



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO



FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

**ANÁLISIS BIOINFORMÁTICO DEL CARCINOMA ORAL DE
CÉLULAS ESCAMOSAS.**

TESINA

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

CIRUJANA DENTISTA

P R E S E N T A:

URSULA JARA FILIO

TUTOR: Dr. LUIS FERNANDO JACINTO ALEMÁN

ASESOR: Mtro. EMILIANO JURADO CASTAÑEDA

Luzmila Patricia Dobate 17/Abr/2023 Patología



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Dedicatorias

A mi mamá y mi papá, que me dieron todo su apoyo para poder elegir y crear mi propio camino, acompañandome en todo momento, enseñandome a convertir todas mis ansiedades y miedos en retos y esperanzas, por darme la confianza para poder enfretar las adversidades, y seguir mis sueños, por enseñarme que los diamantes se hacen bajo presión, que está bien no estar bien y que no puede llover por siempre.

A mi hermana Fatima, por ser un pilar en mi vida, por los momentos compartidos, las sonrisas complices, las vivencias agridulces, por enseñarme que solo las estrellas más brillantes pueden romper el molde, por transmitirme la confianza y la seguridad para atreverme ha hacer las cosas.

A mi tutor, el doctor Luis Fernando Jacinto Alemán por darme la oportunidad de trabajar con él, por brindarme su confianza, dedicación, motivación y apoyo para poder iniciar y terminar este proyecto, por hacer más ameno todo este proceso, por la paciencia, el tiempo, y darme una nueva visión de la investigación.

A mi spider bro Ángel, por ser mi confidente, siempre creer en mi e impulsarme a dar saltos de fe. A las amistades que me acompañaron en mis días de universidad, por compensar momentos de estrés con risa genuina y comprensión, por hacer la vida más llevadera, por todos los momentos de tragicomedia que recordaré con cariño.

A mi tío Ernesto Filio López por ser una inspiración, por tantas historias contadas y por ser un gran ejemplo para salir adelante.

A mi tío Cuitlahuac Jara y mi tía Araceli Jara por cuidarme, darme todo su amor, y apoyarme durante toda mi vida.

A mi, que he llegado a confiar en mi misma, por lo que soy, por lo que fui, por lo que quiero llegar a ser y aunque el pasado fue bueno el mejor momento está por llegar. Por aprender a dar el ¡Plus Ultra!, entregar el corazón y por encontrar la razón para ser más fuerte.

A Taylor Alison Swift; Por ser un soporte emocional a lo largo de toda mi carrera, estuvo presente en todos los momentos, buenos y malos, con las palabras exactas para celebrar o consolarme en cada situación.

Agradezo a la doctora Lilibeth del Pogrado de Odontología UNAM, por brindarme las microfotografías histológicas expuestas en este trabajo.

ÍNDICE GENERAL

Contenido	Página
1. Resumen	1
2. Introducción	2
3. Marco teórico	3
3.1 Definición de carcinoma oral de células escamosas	3
3.2 Epidemiología del carcinoma oral de células escamosas	3
3.3 Etiología del carcinoma oral de células escamosas	5
3.4 Localización del carcinoma oral de células escamosas	5
3.5 Características clínicas del carcinoma oral de células escamosas	6
3.6 Histopatología y clasificación del carcinoma oral de células escamosas	9
3.7 Perfil genético del carcinoma oral de células escamosas	14
3.8 Pronóstico y factores predictivos del carcinoma oral de células escamosas	15
3.9 Definición de bioinformática	18
3.10 Importancia de la bioinformática	19
3.11 Aplicaciones de la bioinformática	19
3.12 Aplicación de la bioinformática en enfermedades orales	20
4. Planteamiento del problema	23

5. Justificación	25
6. Hipótesis	27
7. Objetivo	27
8. Métodos	27
8.1 Universo y muestra	27
8.2 Descripción y operacioalización de todas las variables	27
8.3 Diseño general de la investigación	29
8.3.1 Genes diferencialmente expresados	29
8.3.2 Análisis de enriquecimiento funcional	29
8.3.3 Interacción Proteína - Proteína (IPP) y análisis MCODE	30
8.3.4 Análisis de Kaplan – Meier	30
8.3.5 Análisis GEPIA	31
8.3.6 Metascape	31
9. Resultados	32
10. Discusión	42
11. Conclusiones	45
12. Referencias bibliográficas	46

1. Resumen

Introducción: Los trastornos orales potencialmente malignos (TOPM) se definen como presentaciones clínicas que conllevan un riesgo de desarrollo de cáncer en la cavidad oral. Curiosamente, no todos los TOPM se convierten en cáncer oral, y algunos cánceres orales se desarrollan de novo. **Objetivo:** Determinar cuáles son los genes más relevantes del proceso de transformación maligna oral a través de un estudio bioinformático. **Metodología:** El perfil de expresión génica fue obtenido de la hoja de datos GSE46802 para análisis de displasias, carcinomas in situ (CIS) y carcinomas de células escamosas orales (COCE). Su análisis fue por GEO2R enriqueciendo los genes $1 > FC$ por medio del software DAVID para GO y KEGG. La interacción proteína-proteína fue determinada por medio de String, Cytoscape y la aplicación MCODE. Determinando su relación con supervivencia con análisis Kaplan-Meier y GEPIA seleccionando los genes $p < 0.05$, confirmando su relación con procesos oncogénicos por Metascape. **Resultados y discusión:** En el proceso de transformación a displasia los candidatos observados tuvieron una fuerte relación con proceso de motilidad celular (MYH11, MYL2 y TCAP). Los genes relacionados ($n=17$) con el proceso de transformación a CIS se relacionaron con funciones de adhesión celular y activación del ciclo celular. En el COCE, el número de genes metodológicamente significativos disminuyó ($n=5$) coincidiendo únicamente AURKA con lo observado en CIS. **Conclusiones:** Los métodos bioinformáticos empleados para determinar el proceso de transformación maligna puede ser una herramienta útil. La transformación maligna es un recambio funcional, donde se observan cambios en la actividad proliferativa, motilidad celular e inestabilidad genómica.

Palabras clave: Bioinformática, Displasias, CIS, COCE, AURKA

2. Introducción

Los trastornos orales potencialmente malignos (TOPM) se definen como presentaciones clínicas que conllevan un riesgo de desarrollo de cáncer en la cavidad oral. Ya sea una lesión precursora clínicamente definible o en una mucosa clínicamente normal, que puede preceder al diagnóstico de COCE.

El cáncer oral, es una enfermedad neoplásica de origen epitelial, al cual se le asocia una etiología multifactorial como factores genéticos, epigenéticos, habituales como el consumo de tabaco, nuez de areca, cigarro, alcohol, microbianos y virales, los cuales suelen variar en regiones geográficas o grupos étnicos.

El cáncer más común en boca es el carcinoma oral de células escamosas (COCE) que representa el 90% de todos los cánceres de la cavidad oral.

La progresión de un TOPM a COCE es un tema de interés e importante investigación por el posible impacto que podría tener en el pronóstico de los pacientes con estas condiciones. Algunas alteraciones morfológicas son altamente susceptibles a malignidad de transformación. Sin embargo, no todas las lesiones orales se convierten en cáncer oral, y algunos cánceres orales se desarrollan a partir de lesiones no displásicas o pueden o no desarrollarse a partir de TOPM. Por lo cual el comprender su proceso patogénico se ha convertido en un tema de investigación sumamente importante, el cual puede ser abordado con métodos asistidos computacionalmente. Los estudios de genómica y proteómica en TOPM y COCE generan una gran cantidad de información sobre los biomarcadores relacionados, por lo cual los estudios de bioinformática proporcionan métodos y herramientas para el análisis de estos datos.

La relación entre la bioinformática y la oncología ha llevado al desarrollo de nuevas herramientas para analizar la epidemiología, genómica, poblaciones e incluso asociación con supervivencia.

3. Marco teórico

3.1 Definición de carcinoma oral de células escamosas

El carcinoma oral de células escamosas (COCE) Representa el 4% de todos los cánceres del organismo y aproximadamente el 90% de todos los cánceres de la cavidad oral. Es una neoformación maligna con diferenciación escamosa que se origina del epitelio de la mucosa oral. Es más frecuente entre la quinta y sexta década de la vida y se asocia frecuentemente a factores de riesgo tales como el tabaquismo, consumo de alcohol y la masticación de betel-quin en regiones del continente asiático.^{1,2}

3.2 Epidemiología del carcinoma oral de células escamosas

El COCE constituye del 92-95 % de todos los cánceres orales, es uno de los cánceres humanos más comunes en boca.³ Debido a sus altas tasas de recurrencia y metástasis, el COCE tiene una alta tasa de mortalidad y un mal pronóstico. En las últimas décadas, a pesar de los enormes avances en el diagnóstico y tratamientos como la radioterapia y la quimioterapia, la tasa de supervivencia a los 5 años no supera el 50%.⁴ En todo el mundo, la incidencia de cáncer oral es mayor entre los hombres (5,5 casos por 100 000 habitantes por año) que entre las mujeres (2,5 casos por 100 000).¹

El proyecto GLOBOCAN estimó 377 713 casos nuevos en 2020, con una tasa de incidencia global estandarizada por edad de 4.8 casos por 100 000 habitantes por año, una tasa de mortalidad global de 2.3 muertes por 100 000 habitantes por año, y una prevalencia a 5 años de 12.3. En México el número estimado de casos nuevos en 2020 fue de 1500, con una tasa de incidencia

bruta y estandarizada por edad por 100.000 de 1.2, una tasa de mortalidad de 0.45 y prevalencia a 5 años de 3.1 (Fig.1).⁵

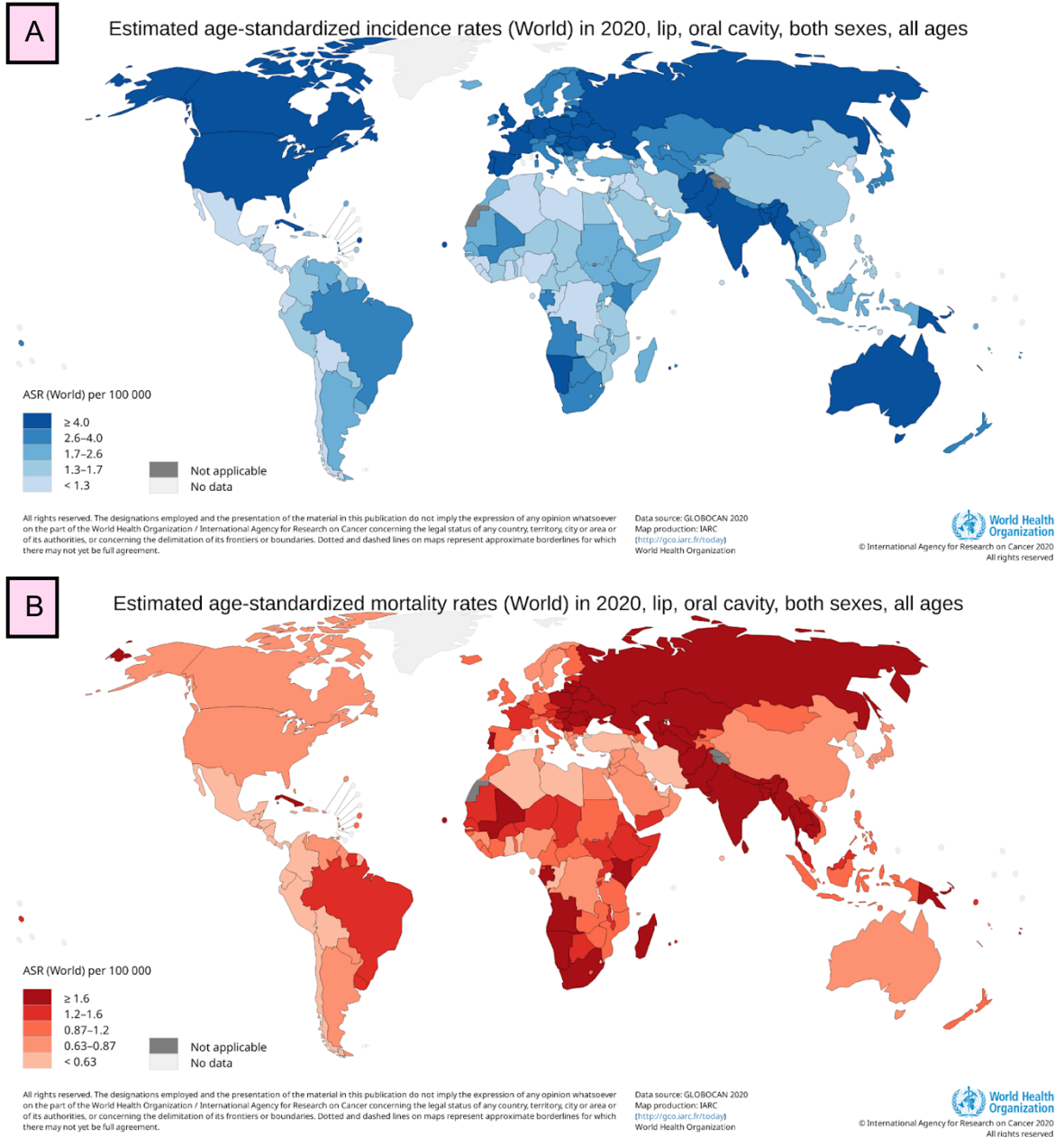


Figura 1. Índice mundial estandarizada por edad (ASR) de (A) Incidencia y (B) Mortalidad por 100,000 habitantes por año, ambos sexos, cáncer de labio y cavidad oral. Formulario reimpresso GLOBOCAN 2020.⁵

3.3 Etiología del carcinoma oral de células escamosas

EL COCE tiene una etiología multifactorial como factores genéticos, epigenéticos (idiopáticas o hereditarias), autóctonos y/o exógenos los cuales incluyen el consumo de tabaco, ya que el aumento del riesgo es dependiente de la dosis y el riesgo disminuye después de dejar de fumar.¹ El consumo de alcohol interactúa sinérgicamente con el tabaquismo, lo que resulta en un riesgo aditivo. El tabaco sin humo que se usa por vía oral ya sea mascando (tabaco de mascar) o sumergiéndose (rapé) también se considera una causa del COCE.¹ La nuez de areca y/o el tabaco se pueden mezclar con otras sustancias (por ejemplo, cal apagada, inflorescencia de betel, condimentos, agentes edulcorantes y especias) para crear betel quid. La masticación de betel-quid aumenta el riesgo de COCE ya sea que se agregue o no tabaco.

