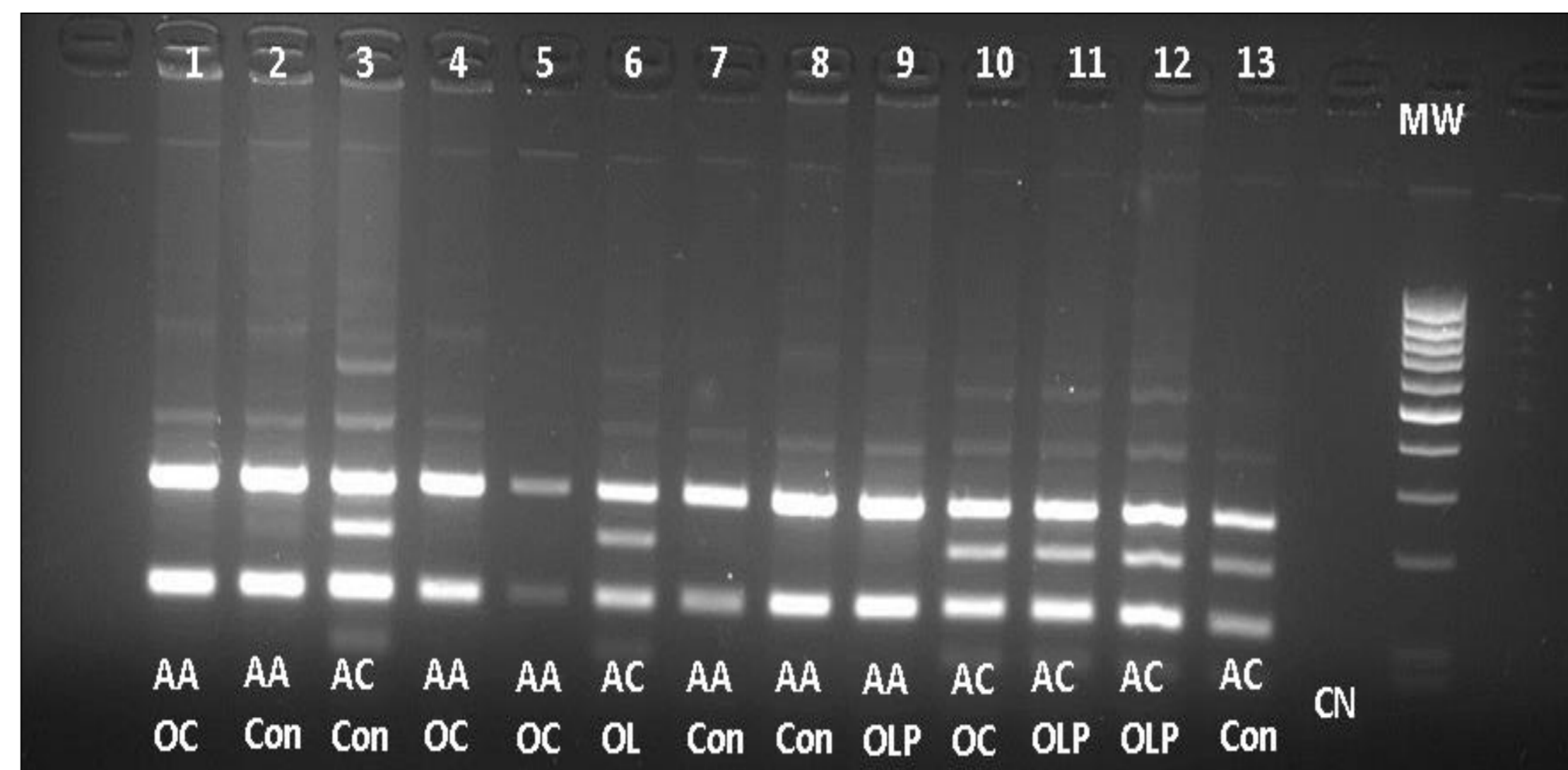
## Resultados

Gen	Genotipo	CO			Con		
		FA	FR (%)	p-valor	FA	FR (%)	p-valor
TP5372	CC	6	20	0.0247	5	22.73	0.0116
	GC	17	56.67		3	13.64	
	GG	7	23.33		14	63.64	
XPD	AA	11	39.29	0.0087	10	45.45	0.1416
	AC	15	53.57		9	40.91	
	CC	2	7.14		3	13.64	
XRCC3	CC	11	52.38	0.0183	11	55	0.6547
	CT	9	42.86		9	45	
	TT	1	4.76		0	0	

