

Detección de mutaciones en el gen CDKN2A mediante PCR-SSCP en pacientes y familiares con riesgo de melanoma maligno.

AC Innocenti, [AE Cavagnaro](#), FCM Zoppino, ME Lopez <melopez@fcm.uncu.edu.ar>
Facultad de Ciencias Médicas, Universidad del Aconagua.

El melanoma es un tumor maligno originado en células dendríticas de la piel, denominadas melanocitos. Es el sexto cáncer en incidencia, representa el 10 % de las neoplasias cutáneas y es responsable de más del 90 % de las muertes por cáncer de piel. El diagnóstico de melanoma metastásico tiene una sobrevida de 6 a 9 meses de promedio. El tumor presenta una respuesta pobre a la radioterapia y quimioterapia, siendo el tratamiento más efectivo la escisión quirúrgica antes del avance del tumor, lo que convierte al diagnóstico temprano en la principal herramienta para la sobrevida del paciente. El gen de mayor riesgo de susceptibilidad a melanoma encontrado es CDKN2A el cual es heredado con un patrón dominante y presenta una elevada penetrancia. Se ubica en el locus 9p21, es un gen del ciclo celular supresor de tumores que regula a p53 y a Rb y codifica para la proteína p16. Las células con mutaciones en p16 no pueden detener el ciclo en G1 para la reparación de daños del ADN antes de duplicarse. La frecuencia de mutaciones en el gen p16 en la población general es de 0,01%, mientras que en los casos de melanoma familiar es del 40%. Un método para encontrar mutaciones es la detección de polimorfismos de conformación de cadena única del ADN (SSCP). Objetivos: realizar un estudio de alteraciones en el gen CDKN2A de pacientes con melanoma o con riesgo de padecerlo. Obtención de datos epidemiológicos y asesoramiento genético para el diagnóstico precoz de melanoma. Metodología: SSCP es la electroforesis de fragmentos de ADN de cadena única, detecta la presencia de hasta un nucleótido de diferencia entre dos moléculas. Las muestras son obtenidas de pacientes del consultorio de la Dermatóloga Carolina Innocenti y de la sección de Dermatología del Hospital Lagomaggiore con previo consentimiento informado del donante. Infraestructura: los experimentos son realizados en la Facultad de Ciencias Médicas de la UNCuyo. El laboratorio está equipado con heladera, freezer, micrótopo, lupa, microscopio, pinzas. Nosotros adquirimos pipetas automáticas, termociclador, fuente de poder y cuba horizontal para electroforesis. Con el subsidio de la U. del Aconagua se compraron: iniciadores, enzima Taq polimerasa, proteinasa K, dinucleótidos, cloruro de magnesio, buffers, colorante Sybr Safe, agarosa, xileno, alcohol. Principales logros: Seleccionar 7 pares de iniciadores de alrededor de 200 pb para los exones 1, 2 y 3 de p16. Extraer ADN a partir leucocitos de sangre y de 14 biopsias de piel humana diagnosticada con melanoma, fijadas en formol e incluidas en parafina. Poner a punto las técnicas de PCR y electroforesis. Visualizar bandas de ADN de 4 muestras de sangre humana y 5 muestras de melanoma.