El VPH, en particular el tipo 16, es un factor etiológico reconocido en el cáncer de orofaringe, pero solo se observa en una pequeña minoría (3 %) de los COCE. La exposición a la luz solar también se puede considerar como factor de riesgo para el cáncer de labio. La mala o deficiente salud oral ha sido considerada como un riesgo asociado al cáncer oral, pero aún no se ha demostrado que sea un factor independiente.^{1,3} Sin embargo, el 15 % restante de los cánceres orales ocurren sin la presencia de ninguno de estos factores de riesgo.^{3,6}

3.4 Localización anatómica del carcinoma oral de células escamosas

El COCE puede afectar cualquier área de la mucosa oral. Los sitios más comunes para este tipo de cáncer son la lengua, principalmente en la zona ventral y posterolateral, el piso de la boca y las encías, lo que representa más de la mitad de todos los cánceres orales (Fig. 2).^{1,7}

La distribución del sitio varía según los factores de riesgo predominantes. Entre muchas poblaciones asiáticas, el COCE afecta más comúnmente a la mucosa bucal debido a la masticación de tabaco y betel-quid.¹ En los países desarrollados, casi el 30 % de todos los cánceres bucales afectan al labio inferior y tiene un pronóstico mucho mejor que los localizados en otras zonas.¹



Figura 2. COCE, en borde lateral de la lengua, lesión nodular, eritematosa, circunscrita.⁷

3.5 Características clínicas del carcinoma oral de células escamosas

La presencia de una úlcera indurada con bordes evertidos y en ocasiones dolorosa es el hallazgo clínico más frecuente para este padecimiento, y muy frecuentemente se puede acompañar de adenopatías o afección de linfonodos cervicales. En estadios más avanzados, el COCE puede presentar tres formas o apariencias clínicas comunes:²

- Endofítica: Cuando se forma por una úlcera irregular con bordes evertidos.
- Exofítica: Cuando se observa un crecimiento tumoral vegetante, irregular e indurado a la palpación.
- Tipo mixto: cuando se observan las dos formas anteriores.²

Cualquier lesión de la cavidad oral que no se resuelva en 2-3 semanas debe despertar la sospecha del médico tratante.⁷

Otras variaciones en la presentación clínica son los cambios en el color del tejido presentándose como lesiones blancas, eritematosas o mixtas.¹ Las lesiones blancas que parecen "benignas" pueden ser displásicas o incluso malignas en la biopsia y análisis histopatológico.⁸ La incidencia de un COCE o carcinoma in situ en las biopsias de eritroplasia se aproxima al 50%.⁸ Las lesiones exofíticas, nodulares, proliferativas o papilomatosas también pueden ser presentaciones de cáncer oral, por lo cual el protocolo de biopsia y análisis histopatológico es necesario (Fig. 3).⁸ Estas entidades clínicas de leucoplasia, eritroplasia, así como fibrosis submucosa y liquen plano, son consideradas como Trastornos Orales Potencialmente Malignos (TOPM), las cuales constituyen un problema para la estimación pronóstica de cuál de ellas realmente es un COCE con invasión al tejido conjuntivo.

Con menos frecuencia, el COCE pueden presentarse como una lesión quística alrededor de un diente, es decir que imite a un quiste odontogénico.⁹ En estas ocasiones el alvéolo de extracción que no cicatriza (> 6 semanas) por lo cual se debe sospechar un posible carcinoma.⁸



Figura 3. COCE en borde lateral de la lengua, neoformación, circunscrito, color similar al tejido adyacente con áreas blancas y eritematosas, bien definido.⁷

Las neoformaciones pequeñas pueden ser asintomáticas, mientras que los avanzados dan lugar a diversos síntomas y signos como: Dolor o hipersensibilidad, hemorragia, cambio en la mordida / movimiento mandibular, movilidad dentaria, mal ajuste de la dentadura, restricción de la lengua, cambio de voz, disfagia, disgeusia, paresia o parálisis, diplopía.^{1,2}

La mayoría de los tumores intraorales primarios a la palpación revelan induración y la posibilidad de síntomas y signos de metástasis cervicales o distantes, aunque estos deben ser determinados a través de estudios adicionales.⁷ Se pueden observar segundas neoplasias en el tracto aerodigestivo en pacientes con COCE durante 3 años hasta en un 25 % y hasta en un 40 % de quienes continúan fumando (Fig.4).⁷

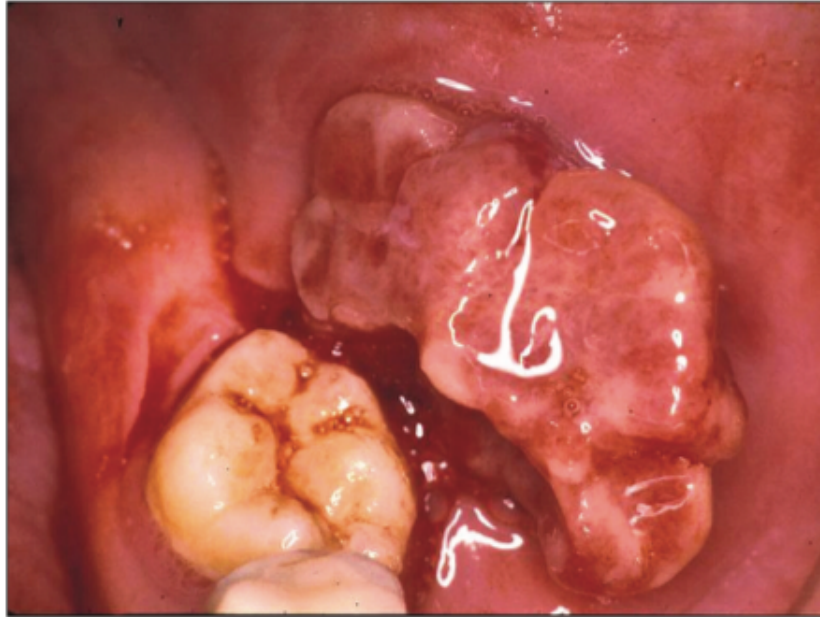


Figura 4. COCE en la zona posterior de la mucosa yugal, neoformación, de aspecto vegetativo, bien delimitado, color eritematoso similar al tejido adyacente.⁷

3.6 Histopatología y clasificación del carcinoma oral de células escamosas

El COCE es una neoplasia epitelial maligna que exhibe diferenciación escamosa caracterizada por la formación de queratina y/o la presencia de puentes intercelulares.⁹ Los tumores intraorales generalmente se evalúan mediante biopsia quirúrgica. El carcinoma se diagnostica cuando se observa displasia que se extiende por todo el espesor del epitelio, extensión e invasión del epitelio en la lámina propia subyacente, es decir, invasión a través de la membrana basal.⁷

La clasificación que se presenta a continuación se basa en el método descrito originalmente por Broders, que tiene en cuenta una evaluación subjetiva del grado de queratinización, el pleomorfismo celular y nuclear y la actividad mitótica.⁹ (Tabla 1) Los grados son:

Tabla 1. Clasificación histológica del COCE.⁹

<p>Grado 1: Bien diferenciado.</p>	<p>Las características histológicas y citológicas se parecen mucho a las del revestimiento epitelial escamoso de la mucosa oral. Hay proporciones variables de células basales y escamosas con puentes intercelulares: la queratinización es una característica destacada: se observan pocas figuras mitóticas y las mitosis atípicas o las células epiteliales multinucleadas son extremadamente raras: el pleomorfismo nuclear y celular es mínimo (Fig.5).⁹</p>
<p>Grado 2: Moderadamente diferenciado.</p>	<p>Esta es una neoplasia con características intermedias entre bien diferenciado y pobremente diferenciado. En comparación con los carcinomas de células escamosas bien diferenciados, estos tienen menos queratinización y más pleomorfismo nuclear y celular; hay figuras mitóticas y algunas tienen forma anormal; las novias intercelulares son menos llamativas (Fig.6).⁹</p>
<p>Grado 3: Pobremente diferenciado.</p>	<p>Histológica y citológicamente sólo hay un ligero parecido con el epitelio escamoso estratificado normal de la mucosa oral. La queratinización está raramente presente y los puentes intercelulares son extremadamente escasos: la actividad mitótica es frecuente y las mitosis atípicas pueden encontrarse fácilmente: el pleomorfismo celular y nuclear es evidente y las células multinucleadas pueden ser frecuentes (Fig.7).⁹</p>

Ciertas características se ven aumentadas según el grado de tumor: El pleomorfismo nuclear y celular, las figuras mitóticas (normales y atípicas) y la hiperchromasia. En el caso particular de COCE pobremente diferenciado, las

características de diferenciación escamosa son mínimas o están ausentes, lo que puede requerir confirmación inmunohistoquímica para marcadores AE1/AE3, CK5/6, p63 y p40.¹

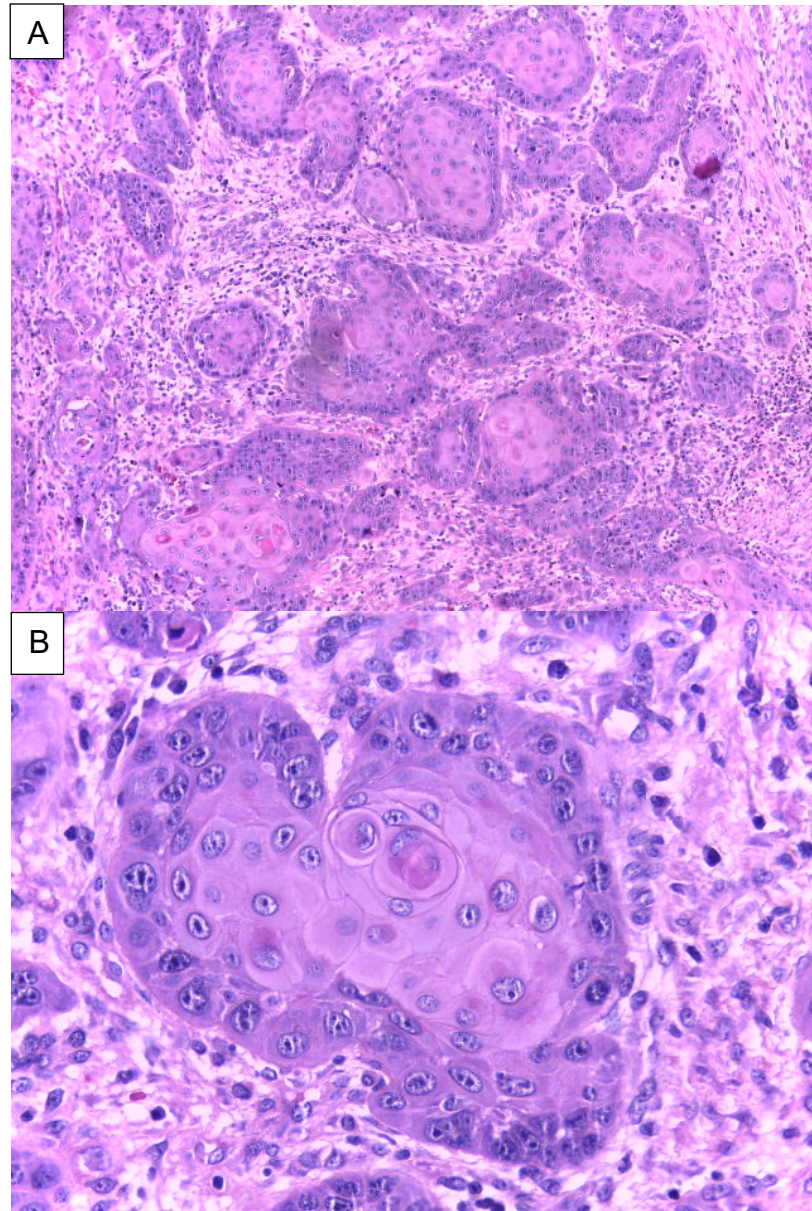


Figura 5. COCE grado 1 bien diferenciado obtenido de la clínica de patología del posgrado de odontología UNAM (A) Grado 1 de COCE bien diferenciado a 100x. (B) Grado 1 de COCE bien diferenciado a 400x. Fuente directa