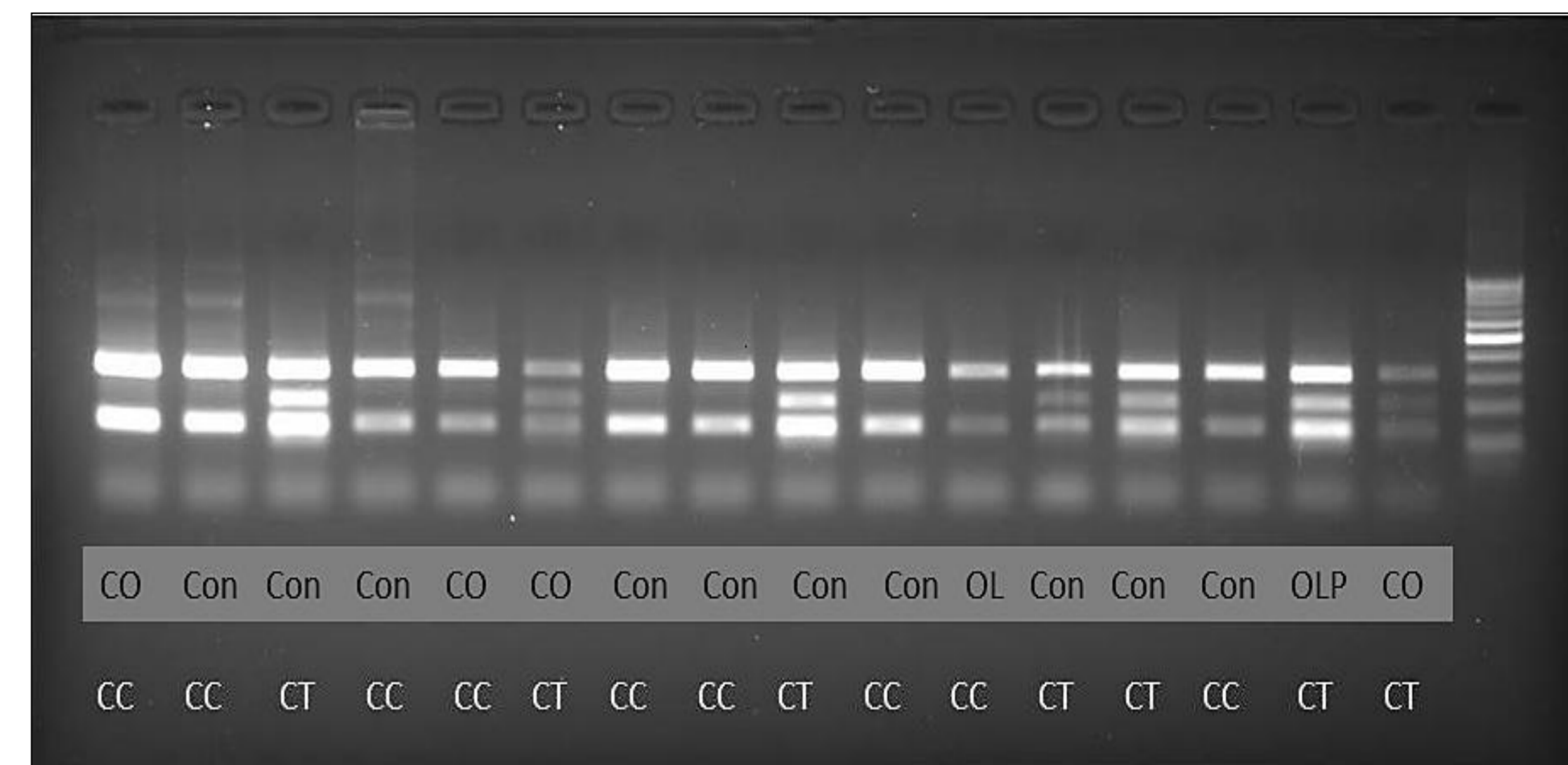
Con respecto a TP53Arg72Prose se observaron asociaciones significativas entre controles y genotipo GG; y entre CO con los genotipos GC y CC. En el análisis de XPD Lys751Gln, se detectaron los genotipos: AA, AC y CC, encontrándose asociación significativa entre el genotipo AC y el AA con CO. En relación al XRCC3Thr241Met se detectaron los genotipos CC, CT, TT y hubo asociación significativa entre CC y CT con CO. *XPD Lys751Gln*: mostró una asociación significativa entre CO y los genotipos con la variante polimórfica. *XRCC3Thr241Met*: se observó asociación significativa entre CO y su variante polimórfica.



Genotipos amplificados por PCR convencional, corridos en gel de agarosa 2%. Línea M: peso molecular. CG: heterocigota; CC y GG: homocigotas. Variante genética Arg72: 142bp; variante Pro72 178bp. CO cáncer oral.



Genotipificación de XPD 751 en gel de agarosa al 2%. MW: peso molecular. OLP: liquen plano oral, OL: leucoplasia oral; OC: cáncer oral; Con: control. AA: 234-110 bp; CC: 161-110-63 bp; AC: 234-171-110-63 bp. CN: control negativo



Genotipificación de XRCC3 241 en gel de agarosa al 2%. OLP: liquen plano oral, OL: leucoplasia oral; CO: cáncer oral; Con: control. CC: 315-140 bp; CT: 315-210-140 bp; TT: 210-140 bp

**Conclusión:** Los polimorfismos juegan diferentes roles en el desarrollo del cáncer en diferentes poblaciones, por lo tanto es posible que las variaciones se deban a diferencias geográficas y raciales sumados a otros factores de riesgo. Este trabajo muestra nuestros resultados preliminares que deberán ser confirmados en estudios que incluyan mayor número de pacientes que pertenezcan a diferentes regiones de Argentina