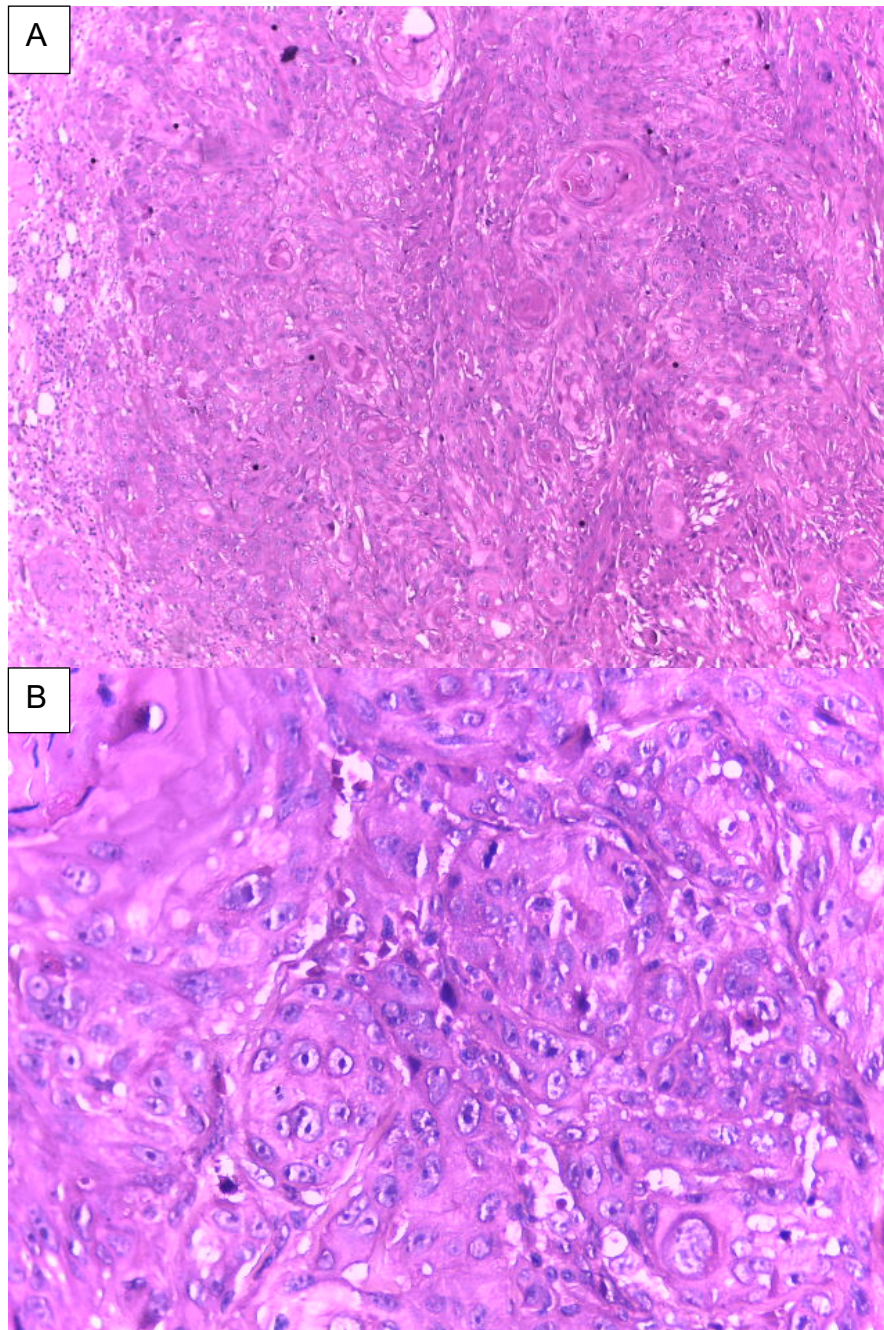


Figura 6. COCE grado 2 moderadamente diferenciado obtenido de la clínica de patología del posgrado de odontología UNAM (A) Grado 2 de COCE moderadamente diferenciado a 100x. (B) Grado 2 de COCE moderadamente diferenciado a 400x. Fuente directa

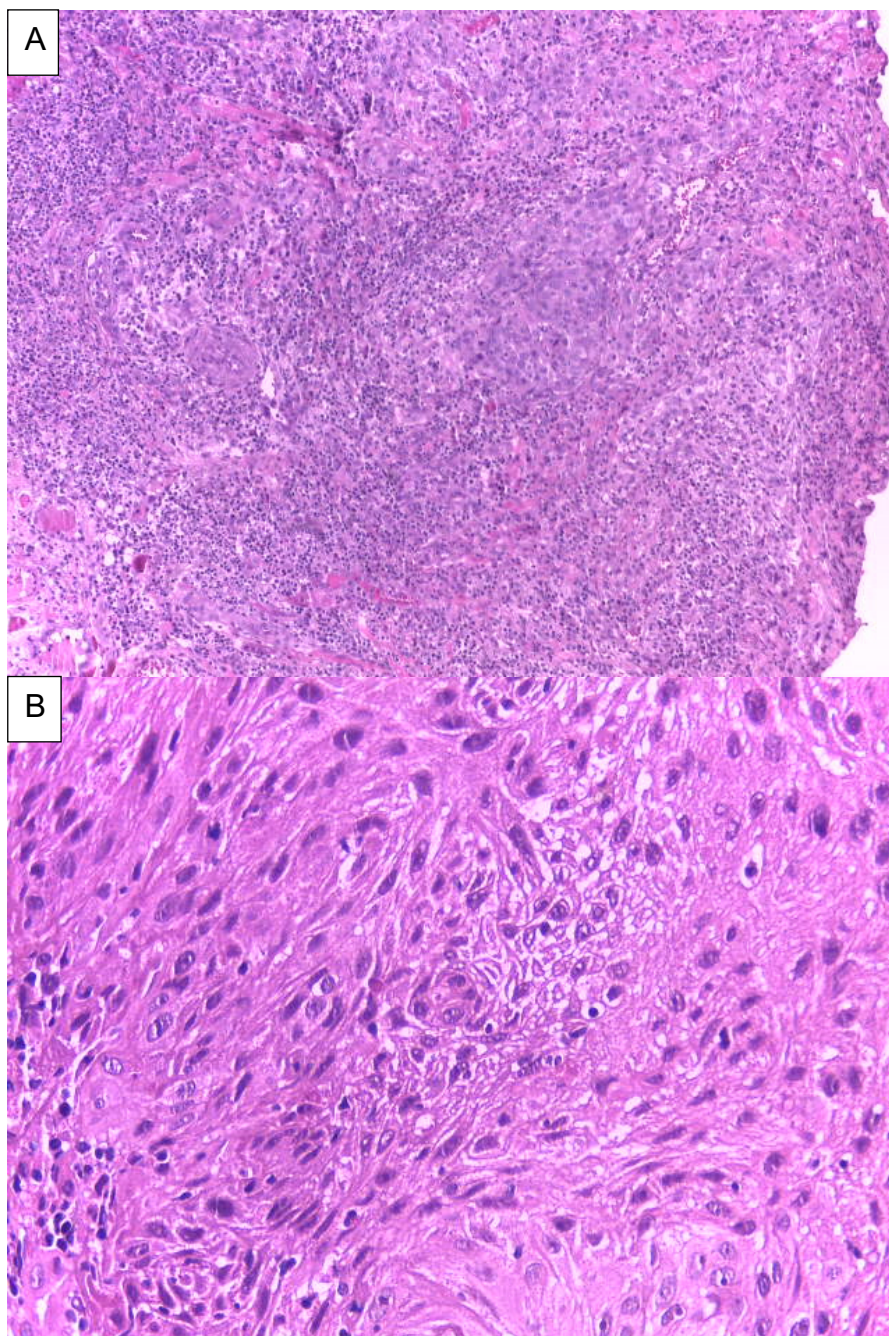


Figura 7. COCE grado 3 pobremente diferenciado obtenido de la clínica de patología del posgrado de odontología UNAM (A) Grado 3 de COCE pobremente diferenciado a 100x. (B) Grado 3 de COCE pobremente diferenciado a 400x. Fuente directa

3.7 Perfil genético del carcinoma oral de células escamosas

Las múltiples alteraciones moleculares que ocurren en nuestro ADN y en donde participan los oncogenes (que por medio de variaciones en su secuencia de nucleótidos obtienen la capacidad de generar tumores) desencadenan en la génesis y crecimiento tumoral. Los oncogenes son el resultado de la variación en la secuencia génica por reordenamiento cromosómico, amplificación o mutación del protooncógeno. Los protooncogenes son secuencias génicas que controlan la diferenciación celular y el crecimiento.²

Los genes que al activarse participan en diferentes puntos de control del ciclo celular, y protegen a la célula de adquirir características malignas son los genes supresores tumorales. En la historia natural del cáncer uno de los genes supresores tumorales más importantes en el ser humano es TP53, se ha observado que en una gran gama de neoformaciones humanas las funciones de este gen y su sistema molecular asociado están suprimidos. Otro gen supresor tumoral de gran importancia en el cáncer oral son los genes que codifican las proteínas inhibidoras de las quinasas dependientes de ciclinas, promueven un adecuado control del ciclo celular por medio del correcto funcionamiento de la proteína de retinoblastoma (pRb) y su sistema molecular asociado, ya que se ha encontrado en el cáncer oral alteraciones de este conjunto.²

Las alteraciones de la expresión génica, del ciclo celular, de la síntesis y degradación de proteínas son el resultado de la ganancia y/o la pérdida de genes supresores tumorales u oncogenes en una célula.¹⁰

En displasia y carcinogénesis hay varios procesos que se manifiestan como los son la inestabilidad genómica (cambios en la secuencia de ADN), y la

inestabilidad cromosómica (duplicación y/o eliminación de cromosomas o partes de estos). Ambos procesos se vinculan por causas comunes y resultan en la aneuploidía. Los dos actúan de manera autoamplificadora y producen un daño genético donde existe la pérdida cromosómica en 3p, 8p, 9p, 17p y ganancias en 3q y 11q.¹⁰

El COCE también puede surgir como parte de otros padecimientos, este es el caso de pacientes con el síndrome de Li-Fraumeni o anemia de Fanconi.¹ Las personas con anemia de Fanconi, enfermedad genética hereditaria caracterizada por una reparación deficiente del ADN (debido a mutaciones en cualquiera de los 22 genes FANC), tienen un riesgo 500 a 700 veces mayor de desarrollar COCE.¹¹

3.8 Pronóstico y factores predictivos del carcinoma oral de células escamosas

Para facilitar el seguimiento clínico y terapéutico de los pacientes se emplea la clasificación TNM, como un mecanismo de homogenización de criterios entre los médicos tratantes donde: T (Tamaño del tumor primario); N (Presencia de ganglios linfáticos); M (Metástasis a distancia). De una forma más desglosada las subdivisiones correspondientes son (Tabla 2):²

Tabla 2. Clasificación TNM.¹²

T = TAMAÑO DEL TUMOR PRIMARIO	
TX	No se puede evaluar el tumor primario.
T0	Sin evidencia de tumor primario.
Tis	Carcinoma In Situ.
T1	Tumor de 2 cm o menos en su mayor dimensión.
T2	Tumor de más de 2 cm y de no más de 4 cm en su mayor dimensión.

T3	Tumor de más de 4 cm en su mayor dimensión
T4 Labio	El tumor invade a través del hueso cortical, el nervio alveolar inferior, el piso de la boca o la piel de la cara (es decir, barbilla o nariz)
T4a Cavidad bucal	El tumor invade estructuras adyacentes (p. ej., hueso cortical completo, músculos profundos (extrínsecos) de la lengua (geniogloso, hiogloso, palatogloso y estilogloso), seno maxilar, piel de la cara).
T4b	El tumor invade el espacio masticador, las placas pterigoides o la base del cráneo y/o recubre la carótida interna.
N = GANGLIOS LINFÁTICOS REGIONALES	
NX	No se pueden evaluar los ganglios linfáticos regionales.
N0	Sin metástasis en ganglios linfáticos regionales.
N1	Metástasis en un solo ganglio linfático ipsilateral, de 3 cm o menos en su mayor dimensión.
N2	Metástasis en un solo ganglio linfático ipsilateral, de más de 3 cm pero no más de 6 cm en su mayor dimensión: o en múltiples ganglios linfáticos ipsilaterales, ninguno de más de 6 cm en su mayor dimensión: o en ganglios linfáticos bilaterales o contralaterales, ninguno más de 6 cm en su mayor dimensión.
N2a	Metástasis en un solo ganglio linfático ipsilateral, de más de 3 cm pero no más de 6 cm en su dimensión mayor.
N2b	Metástasis en múltiples ganglios linfáticos ipsilaterales, ninguno mayor de 6 cm en su mayor dimensión.
N2c	Metástasis en ganglios linfáticos bilaterales o contralaterales, ninguno mayor de 6 cm en su mayor dimensión.
N3	Metástasis en un ganglio linfático de más de 6 cm en su mayor dimensión.

M = METÁSTASIS A DISTANCIA

MX	No se puede evaluar la metástasis a distancia.
M0	Sin metástasis a distancia.
M1	Metástasis a distancia.

Derivado de esta clasificación se establecen los estadios clínicos (Tabla 3). Los estadios I y II engloban el período inicial, donde la tasa de supervivencia suele ser elevada, mientras que los estadios III y IV representan las fases avanzadas de la enfermedad, donde el pronóstico empeora drásticamente.^{2,7}

Tabla 3. ESTADIFICACIÓN DE LOS CÁNCERES ORALES.¹²

Estadio 0	TisN0M0
Estadio I	T1N0M0
Estadio II	T2N0M0
Estadio III	T3N0M0
	T1N1M0
	T2N1M0
	T3N1M0
Estadio IVA	T4aN0M0
	T4aN1M0
	T1N2M0
	T2N2M0
	T3N2M0
	T4aN2M0
Estadio IVB	Any T, N3, M0
	T4B, Any N. M0
Estadio IVC	Any T, Any N, M1

3.9 Definición de bioinformática

El término "Bioinformática" fue utilizado por primera vez a mediados de la década de 1980 para describir la aplicación la tecnología de la información en las ciencias de la vida. Más tarde, la bioinformática se definió como "La ciencia de cómo se genera, transmite, recibe, almacena, procesa e interpreta la información en los sistemas biológicos" o, de forma más sencilla, "La aplicación de la ciencia de la información a la biología".¹³

La bioinformática ayuda al análisis y la interpretación de una gran gamma de datos biológicos empleando herramientas de softwares especializados, combinando diferentes principios de disciplinas como biología, informática, matemáticas, estadística, física e ingeniería (Fig. 8).¹⁴

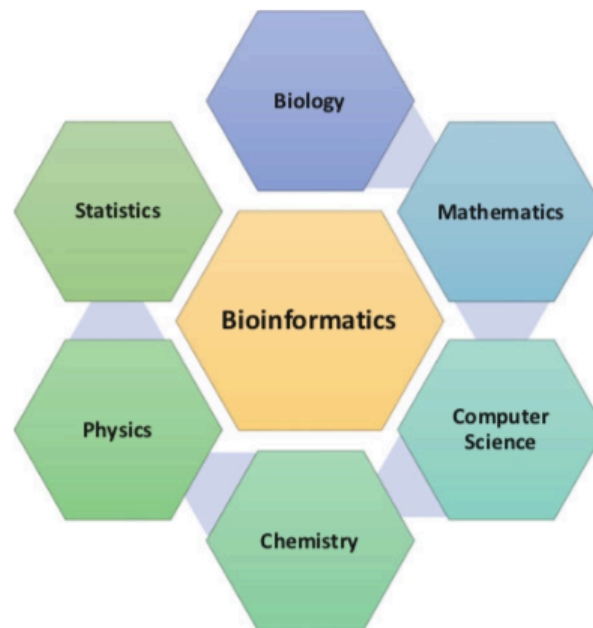


Figura 8. La bioinformática combina los principios de diferentes disciplinas.¹⁴

En las últimas décadas, la bioinformática se ha explorado ampliamente en muchas áreas de las ciencias biológicas. Utiliza la computación, algoritmo y software para obtener conocimiento de datos biológicos con fines de análisis, predicción, aplicación, obtención de imágenes y visualización.¹⁴

3.10 Importancia de la bioinformática

La investigación biológica se ha apoyado de la bioinformática utilizando sus algoritmos y programación informática. También la bioinformática ha contribuido en la comprensión de los principios de la secuencia de proteínas y organización de ácidos nucleicos llevando a otro nivel los estudios de la proteómica.¹⁴

En el campo de la biología molecular experimental, la metodología bioinformática como el procesamiento de imágenes y señales han ayudado a obtener resultados significativos de grandes cantidades de datos sin procesar. En la genética ayuda a secuenciar y anotar genomas y sus mutaciones visualizadas.¹⁴

El desarrollo de herramientas bioinformáticas ha hecho posible la expresión y regulación de genes y proteínas. Además, contribuye en el análisis, la comparación, y la interpretación de datos genéticos y genómicos (especialmente estudiando las características evolutivas de la biología molecular), apoya el análisis y la clasificación de rutas y redes biológicas que tienen importancia en la biología de sistemas. En el campo de la biología estructural ha ayudado en la simulación y el modelado de ADN, ARN, proteínas e interacciones biomoleculares.¹⁴

3.11 Aplicaciones de la bioinformática

En la última década, la bioinformática y sus aplicaciones han contribuido en varias áreas y han ayudado a acelerar las investigaciones, entre las cuales: la

inmunoinformática, la proteómica, la expresión génica, la biología evolutiva, la secuenciación de ADN y el análisis de genes y genomas (Fig. 9).¹⁴

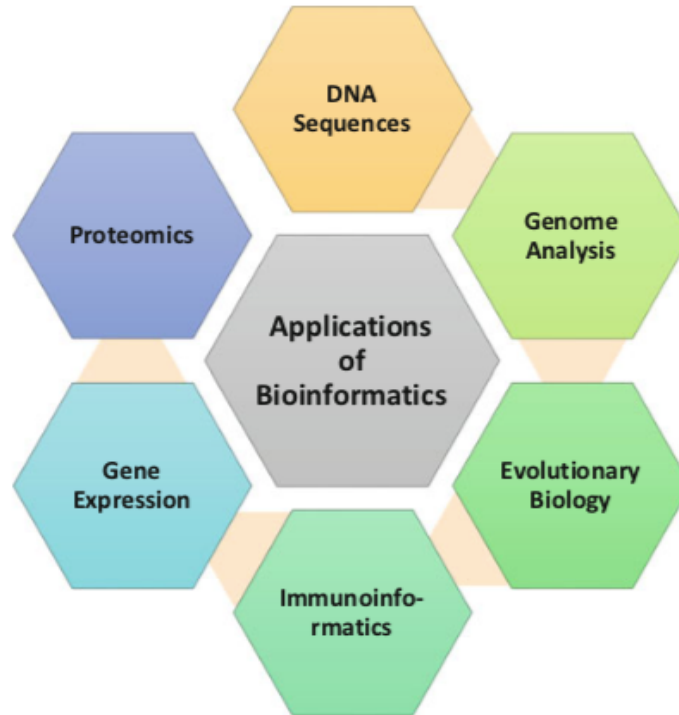


Figura 9. Aplicaciones de la bioinformática en diversas disciplinas.¹⁴

3.12 Aplicación de la bioinformática en enfermedades orales

La bioinformática y las herramientas ómicas han proporcionado un camino sistemático para conocer el funcionamiento de los procesos biológicos de los microorganismos.¹⁵

El utilizar las herramientas bioinformáticas para la microbiología periodontal ha permitido el descubrimiento de más de 600 especies de bacterias a través de la metodología de «checkerboard» (tablero de ajedrez), la cual se basa en hibridaciones DNA-DNA, y permite identificar bacterias a través de su genoma.¹⁶

En un solo ensayo por medio de esta técnica se pueden hacer 1 120 identificaciones de bacterias y cuantificarlas. Esto es importante, por la diferencia entre las bacterias que viven en una boca sana y en una enferma. Utilizando esta técnica Almaguer Flores et al. en la Facultad de Odontología, han podido describir la composición de la microbiota subgingival de pacientes mexicanos sanos y con enfermedad periodontal, y analizar las diferencias microbiológicas tanto de habitantes de la zona urbana, como de indígenas con diferente origen étnico.¹⁶

En el año 2010, Klein et al. Publicaron un estudio llamado “Dinámica del transcriptoma de *Streptococcus mutans* en respuesta al almidón y la sacarosa durante el desarrollo de biopelículas”, utilizando perfiles genómicos completos con una nueva herramienta computacional (MDV) para la extracción de datos. Descubrieron que la síntesis de proteínas y la expresión génica aumentaban cuando *S. mutans* crecía en biopelículas de especies mixtas, los genes específicos regulados al alza, se asociaron con la síntesis y remodelación de glucano (gtfBC, dexA) y la unión de glucano (gbpB).^{15,17}

Con la evolución de la bioinformática se han desarrollado diversas técnicas de biología molecular como: la mutación, deleción, amplificación, translocación y las modificaciones en la expresión génica o en el nivel de metilación, las cuales nos ayudan a detectar alteraciones que inducen el crecimiento celular anormal.¹⁵

En trastornos orales potencialmente malignos, como la leucoplasia oral, se ha utilizado la tecnología microarray para identificar genes que puedan servir de biomarcadores para las lesiones displásicas con potencial para progresar a COCE, y de esta manera establecer la tecnología microarray como el método de elección para analizar los marcadores potenciales de progresión de la displasia epitelial.¹⁵

Por medio de la tecnología microarray se han podido identificar una variedad de genes la mayoría involucrados en procesos de respuesta inflamatoria, adhesión células y en señales de transducción, reguladores del ciclo celular, reparadores del ADN, genes con función antioxidante o marcadores de diferenciación. Según su función celular se puede resaltar a EGFR, C-myc, las ciclinas A y D1, Ki67, Bcl-2, H-RAS para proliferación y ciclo celular; p53, Bax, Rb, p16, p21, p27 y maspina para supresión tumoral; EGFR, VEGF para angiogénesis; y caderinas, cateninas, MMPs, integrinas y proteína S100 para invasión y metástasis.¹⁵

En el año 2021 Pillai et al. realizaron una revisión sistemática de los biomarcadores o indicadores medibles del estado biológico proteómicos en el COCE. Esta se centró en técnicas de proteómica del cáncer y descubrimiento de biomarcadores con el uso de dichas técnicas, las cuales se utilizan en la identificación de proteínas que se alteran en el proceso de la enfermedad o en respuesta al tratamiento o al estadio y curso de la enfermedad.¹⁸ Con este tipo de estudios se demostró que solo a través de enfoques bioinformáticos se puede manejar cantidades elevadas de información.¹⁸

4. Planteamiento del problema

Aunque el tratamiento y el diagnóstico del cáncer oral ha evolucionado en los últimos 30 años, uno de los principales inconvenientes es que el tiempo entre la sospecha de un TOPM, el diagnóstico y la transformación maligna es muy corto lo cual aumenta las cifras de morbilidad y mortalidad de esta enfermedad aunado a eso el carcinoma oral en la mayoría de los casos es asintomático por lo cual se diagnostica en estadios muy avanzados.

Además de todos los factores de riesgo para el desarrollo del cáncer oral, el genoma del COCE tiene una carga mutacional y grandes cambios cromosómicos. Se ha propuesto que el carcinoma oral se desarrolla a través de la acumulación progresiva de cambios moleculares en genes supresores de tumores y oncogenes, hasta que el último de los cambios requeridos complete el genotipo de cáncer oral y la invasión desencadenante. Esto se ve respaldado por un aumento gradual de mutaciones y alteraciones cromosómicas en lesiones displásicas y se han propuesto firmas genéticas específicas para predecir la transformación.

Los biomarcadores podrían ser una excelente alternativa como herramienta para lograr la detección del proceso de transformación maligna oral de manera temprana, tener más posibilidades de un buen pronóstico al momento de establecer un diagnóstico y un plan de tratamiento, o poder abrir una brecha para estudios de nuevos enfoques de tratamientos en genes sobreexpresados y los biomarcadores relacionados.

Por lo que necesitamos de la bioinformática en conjunto con la genómica y la oncología para discernir el tratamiento más eficiente de cada paciente, macrodatos de análisis y procesamientos para analizar los datos que converjan y nos encaminen a posibles blancos de estudio para terapias y

diagnósticos, con la ayuda de estos pilares poder predecir la transformación maligna oral, aunque exista o no presencia de TOPM y factores de riesgo.

Complementar los gold standard de la evaluación clínica para la recopilación de datos y poder predecir el riesgo de transformación maligna en presencia de TOPM o cuando existen factores de riesgo en pacientes y la susceptibilidad a un progreso de CIS y/o COCE y tal vez encontrar algún biomarcador patognomónico molecular.

5. Justificación

El COCE representa aproximadamente el 4 % de las neoplasias malignas, es el cáncer más común en boca representando el 90 % de todos los cánceres de la cavidad oral. El tiempo que transcurre entre la sospecha de un TOPM o por alguna otra afectación de la mucosa oral y la evolución a COCE es muy corto, y el hecho que no todos los TOPM progresan a COCE si no que surgen de una mucosa clínicamente sana, ocasiona que el diagnóstico y el plan de tratamiento sean tardíos y tengan un pronóstico desfavorable para estos pacientes.

El COCE al ser diagnosticado en etapas avanzadas sugiere un tratamiento muy invasivo por lo que, si el paciente logra sobrevivir, no tener metástasis ni recidiva, su calidad de vida se ve perjudicada por los efectos secundarios de los tratamientos; quimioterapia, radioterapia, enucleación, resección en bloque entre otros. Además, que no existe un manejo generalizado para todos los pacientes, cada caso es particular.

Y dado que la progresión del cáncer es heterogénea es de suma importancia poder aprender del comportamiento de esta enfermedad, sabemos que el genoma del COCE tiene una carga mutacional y grandes cambios cromosómicos. Se ha propuesto que este se desarrolla a través de la acumulación de cambios moleculares claves en genes supresores de tumores y oncogenes, hasta que el último de los cambios requeridos complete el genotipo de cáncer oral y la invasión desencadenante.

La transformación maligna no es un proceso aditivo constante, sino un recambio funcional el cual preserva la actividad proliferativa central, adicionando procesos que conllevan a la inestabilidad genómica. Es una condición con cambios genéticos, tisulares y moleculares. Por lo que comprender su proceso patogénico se ha convertido en un tema de

investigación, además de la búsqueda de biomarcadores para obtener un diagnóstico oportuno y tratamientos que reduzcan la transformación maligna oral, los cuales pueden ser abordados con métodos asistidos computacionalmente.

Los estudios de genómica y proteómica en TOPM y COCE generan una gran cantidad de información sobre los biomarcadores relacionados por los cual los estudios de bioinformática proporcionan métodos y herramientas para el analizar estos datos, poblaciones de patógenos, epidemiología genómica y discernir con respecto a la supervivencia.

Implementar las herramientas bioinformáticas para el estudio del COCE nos ayuda a poder manejar de forma eficaz los datos recopilados día con día y entender el comportamiento de esta patología, detectar niveles de expresión genética, analizar e interpretar datos, cuantificar y describir las proteínas, identificar cambios a nivel genético y proteico, evaluar la interacción celular a nivel proteína - proteína, comprender la función e interacción entre los genes, detectar y comprender el funcionamiento de nuevos genes supresores tumorales, protooncogenes y alteraciones genéticas implicadas en el COCE.

Los estudios bioinformáticos y su verificación mediante ensayos moleculares como PCR, Western Blot, inmunohistoquímica, tecnología microarrays y otras bases de datos bioinformáticos son un requisito obligado para estimar la utilidad de genes candidatos. Además de resultar reproducibles y accesibles. Complementaría a los métodos convencionales de diagnóstico y examinando a nivel genómica y proteómica poder establecer biomarcadores que puedan aplicarse en el diagnóstico (comprobar de manera óptima los falsos negativos o positivos) y tratamiento en presencia COCE.

6. Hipótesis

A través del análisis bioinformático se observará un grupo de genes comunes que presentarán sobreexpresión durante el proceso de transformación de displasia a COCE.

7. Objetivos

Objetivo Principal: Determinar cuáles son los genes más relevantes en el proceso de transformación maligna oral a través de un estudio bioinformático.

8. Métodos

8.1 Universo y muestra

Para la obtención de los genes diferencialmente expresados se utilizó la base de datos pública y gratuita de micromatrices / perfiles genéticos NCBI-GEO <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/> y se obtuvo el perfil de expresión génica de GSE 46802 para la progresión de la tumorigénesis oral para análisis de displasias, Carcinoma In Situ (CIS) y Carcinoma Oral de Células Escamosas (COCE).

8.2 Descripción y operacionalización de todas las variables

Nombre	Definición conceptual	Definición Operacional
GED (Genes expresados diferencialmente)	Aquellos genes que tras ser sometidos a la evaluación de un software tienen	Genes que tras su análisis estadístico de la tasa de descubrimiento falso de Benjamini & Hochberg

	importancia en el proceso que se evalúe.	con una $P < 0.05$ y $FC > 1$ serán considerados para integrar la lista de displasia, CIS y COCE.
Gen significativo en GO (Gene Ontology)	Aquellos genes que tuvieron significancia post análisis de enriquecimiento en conjuntos.	Serán los genes obtenidos de criterios GO que posterior a su análisis resulten significativos con un $p < 0.05$.
Gen significativo en KEGG (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genoma)	Los genes que tuvieron una vinculación en el análisis de enriquecimiento funcional.	Serán los genes obtenidos de criterios KEGG que posterior a su análisis resulten significativos con un $p < 0.05$.
Gen MCODE agrupado >2	Genes que indiquen agrupación significativa.	Serán aquellos genes que posterior a su análisis MCODE presente un corte de agrupación mayor a 2.
Gen significativamente relacionado con supervivencia (P y HR)	Aquel gen que muestre una relación significativa con la	Dentro del listado de genes que fueron seleccionados se considerará

	supervivencia de pacientes con COCE.	significativo aquellos que cumplan con una HR mayor a 1, y P menor a 0.5.
--	--------------------------------------	---

8.3 Diseño general de la investigación

8.3.1 Genes Diferencialmente Expresados

Para la obtención de los genes diferencialmente expresados se utilizó la base de datos pública y gratuita de microarreglos / perfiles genéticos NCBI-GEO (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/geo2r/>) y se obtuvo el perfil de expresión génica de GSE 46802 para la progresión de la tumorigénesis oral.

Todos los datos de microarrays se obtuvieron del Agilent-014850 Whole Human Genome Microarrays 4x44k que incluía 10 mucosas normales, 10 displasias, 3 carcinomas in situ y 7 carcinomas orales de células escamosas.

Se realizó el análisis comparativo para determinar la expresión de genes sobrerregulados en displasia (comparando la base de mucosa normal contra displasia), CIS (comparando displasia contra CIS) y COCE (comparando CIS contra COCE). Para obtener los GDE se empleó el análisis de Tasa de descubrimiento falsos de Benjamini & Hochberg, considerando para la selección de genes aquellos que tuvieran una $p < 0.05$ y un $\log FC > 1$.

8.3.2 Análisis de enriquecimiento funcional

La lista de genes > 1 FC se sometió al software DAVID (Database for Annotation, Visualization and Integrated Discovery) versión 6.8 (<https://david.ncifcrf.gov/>) para analizar las funciones de los genes diferencialmente expresados por las bases de datos Gene Ontology (GO) (<http://geneontology.org/>) para Proceso Biológico (BP), Análisis Molecular de

Función (MF), y Componente Celular (CC); así como para su enriquecimiento de la ruta a través de la base Kyoto Encyclopedia of Genes and Genoma (KEGG) (<https://www.genome.jp/kegg/>). Se consideraron sólo criterios con significancia estadística ($p < 0.05$).

Se realizó un diagrama de Venn para GO y KEGG de ambas neoplasias y se determinó que funciones eran similares para ambas. Base de datos más usados, listado de genes enriquecidos bioinformáticamente se vinculan para saber si trabajan solos o de manera conjunta.

8.3.3 Interacción Proteína - Proteína (IPP) y análisis MCODE

Los genes significativos obtenidos de los criterios de GO y KEGG fueron sometidos al análisis de interacción proteína-proteína en la base de datos Search Tool the Retrieval of Interacting Genes (STRING; versión 11.0) (<https://string-db.org/>) para reconocer secuencia y redes de interacción. La red de interacción obtenida fue sometida al Software Cytoscape (<https://cytoscape.org/>) para determinar la Detección del Complejo Molecular del Complemento por la aplicación MCODE. Se consideró como criterios de selección corte de grado = 2, corte de puntuación de nodo = 0.2, k= core 2 profundidad máxima =100. Se seleccionó a los genes agrupados con un MCODE score >2. De los listados de genes resultantes se realizó un diagrama comparativo de Venn para observar que genes convergen entre displasia, CIS y COCE.

8.3.4 Análisis de Kaplan- Meier

Los genes resultantes de la selección MCODE fueron analizados para determinar su relación con supervivencia. A través del análisis in silico Kaplan-Meier online <https://kmplot.com/analysis/> ajustando el umbral de seguimiento a 60 meses en supervivencia total en carcinoma de células escamosas de

cabeza y cuello. Se seleccionaron únicamente aquellos genes con un HR > 1 (Hazard ratio o cociente de riesgo) y una $p < 0.05$.

8.3.5 Análisis GEPIA

Para validar los genes cuya sobreexpresión significativamente se relaciona con supervivencia se recurrió al análisis interactivo de perfiles de expresión génica (GEPIA Online: <http://gepia.cancer-pku.cn/index.html>) empleando datos del Genotype - Tissue Expression (GTEx) y The Cancer Genome Atlas (TCGA) para el carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello (HNSCC) seleccionando únicamente aquellos con una $p < 0.05$. De los listados de genes resultantes se realizó un diagrama comparativo de Venn para observar que genes convergen entre displasia, CIS y COCE.

8.3.6 Metascape

Para confirmar su relación con procesos oncogénicos, cada lista de genes resultante se verificó en la base Metascape <https://metascape.org/>, considerando la hoja de resultados Disgenet para determinar esta asociación.

9. Resultados

Variables clínicas

Los resultados obtenidos respecto a las variables clínicas obtenidas según la localización fueron 9 especímenes localizados en lengua y 1 en la parte frontal de boca. Y la distribución por género fue de 5 pacientes mujeres y 5 pacientes hombres (Fig. 10). De la hoja de datos GSE 46802 para el análisis de displasia, CIS y COCE se obtuvieron 10 pacientes; 10 mucosas normales, 10 displasias, 3 CIS y 7 COCE.

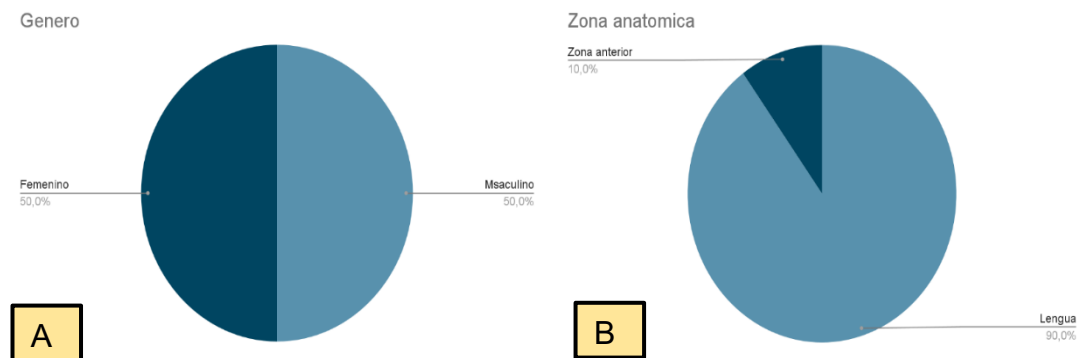


Figura 10. (A) Distribución por género. (B) Localización de las variables clínicas.

Genes Expresados Diferencialmente

Los resultados correspondientes a genes expresados diferencialmente con un $FC > 1$ en displasia es de 47 genes, CIS 2156 genes, y COCE 1524 genes (Fig. 11).

Genes diferencialmente expresados

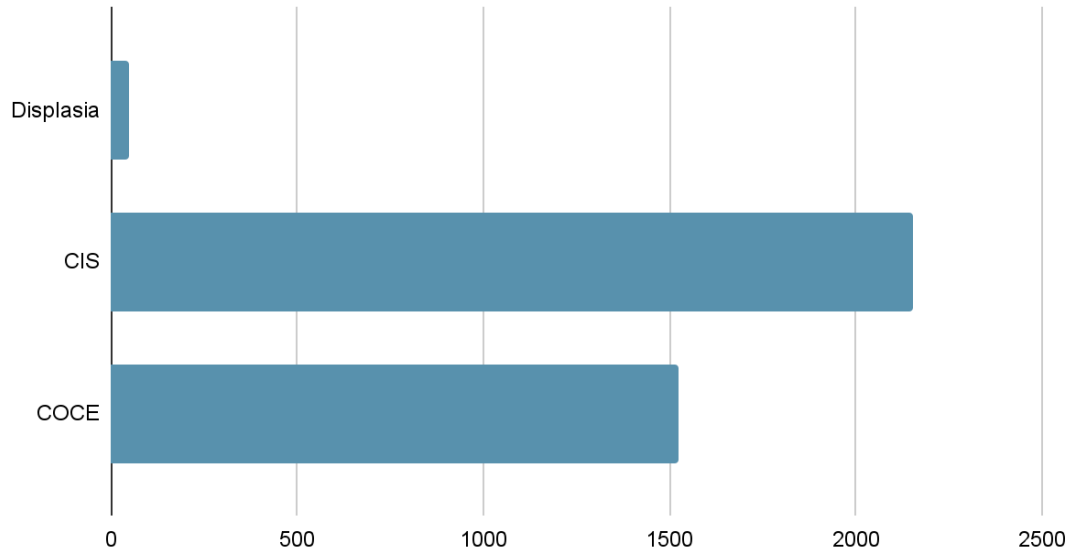


Figura 11. Gráfica de genes diferencialmente expresados para displasia, CIS y COCE.

Gene Ontology y Kyoto Encyclopedia of Genes and Genoma

El resultado de enriquecimiento génico en los análisis de Gene Ontology y Kyoto Encyclopedia of Genes and Genoma con vinculación en relación a: Procesos biológicos (BP) para displasia se observó 13 criterios significativos, en CIS fueron 150 criterios, y en COCE 93 criterios. Para funciones moleculares (MF) en displasia se obtuvieron 4 criterios, CIS 53 criterios, y COCE 46 criterios. En el caso de componente celulares (CC) para displasia son 7 criterios, CIS 102 criterios y para COCE 66 criterios. Para los criterios de señalización (KEGG) corresponden para displasia 4 criterios, CIS 36 criterios y COCE 22 criterios (Fig.12).

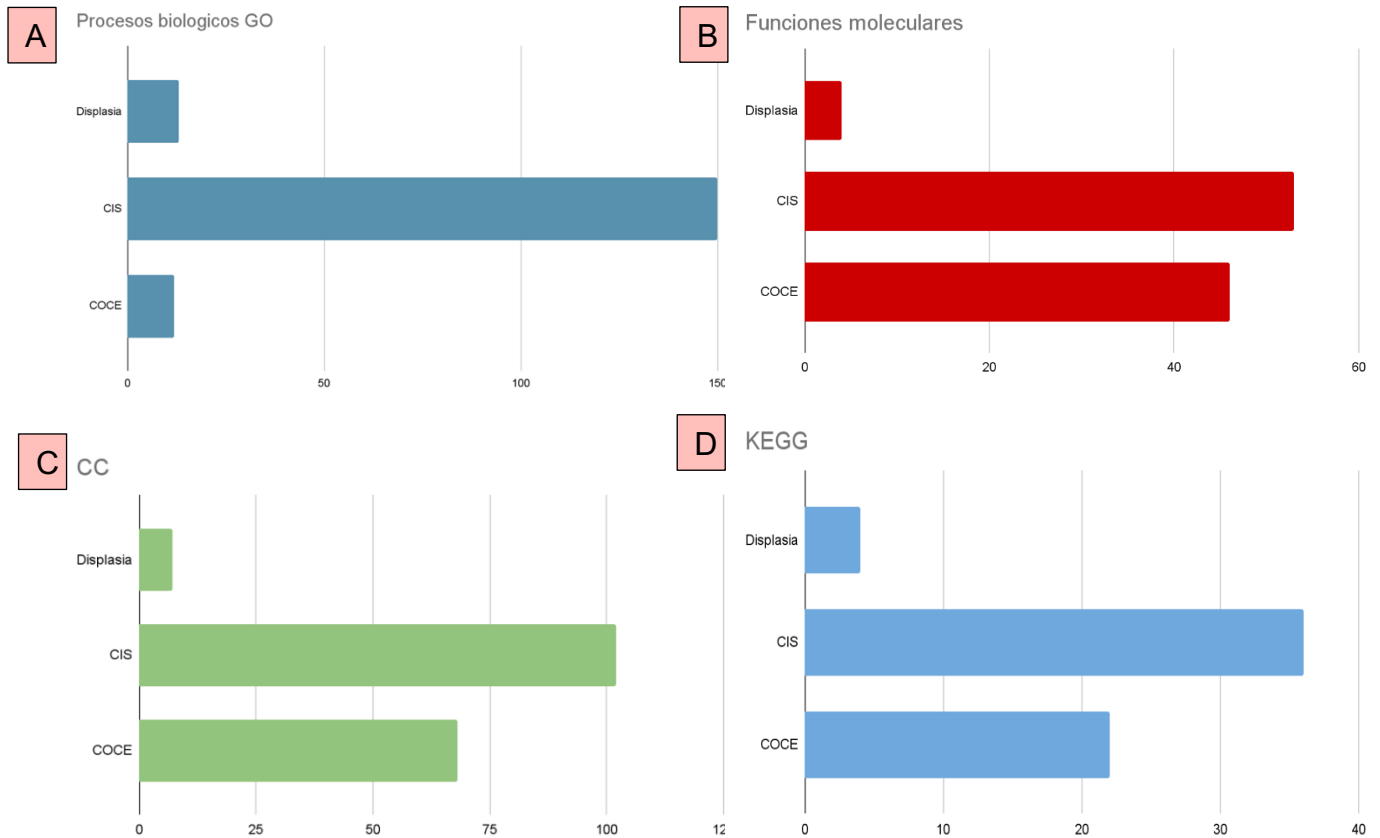


Figura 12. Gráfica de resultados; (A) Procesos biológicos GO, (B) Funciones Moleculares, (C) Componentes Celulares, (D) Vías de Señalización.

Interacción Proteína – Proteína

Obtuvimos que los genes correspondientes a los criterios enriquecidos para generar una red de interacción proteína - proteína. En displasia se generó una red de 26 genes, en CIS se emplearon 252 genes para su interacción y en COCE se emplearon 199 genes para la IPP (Fig. 13).

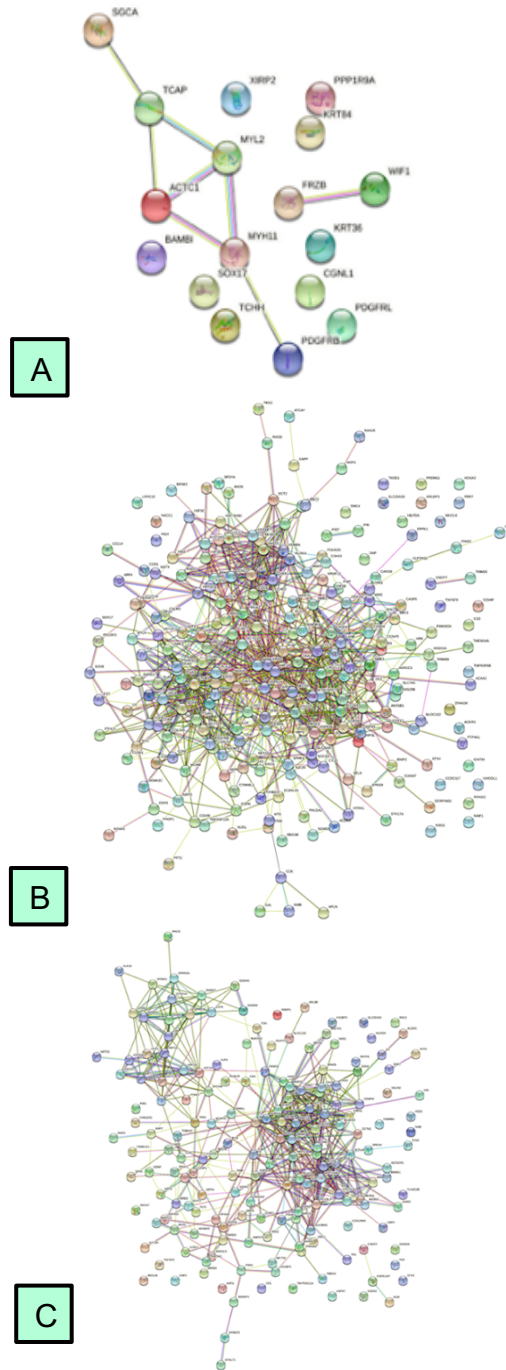


Figura 13. (A) IPP displasia, (B) IPP CIS, (C) IPP COCE.

Con el software Cytoscape y su aplicación MCODE para determinar cuáles fueron los genes agrupadores de cada red de interacción en displasia, CIS y COCE indico que de los 26 genes de displasia 4 fueron considerados agrupadores, en CIS de los 252 genes se obtuvieron 71 genes agrupadores y de COCE de los 199 genes resultaron en este análisis 45 genes (Tabla 5).

Tabla 5. Resultados MCODE genes agrupadores.

Displasia	CIS			COCE	
ACTC1	ACTG1	EREG	MCM2	ACTL6A	MCM5
MYH11	AIFM1	FADD	MET	AURKA	MEAF6
MYL2	AIM2	GAL	MYCN	BRCA1	MORF4L1
TCAP	ARF4	H3F3B	NMB	CDSN	MRGBP
	ATG5	H3F3C	PARK7	CKS1B	NCAPD2
	AURKA	HIF1A	PDGFRB	CKS2	OIP5
	C12orf5	HIST2H3D	PFKL	CSTA	PARD3
	CALM2	HK2	PHB	ESCO2	PARD6G
	CASP4	HSPA1A	PPIF	EPC1	PCNA
	CASP5	IGFBP3	PPP2CB	FANCI	RFC3
	CAV1	ING2	PSMD10	GMNN	RRM1
	CCK	IRS1	PTGS2	GPSM2	RUVBL1
	CCND2	ITGA3	RAD21	HIST1H3J	RUVBL2
	CCNE1	ITGA6	RB1	HIST1H4F	S100A7
	CDC25B	ITGAV	SLC2A1	KAT5	SMARCA4
	CDK1	ITGB1	SLC25A5	KRT4	SPAG5
	CDK6	KDM6A	SNAI2	KRT13	SPRR1A
	CEBPA	KRAS	SOD2	KRT14	SPRR3
	CHEK1	KRT18	SPHK1	KRT16	SPRR1B
	CKS1B	LAMA3	SUZ12	KRT17	SPRR2G
	CKS2	LAMC2	TGFB2	KRT33A	SUPT16H
	CYCS	LDHA	XBP1	LLGL2	TGM1

	DDX3X	LOX	YWHAZ	LOR	
	ECT2	MAD2L1			

Los genes resultantes fueron integrados en un diagrama de Venn, para estimar coincidencias. No se encontró coincidencia entre los 3 estados (displasia, CIS y COCE), sin embargo, entre CIS y COCE se observó coincidencia de tres genes que se conservaban en estos dos procesos, los cuales eran CK1B, AURKA y CKS2 (Fig. 14).

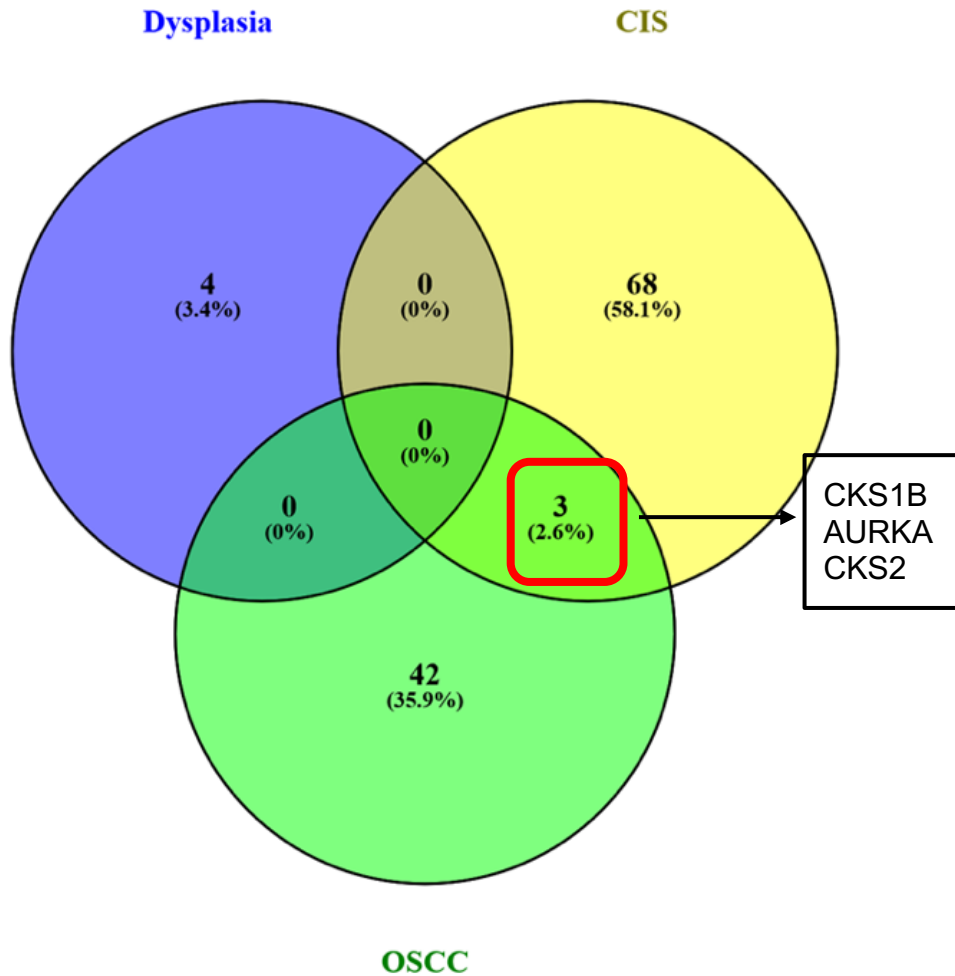


Figura 14. Primer diagrama de Venn , relación entre displasia, CIS y COCE.

Análisis de supervivencia Kaplan - Meier

Al realizar el análisis Kaplan-Meier on line para estimar relación son supervivencia total a 60 meses ante estados de sobreexpresión de los genes observamos que en displasia los 4 genes MCODE significativos mostraron significancia en el análisis; en CIS solo 38 genes presentaron relación significativa y en COCE solo 12 presentaron significancia (Tabla 6).

Tabla 6. Resultados Análisis Kaplan - Meier ($p < 0.05$).

DISPLASIA	CIS			COCE
ACTC1	ACTG1	ECT2	LOX	ACTL6A
MYH11	AIFM1	EREG	MAD2L1	AURKA
MYL2	ARF4	FADD	MET	CKS1B
TCAP	ATG5	GAL	PARK7	HIST1H3J
	AURKA	IGFBP3	PHB	HIST1H4F
	CALM2	ITGA3	PPIF	KAT5
	CASP5	ITGA6	PSMD10	MORF4L1
	CAV1	ITGB1	SLC2A1	MRGBP
	CCK	IRS1	SLC25A5	RFC3
	CCND2	KRT18	SNAI2	RUVBL1
	CDK6	LAMA3	XBP1	RUVBL2
	CKS1B	LAMC2	YWHAZ	SUPT16H
	CYCS	LDHA		

Análisis GEPIA de validación de supervivencia

En la validación de relación de la sobreexpresión de genes candidatos con la supervivencia, en displasia solo 3 genes conservaron significancia, en CIS solo 17 permanecieron con relación significativa y en COCE fueron 5 genes significativamente relacionados con la supervivencia (Tabla 7).

Tabla 7. Resultados del análisis GEPIA supervivencia ($p < 0.05$).

DISPLASIA	CIS		COCE
MYH11	AURKA	MAD2L1	ACTL6A
MYL2	CAV1	MET	AURKA
TCAP	CCK	SLC2A1	CKS1B
	CDK6	SNAI2	MRGBP
	ECT2		RUVBL1
	FADD		
	IGFBP3		
	ITGA3		
	ITGA6		
	ITGB1		
	LAMA3		
	LAMC2		
	LOX		

Al integrar un segundo diagrama de Venn observamos que solo entre CIS y COCE se observó coincidencia para el gen AURKA (Fig.15).

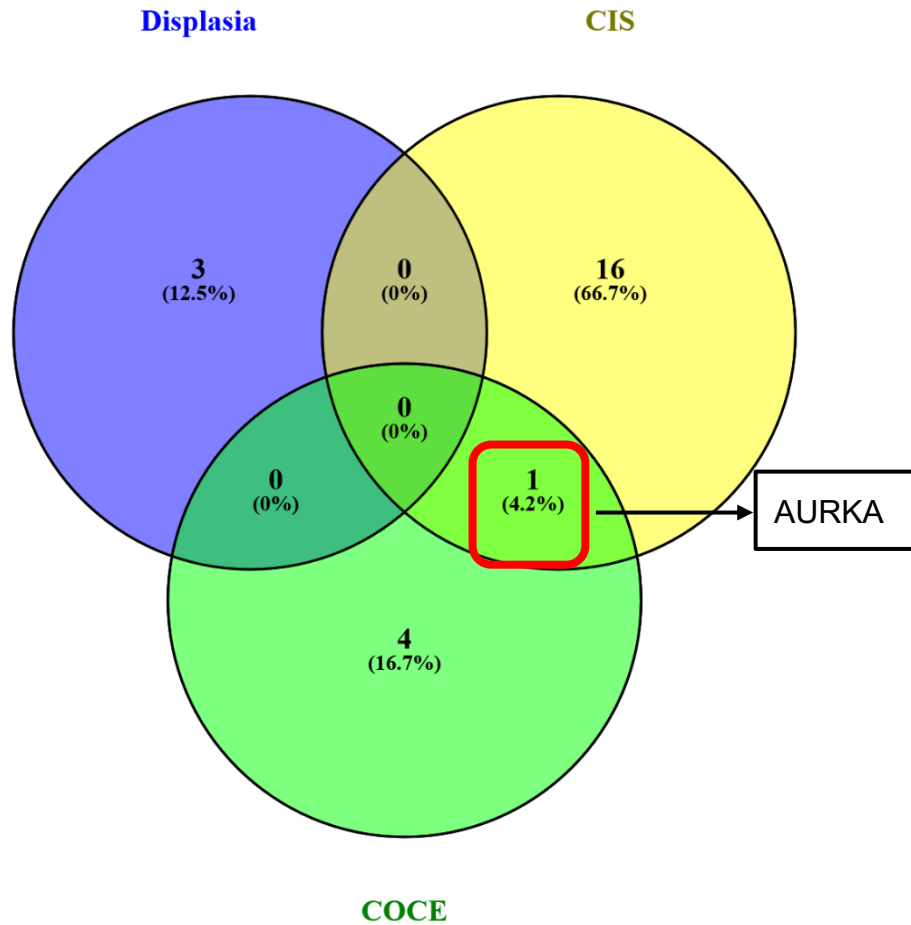


Figura 15. Segundo diagrama de Venn , relación entre displasia, CIS y COCE.

Metascape

Para confirmar la pertinencia u asociación de los genes candidatos con algún proceso patológico empleamos la plataforma Metascape. En displasia, los genes asociados significativamente con supervivencia no pueden ser

considerados como determinantes en algún proceso oncogénico. Sin embargo, para CIS y COCE si se presente pertinencia para procesos oncológicos (Fig.16).

En el proceso de CIS si existe una fuerte asociación. (Entre los cuales; Adenocarcinomas, cáncer de cabeza y cuello, etc.)

En el proceso de COCE; no tuvo una vinculación directa con alguna enfermedad, pero con una fuerte asociación con procesos neoplásicos y regulación del ciclo celular.

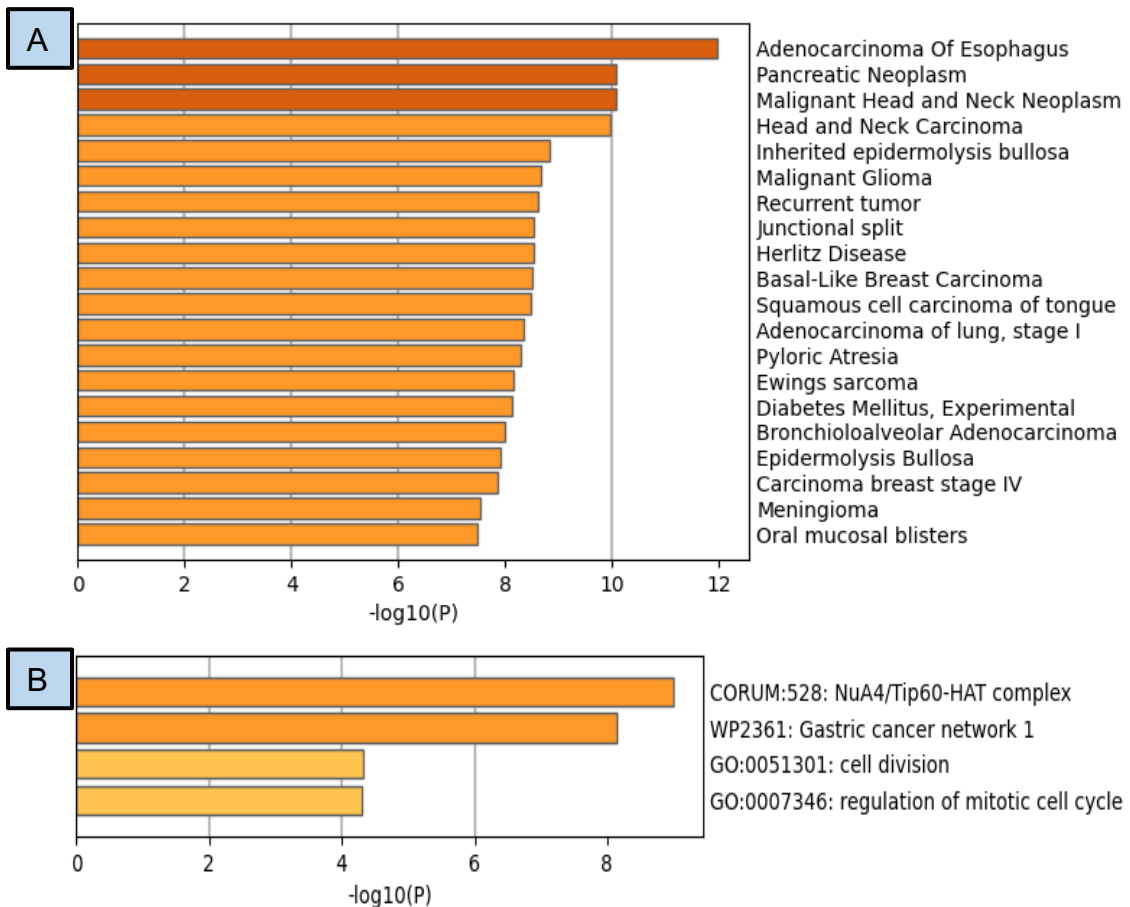


Figura 16. (A) Gráfico resultado post enriquecimiento en Metascape para CIS
(B) Gráfico resultado post enriquecimiento en Metascape para COCE.

10. Discusión

El COCE es un problema de salud pública, cuya investigación desde diferentes enfoques metodológicos es necesaria.⁵ Según lo reportado, la zona anatómica de mayor frecuencia para la detección del COCE es la parte lateral de lengua.^{1,7} Esto coincide con los resultados obtenidos de la base de datos analizada. Estos datos nos refuerzan el hecho de que durante la inspección intraoral si observamos lesiones ulceradas o nodulares en esa zona en pacientes con antecedentes de factores de riesgo como tabaco o alcohol, es necesario realizar protocolos clínicos que nos ayuden a descartar o confirmar el diagnóstico de cáncer oral. Respecto al género, es común observar que exista una mayor predilección de pacientes masculinos, sin embargo, nuestros datos no indican esa tendencia. Wolfer S et al. han reportado que el género puede ser una variable importante no solo para la frecuencia, sino también para indicar la severidad o grado de afección, no obstante, la recomendación general es que sin importar el género si existen datos de factores de riesgo es necesario aplicar un protocolo de diagnóstico.¹⁹

En el análisis bioinformático los genes expresados diferencialmente y de enriquecimiento por Gene Ontology y Kyoto Encyclopedia of Genes and Genoma pudimos observar como el número de genes en el proceso de transformación de displasia a CIS aumentó de manera exponencial; de 47 genes en displasia creció a 2156 genes en CIS y en COCE se redujo a 1524. Esto sugiere que el aumento del número de genes de displasia a CIS puede ser el responsable de los cambios celulares y arquitectónicos, sin embargo, serán otros los mecanismos que conlleven a este proceso a tener propiedades francamente neoplásicas e invasivas como las observadas en el COCE.

Ante esta gran cantidad de datos la bioinformática tiene valor al podernos presentar una alternativa metodológica que resalte hallazgos significativos. La red de IPP, análisis de supervivencia por Kaplan-Meier y GEPIA trata de

obtener esos biomarcadores significativos. Los resultados sobre quiénes serían los posibles candidatos responsables de los procesos patogénicos en displasia (MYH11, MYL2 y TCAP), nos indican que estos genes se asocian con procesos de motilidad celular²⁰, sin embargo, también se ha demostrado que la alteración de su expresión puede ser parte del desarrollo de neoplasias tales como cáncer de pulmón²¹, leucemia mieloide aguda^{22,23}, cáncer gástrico²⁴, cáncer colorrectal^{25,26}, y del rhabdomyosarcoma²⁷. Su aproximación como biomarcadores del proceso displásico en el COCE^{28,29,30} a través de un análisis bioinformático nos abre el panorama para estimar si estos pueden servir como blancos terapéuticos o de diagnóstico temprano.

En el proceso de transformación del CIS, de los 17 genes significativos observamos vinculación con regulación del ciclo y división celular (AURKA, CAV1, CDK6, ECT2, FADD, IGFBP3, LOX, MAD2L1, MET, SNAI2²⁰), apoptosis (FADD, SNAI2²⁰), adhesión celular e interacción con matriz extracelular (ITGA3, ITGA6, ITGB1, LAMA3, LAMC2)²⁰. Su participación en procesos neoplásicos ha sido reportada para cáncer de pulmón^{31,32,33}, mama^{34,35,36,37,38,39,40}, gastrointestinal^{41,42,43}, melanoma^{44,45}, leucemia^{46,47}, colorrectal^{48,49,50}, páncreas^{51,52,53}, próstata^{54,55}, papilar de tiroides⁵⁶, ovario^{57,58,59}, vejiga⁶⁰, y también para COCE.^{61,62,63,64,65,66,67,68,69}

Un carcinoma in situ se considera una displasia severa, donde histológicamente se observan características citológicas propias del COCE sin transgredir o invadir la membrana basal.⁷ El observar funciones celulares importantes como la proliferación celular u apoptosis puede alterarse por cambios en estos genes no solo convierte a estos en blancos diagnósticos o terapéuticos, sino también muestra que los cambios en el proceso de transformación maligna tienen un grado de complejidad importante.

En el COCE los genes significativamente relacionados se vincularon con regulación de la cromatina²⁰, proceso de transcripción génica²⁰, recombinación

y reparación del ADN²⁰, así como con el ciclo y división celular²⁰. Su relación con neoplasias como cáncer de colón⁷⁰, ovario⁷¹, páncreas^{72,73}, colorrectal⁷⁴, mama⁷⁵, pulmón⁷⁶ y COCE^{61,77,78}. Estos genes en su mayoría se relacionan con procesos de estabilidad genómica, lo que nos sugiere que cuando se observan cambios citogenéticos en las células neoplásicas pueden deberse a ellos, y que aunado a los efectos sobre el potencial proliferativo pueden ser los responsables de las características del carcinoma. Un gen importante que se observó tanto en CIS y COCE fue AURKA, la cual tiene participación en la regulación del centrosoma y los microtúbulos del huso en la mitosis, el que esté presente en dos partes del proceso de transformación lo convierte en un tema de investigación importante.

11. Conclusiones

De todas las funciones que tiene la bioinformática una de las más importantes en el área de la oncología es poder emplear esta herramienta para determinar el proceso de transformación maligna oral. La transformación maligna tiene una progresión heterogénea, no es un proceso aditivo constante, es un recambio funcional, con procesos tales como la actividad proliferativa aunada con procesos que conllevan a la inestabilidad genética. Todo esto da como resultado la búsqueda de posibles biomarcadores, nuevos blancos de estudio que ayuden a verificar la importancia de estos genes resultantes para verificar su relación con los procesos de displasia, CIS y COCE. Con nuestro enfoque bioinformático podemos concluir que las displasias sus principales genes alterados son los vinculados con motilidad y arquitectura celular, los genes relacionados a CIS reguladores del ciclo y división celular, apoptosis, adhesión celular e interacción con matriz extracelular; mientras que los relacionados con el COCE son participes de regulación de la cromatina, transcripción génica, recombinación y reparación del ADN, y del ciclo y división celular. Por medio de estas herramientas bioinformáticas es posible generar ensayos que nos ayuden a verificar su relación con variables clínicas, y posiblemente blancos terapéuticos para abordajes tempranos.

12. Referencias bibliográficas

- 1) Sloan P, Gale N, Hunter K, Lingen M, Nylander K, Reibel J, et al. Tumours of the oral cavity and mobile tongue; Squamous Cell Carcinoma. En: Adel K. El- Naggar, John K.C. Chan, Jennifer R. Grandis, Takashi Takata, Pieter J. Slootweg, editores. WHO Classification of Head and Neck Tumours. 4th Edition. IARC, Lyon, 2017. p. 109 - 111.
- 2) García-García V, Bascones Martínez A. Cáncer oral: Puesta al día. Av. Odontoestomatol. 2009; 25 (5): 239 - 248.
- 3) Ganesh D, Sreenivasan P, Öhman J, Wallström M, Braz-Silva PH, Giglio D, et al. Potentially Malignant Oral Disorders and Cancer Transformation. Anticancer Res. 2018; 38 (6): 3223 - 3229.
- 4) Dan H, Liu S, Liu J, Liu D, Yin F, Wei Z, et al. RACK1 promotes cancer progression by increasing the M2/M1 macrophage ratio via the NF- κ B pathway in oral squamous cell carcinoma. Mol Oncol. 2020; 14 (4): 795-807.
- 5) Ferlay J, Ervik M, Lam F, Colombet M, Mery L, Piñeros M, et al. Estadísticas globales de cáncer 2020: estimaciones de GLOBOCAN de incidencia y mortalidad en todo el mundo para 36 cánceres en 185 países. CA Cáncer J Clin. 4 de febrero de 2021. (citada 13 marzo 2022) Disponible en: <https://gco.iarc.fr/today/home>
- 6) Robledo-Sierra J, Ben-Amy DP, Varoni E, Bavarian R, Simonsen JL, Paster BJ et al. World Workshop on Oral Medicine VII: Targeting the

oral microbiome Part 2: Current knowledge on malignant and potentially malignant oral disorders. *Oral Dis.* 2019; 25 Suppl 1: 28 - 48.

- 7) Scully Crispian. Cáncer. En: Churchill Livingstone, Elsevier. *Oral and Maxillofacial Medicine: The Basis of Diagnosis and Treatment*. Second edition. Edinburgh, London, New York, Oxford, Philadelphia, St. Louis, Sydney, Toronto: Elsevier; 2008. p. 177 - 190.
- 8) Wong T, Wiesenfeld D. Oral Cancer. *Aust Dent J.* 2018; 63 (Suppl 1): S91- S99.
- 9) Pindborg JJ, Reichart PA, Smith CJ, van der Waal I. Carcinomas. En: WHO, editor. *Histological Typing of Cancer and Precancer of the Oral Mucosa*. Segunda edición. Berlin, Heidelberg, New York, Barcelona, Budapest, Hong Kong, London, Milan, Paris, Santa Clara, Singapore, Tokyo. WHO, Springer: 1997. p. 11-16.
- 10) Odell, EW. Aneuploidy and loss of heterozygosity as risk markers for malignant transformation in oral mucosa. *Oral diseases.* 2021; 27:1993 – 2007.
- 11) Johnson DE, Burtress B, Leemans CR, Lui VWY, Bauman JE, Grandis JR. Head and neck squamous cell carcinoma. *Nat Rev Dis Primers.* *Nat Rev Dis Primers.* 2020; 6 (1): 92
- 12) Wenig Bruce M. Neoplasms of the oral cavity, nasopharynx, oropharynx, and neck. En: Schmitt W, editor. *Atlas of Head and Neck Pathology*. Second edition. UK: Elsevier; 2008. P. 254-389

- 13) Ramsden Jeremy. Introduction. En: Dress A., Linial M., O.Troyanskaya., Vingron M. Bioinformatics And Introduction. Third edition. London: Springer; 2015. p. 1-6.
- 14) Patel H, Bhatt D, Shakhreliya S, Lam N.L, Maurya R, Singh V. An Introduction and Applications of Bioinformatics. En: Vijai Singh, Ajay Kumar editors. Advances in Bioinformatics. 1st edition. Singapore: Springer: 2021. p. 1-14.
- 15) Liao M, Tong T, Zong Y, Zhou X, Cheng L, Huang R, et al. Application of Omics and Bioinformatics Tools in *Streptococcus* Research. Curr Issues Mol Biol. 2019; 32: 327- 376.
- 16) Almaguer Flores Argelia. Investigación, pasión y conocimiento. ROM; 2010: 14(1): 6-7.
- 17) Klein MI, DeBaz L, Agidi S, Lee H, Xie G, Lin AH, et al. Dynamics of *Streptococcus mutans* transcriptome in response to starch and sucrose during biofilm development. PLoS One. 2010; 5 (10): e13478
- 18) Pillai J, Chincholkar T, Dixit R, Pandey M. A systematic review of proteomic biomarkers in oral squamous cell cancer. World J Surg Oncol. 2021; 19 (1): 315.
- 19) Wolfer S, Kunzler A, Foos T, Ernst C, Leha A, Schultze-Mosgau S. Gender and risk-taking behaviors influence the clinical presentation of oral squamous cell carcinoma. Clin Exp Dent Res. 2022; 8 (1):141 -151.
- 20) The Human Protein Atlas [Internet]. 2022 [citada 10 abril 2023] Datos disponibles en v22.0.proteinatlas.org: <https://www.proteinatlas.org/>

- 21) Nie MJ, Pan XT, Tao HY, Xu MJ, Liu SL, Sun W et al. Clinical and prognostic significance of *MYH11* in lung cancer. *Oncol Lett.* 2020; 19 (6) 3899-3906.
- 22) Ishikawa Y, Kawashima N, Atsuta Y, Sugiura I, Sawa M, Dobashi N, et al. Prospective evaluation of prognostic impact of KIT mutations on acute myeloid leukemia with RUNX1-RUNX1T1 and CFBF-MYH11. *Blood Adv.* 2020; 4(1):66-75.
- 23) Biernacki MA, Foster KA, Woodward KB, Coon ME, Cummings C, Cunningham TM, et al. CFBF-MYH11 fusion neoantigen enables T cell recognition and killing of acute myeloid leukemia. *J Clin Invest.* 2020;130(10):5127-5141.
- 24) Wang J, Xu P, Hao Y, Yu T, Liu L, Song Y, et al. Interaction between DNMT3B and MYH11 via hypermethylation regulates gastric cancer progression. *BMC Cancer.* 2021;21(1):914.
- 25) Jo YS, Kim MS, Yoo NJ, Lee SH. Somatic Mutations and Intratumoral Heterogeneity of MYH11 Gene in Gastric and Colorectal Cancers. *Appl Immunohistochem Mol Morphol.* 2018;26(8):562-566.
- 26) Wang RJ, Wu P, Cai GX, Wang ZM, Xu Y, Peng JJ, et al. Down-regulated MYH11 expression correlates with poor prognosis in stage II and III colorectal cancer. *Asian Pac J Cancer Prev.* 2014;15(17):7223-8.
- 27) Wang J, Gao S, Dong K, Guo P, Shan MJ. MYL2 as a potential predictive biomarker for rhabdomyosarcoma. *Medicine (Baltimore).* 2021;100(39): e27101

- 28) Wan Z, Xiong H, Tan X, Su T, Xia K, Wang D. Integrative Multi-Omics Analysis Reveals Candidate Biomarkers for Oral Squamous Cell Carcinoma. *Front Oncol.* 2022; 11:794146.
- 29) Li W, Zhou Q, Gao Y, Jiang Y, Huang Y, Mo Z, et al. eQTL analysis from co-localization of 2739 GWAS loci detects associated genes across 14 human cancers. *J Theor Biol.* 2019; 462:240-246.
- 30) Sajnani MR, Patel AK, Bhatt VD, Tripathi AK, Ahir VB, Shankar V, et al. Identification of novel transcripts deregulated in buccal cancer by RNA-seq. *Gene.* 2012;507(2):152-8.
- 31) Yin D, Qiu J, Hu S, Cheng L, Li H, Cheng X et al. CAV1 is a prognostic predictor for patients with idiopathic pulmonary fibrosis and lung cancer. *J Biosci.* 2022; 47:13.
- 32) Bowman BM, Sebolt KA, Hoff BA, Boes JL, Daniels DL, Heist KA, et al. Phosphorylation of FADD by the kinase CK1 α promotes KRASG12D-induced lung cancer. *Sci Signal.* 2015;8(361):ra9.
- 33) Lang J, Zhao Q, He Y, Yu X. Bone turnover markers and novel biomarkers in lung cancer bone metastases. *Biomarkers.* 2018 23(6):518-526.
- 34) Shi F, Chen X, Wang Y, Xie Y, Zhong J, Su K, et al. HOTAIR/miR-203/CAV1 Crosstalk Influences Proliferation, Migration, and Invasion in the Breast Cancer Cell. *Int J Mol Sci.* 2022;23(19):11755.

- 35) Goel S, Bergholz JS, Zhao JJ. Targeting CDK4 and CDK6 in cancer. *Nat Rev Cancer*. 2022;22(6):356-372.
- 36) Yi M, Zhang D, Song B, Zhao B, Niu M, Wu Y, et al. Increased expression of ECT2 predicts the poor prognosis of breast cancer patients. *Exp Hematol Oncol*. 2022 26;11(1):107.
- 37) Al-Zahrani A, Sandhu MS, Luben RN, Thompson D, Baynes C, Pooley KA, et al. IGF1 and IGFBP3 tagging polymorphisms are associated with circulating levels of IGF1, IGFBP3 and risk of breast cancer. *Hum Mol Genet*. 2006 Jan 1;15(1):1-10.
- 38) Li Y, Li F, Bai X, Li Y, Ni C, Zhao X, et al. ITGA3 Is Associated With Immune Cell Infiltration and Serves as a Favorable Prognostic Biomarker for Breast Cancer. *Front Oncol*. 2021;11: 658547.
- 39) Zhu XF, Yi M, He J, Tang W, Lu MY, Li T, et al. Pathological significance of MAD2L1 in breast cancer: an immunohistochemical study and meta analysis. *Int J Clin Exp Pathol*. 2017;10(9):9190-9201.
- 40) Wu Q, Ba-Alawi W, Deblois G, Cruickshank J, Duan S, Lima-Fernandes E, et al. GLUT1 inhibition blocks growth of RB1-positive triple negative breast cancer. *Nat Commun*. 2020 ;11(1):4205.
- 41) Baldwin GS, Shulkes A. CCK receptors and cancer. *Curr Top Med Chem*. 2007;7(12):1232-8.
- 42) Hu C, Ni Z, Li BS, Yong X, Yang X, Zhang JW, et al. hTERT promotes the invasion of gastric cancer cells by enhancing FOXO3a ubiquitination and subsequent ITGB1 upregulation. *Gut*. 2017 ;66(1):31-42.

- 43) Wang Y, Wang F, He J, Du J, Zhang H, Shi H, et al. miR-30a-3p Targets MAD2L1 and Regulates Proliferation of Gastric Cancer Cells. *Onco Targets Ther.* 2019;12(1):11313-11324.
- 44) Nebenfuehr S, Kollmann K, Sexl V. The role of CDK6 in cancer. *Int J Cancer.* 2020 ;147(11):2988-2995.
- 45) Yang H, Shen C. MicroRNA-29c induces G1 arrest of melanoma by targeting CDK6. *J BUON.* 2019;24(2):819-825.
- 46) Porazzi P, De Dominici M, Salvino J, Calabretta B. Targeting the CDK6 Dependence of Ph+ Acute Lymphoblastic Leukemia. *Genes (Basel).* 2021;12(9):1355.
- 47) Uras IZ, Sexl V, Kollmann K. CDK6 Inhibition: A Novel Approach in AML Management. *Int J Mol Sci.* 2020;21(7):2528.
- 48) Cook DR, Kang M, Martin TD, Galanko JA, Loeza GH, Trembath DG , et al. Aberrant Expression and Subcellular Localization of ECT2 Drives Colorectal Cancer Progression and Growth. *Cancer Res.* 2022;82(1):90-104.
- 49) Chan YX, Alfonso H, Paul Chubb SA, Ho KKY, Gerard Fegan P, Hankey GJ, et al. Higher IGF1 is associated with increased incidence of colorectal cancer in older men independently of IGF1. *Clin Endocrinol (Oxf).* 2018 ;88(2):333-340.

- 50) Wang X, Li T. Ropivacaine inhibits the proliferation and migration of colorectal cancer cells through ITGB1. *Bioengineered*. 2021;12(1):44-53.
- 51) Huang WL, Wu SF, Huang X, Zhou S. Integrated Analysis of ECT2 and COL17A1 as Potential Biomarkers for Pancreatic Cancer. *Dis Markers*. 2022; 2022:9453549.
- 52) Jiao Y, Li Y, Liu S, Chen Q, Liu Y. *ITGA3* serves as a diagnostic and prognostic biomarker for pancreatic cancer. *Onco Targets Ther*. 2019; 12:4141-4152.
- 53) Cave DD, Buonaiuto S, Sainz B Jr, Fantuz M, Mangini M, Carrer A, et al. LAMC2 marks a tumor-initiating cell population with an aggressive signature in pancreatic cancer. *J Exp Clin Cancer Res*. 2022;41(1):315.
- 54) Qie Y, Nian X, Liu X, Hu H, Zhang C, Xie L, et al. Polymorphism in IGFBP3 gene is associated with prostate cancer risk: an updated meta-analysis. *Onco Targets Ther*. 2016;9:4163-4171
- 55) Wang X, Yu J, Yan J, Peng K, Zhou H. Single-cell sequencing reveals MYC targeting gene MAD2L1 is associated with prostate cancer bone metastasis tumor dormancy. *BMC Urol*. 2022;22(1):37.
- 56) Zhang G, Li B, Lin Y. Evaluation of ITGA3 as a Biomarker of Progression and Recurrence in Papillary Thyroid Carcinoma. *Front Oncol*. 2022; 11:614955.
- 57) Wang Y, Li L, Zhang X, Zhao X. Long non-coding RNA OIP5-AS1 suppresses microRNA-92a to augment proliferation and metastasis of

- ovarian cancer cells through upregulating ITGA6. *J Ovarian Res.* 2022;15(1):25.
- 58) Tang L, Wang P, Wang Q, Zhong L. Correlation of *LAMA3* with onset and prognosis of ovarian cancer. *Oncol Lett.* 2019;18(3):2813-2818.
- 59) Jin Y, Chen L, Li L, Huang G, Huang H, Tang C. *SNAI2* promotes the development of ovarian cancer through regulating ferroptosis. *Bioengineered.* 2022;13(3):6451-6463.
- 60) Jin H, Ying X, Que B, Wang X, Chao Y, Zhang H, et al. N6-methyladenosine modification of *ITGA6* mRNA promotes the development and progression of bladder cancer. *EBioMedicine.* 2019; 47:195-207.
- 61) Huang C, Wang L, Song H, Wu C. Interactive effects of *AURKA* polymorphisms with smoking on the susceptibility of oral cancer. *Artif Cells Nanomed Biotechnol.* 2019 ;47(1):2333-2337.
- 62) Iyoda M, Kasamatsu A, Ishigami T, Nakashima D, Endo-Sakamoto Y, Ogawara K, et al. Epithelial cell transforming sequence 2 in human oral cancer. *PLoS One.* 2010 ;5(11):e14082.
- 63) Prapinjumrone C, Morita K, Kuribayashi Y, Hanabata Y, Shi Q, Nakajima Y, et al. DNA amplification and expression of *FADD* in oral squamous cell carcinoma. *J Oral Pathol Med.* 2010;39(7):525-32.
- 64) Park J, Jung MJ, Chung WY. The downregulation of *IGFBP3* by TGF- β signaling in oral cancer contributes to the osteoclast differentiation. *Biochem Biophys Res Commun.* 2021; 534:381-386.

- 65) Nagata M, Noman AA, Suzuki K, Kurita H, Ohnishi M, Ohyama T, et al. ITGA3 and ITGB4 expression biomarkers estimate the risks of locoregional and hematogenous dissemination of oral squamous cell carcinoma. *BMC Cancer*. 2013; 13:410.
- 66) Zhang C, Cai Q, Ke J. Poor Prognosis of Oral Squamous Cell Carcinoma Correlates With ITGA6. *Int Dent J*. 2023;73(2):178-185.
- 67) Fang R, Lu Q, Xu B. hsa-miR-5580-3p inhibits oral cancer cell viability, proliferation and migration by suppressing LAMC2. *Mol Med Rep*. 2021;23(6):453
- 68) Zhang JY, Zhu WW, Wang MY, Zhai RD, Wang Q, Shen WL et al. Cancer-associated fibroblasts promote oral squamous cell carcinoma progression through LOX-mediated matrix stiffness. *J Transl Med*. 2021 Dec 20;19(1):513.
- 69) Nakamura R, Ishii H, Endo K, Hotta A, Fujii E, Miyazawa K et al. Reciprocal expression of Slug and Snail in human oral cancer cells. *PLoS One*. 2018;13(7): e0199442.
- 70) Zeng Z, Yang H, Xiao S. ACTL6A expression promotes invasion, metastasis and epithelial mesenchymal transition of colon cancer. *BMC Cancer*. 2018;18(1):1020.
- 71) Zhang J, Zhang J, Wei Y, Li Q, Wang Q. ACTL6A regulates follicle-stimulating hormone-driven glycolysis in ovarian cancer cells via PGK1. *Cell Death Dis*. 2019;10(11):811.

- 72) Li L, Wang J, Zhang Z, Yang Q, Deng Z, Zou W, et al. Identification of CKS1B as a prognostic indicator and a predictive marker for immunotherapy in pancreatic cancer. *Front Immunol.* 2022; 13:1052768.
- 73) Ding F, Zhang S, Gao S, Shang J, Li Y, Cui N, et al. MiR-137 functions as a tumor suppressor in pancreatic cancer by targeting MRGBP. *J Cell Biochem.* 2018;119(6):4799-4807.
- 74) Long X, Hu Y, Duan S, Liu X, Huang W, Liu X, et al. MRGBP promotes colorectal cancer metastasis via DKK1/Wnt/ β -catenin and NF- κ B/p65 pathways mediated EMT. *Exp Cell Res.* 2022;421(1):113375.
- 75) Fan W, Xie J, Xia J, Zhang Y, Yang M, Wang H, et al. RUVBL1-ITFG1 interaction is required for collective invasion in breast cancer. *Biochim Biophys Acta Gen Subj.* 2017;1861(7):1788-1800.
- 76) Yenerall P, Das AK, Wang S, Kollipara RK, Li LS, Villalobos P, et al. RUVBL1/RUVBL2 ATPase Activity Drives PAQosome Maturation, DNA Replication and Radioresistance in Lung Cancer. *Cell Chem Biol.* 2020; 27(1):105-121.
- 77) Martín-Ezquerria G, Salgado R, Toll A, Baró T, Mojal S, Yébenes M, et al. CDC28 protein kinase regulatory subunit 1B (CKS1B) expression and genetic status analysis in oral squamous cell carcinoma. *Histol Histopathol.* 2011;26(1):71-7.
- 78) Zeng Y, Kong Y, Liao L, Zhu H. Involvement of RUVBL1 in WNT/ β -Catenin Signaling in Oral Squamous Cell Carcinoma. *Dis Markers.* 2022; 2022:3398492.