



Editorial

Reacción en cadena de la polimerasa. PCR aplicaciones en Odontología

Polymerase chain reaction. PCR applications in Dentistry

Soto SN, Cambiasso MJ

Cátedra B de Biología Celular, Facultad de Odontología, Universidad Nacional de Córdoba

**Correspondencia a/Corresponding to:*

María Julia Cambiasso, PhD

Cátedra B de Biología Celular, Facultad de Odontología,

Universidad Nacional de Córdoba

Email: julia.cambiasso@unc.edu.ar

Citation: Soto SN, Cambiasso MJ. Reacción en cadena de la polimerasa. PCR aplicaciones en Odontología. Rev Fac Odont (UNC). 2024; 34 (2):1-8. doi: 10.25014/revfacodont271.2024.34.2 I. pg I-III. <https://revistas.unc.edu.ar/index.php/RevFacOdont>

Abstract

PCR studies have allowed us to better understand the ecology of the oral cavity, diagnose and predict the outcome and response to treatment in oral cancers through genetic markers, detect polymorphisms in specific genes that may be related to susceptibility to some dental diseases such as chronic periodontitis or potentially malignant lesions, mRNA gene expression of various inflammatory mediators and study genetic polymorphisms from clinical samples, such as saliva, blood, gingival mucosa, etc.

Keywords: PCR, Dentistry

Resumen

Los estudios mediante PCR han permitido comprender mejor la ecología de la cavidad bucal, diagnosticar y predecir el resultado y la respuesta al tratamiento en cánceres orales a través de marcadores genéticos, detectar polimorfismos en genes específicos que pueden estar relacionados con la susceptibilidad a algunas enfermedades dentales como la periodontitis crónica o lesiones potencialmente malignas, expresión del gen ARNm de varios mediadores inflamatorios y estudiar polimorfismos genéticos a partir de muestras clínicas, como saliva, sangre, mucosa gingival, etc.

Palabra Clave: PCR, Odontología

A finales del siglo XX las pruebas moleculares se introdujeron en el campo odontológico y una de las primeras en aplicarse fue la reacción en cadena de la polimerasa (PCR). La PCR consiste en la amplificación de un fragmento de ADN *in vitro* mediante el uso de ADN polimerasas termoestables y fue desarrollada en la década del 80 por el bioquímico Kary

Mullis¹. El primer registro de su aplicación en el campo odontológico fue en el área forense con la identificación de ADN en la pulpa dental humana².

La PCR estándar (o convencional) consiste en una serie de 25 a 30 ciclos de altas y bajas temperaturas alternadas. En cada ciclo, la primera etapa es la desnaturalización del ADN

(separación de las 2 hebras), se produce calentando la muestra hasta 94-95°C durante aproximadamente 5 min. A continuación, se disminuye la temperatura hasta 40-50°C por 20-40 segundos, permitiendo así el apareamiento de los cebadores o “primers” (secuencias cortas de ADN) que delimitan la zona del ADN a amplificar. Finalmente, durante la fase de elongación, la mezcla se calienta hasta 72°C por 1 min, temperatura en la cual la enzima ADN polimerasa comienza el proceso de extensión (replicación) a partir de los cebadores. Al finalizar cada ciclo, la cantidad de ADN disponible para el ciclo siguiente aumenta al doble. Si se realizaran 31 ciclos se obtendrían 2.147.483.648 fragmentos del ADN de interés que serán observados como una sola banda según el tamaño de la secuencia de ADN amplificada en un gel de agarosa o poliacrilamida mediante luz ultravioleta^{1,2}. Hoy en día esta técnica es usada en diversas especialidades odontológicas por su versatilidad, sensibilidad y precisión². La alta especificidad de la PCR estándar permite identificar microorganismos con alta certeza, pues los cebadores bien diseñados se unirán únicamente a la secuencia de ADN buscada. A esto se debe su alta precisión (95%) que destaca por ejemplo en el área periodontal entre otras³. La PCR cuantitativa (o qPCR) es una variante de la PCR estándar que utiliza fluorocromos (SYBR Green) o sondas fluorescentes (Taqman) para detectar y cuantificar la presencia de una secuencia específica de ADN o ARN en una muestra. En la qPCR el fluorocromo se intercala entre la doble hélice de ADN de manera que la fluorescencia aumenta durante el proceso de amplificación y es medida por el termociclador al finalizar cada ciclo. El aumento de fluorescencia es proporcional a la cantidad de ADN formado. Es una técnica muy sensible y específica, consiguiendo amplificar fragmentos pequeños de ADN (desde 60 par de bases) por lo que permite el diagnóstico de patógenos orales y patologías genéticas. La sensibilidad de la qPCR es de un 93-100% y permite identificar la secuencia de ADN blanco desde un número reducido de células de un agente patógeno que se encuentran en una muestra pequeña⁴. Recientemente se ha desarrollado una variante de la qPCR que se denomina PCR digital (o dPCR) ya que permite la cuantificación absoluta y la detección de alelos raros a partir de la medición de la fracción

de réplicas negativas para determinar las copias absolutas sin necesidad de curvas estándares⁵. La PCR con transcriptasa inversa (o RT-PCR) permite amplificar una secuencia blanco a partir de una muestra de ARN. Para ello se utiliza la enzima transcriptasa inversa para convertir el ARN en ADN copia (ADNc) y se combina con amplificación en una PCR (estándar o en tiempo real) con cebadores específico, de esta forma se crean millones de copias para el diagnóstico de muchas patologías orales como caries, infecciones endodónticas, enfermedades periodontales y cáncer⁶. La sensibilidad de RT-PCR es de un 89% y permite obtener suficiente producto con base en cantidades limitadas de material. La especificidad es considerada alta, pues la técnica realiza amplificación específica del producto que se ha seleccionado y se encuentra cercana al 100%⁷.

La técnica de PCR ha revolucionado el campo de la Odontología, ya que puede detectar y caracterizar los microorganismos dentales en los diversos campos de la bacteriología, micología, parasitología y virología. Además, los métodos basados en PCR permiten la detección o identificación directa de nuevos microorganismos, la evaluación de la existencia de genes de resistencia a los antimicrobianos, la detección de varios genes de factores de virulencia y la tipificación microbiana en investigaciones epidemiológicas. Los estudios mediante PCR han permitido comprender mejor la ecología de la cavidad bucal, diagnosticar y predecir el resultado y la respuesta al tratamiento en cánceres orales a través de marcadores genéticos, detectar polimorfismos en genes específicos que pueden estar relacionados con la susceptibilidad a algunas enfermedades dentales como la periodontitis crónica o lesiones potencialmente malignas, identificar especies bacterianas exigentes o que no pueden ser cultivadas, detectar los niveles de expresión del gen ARNm de varios mediadores inflamatorios y estudiar polimorfismos genéticos a partir de muestras clínicas, como saliva, sangre, mucosa gingival, etc.⁸. Por todas estas razones, la PCR se ha convertido en una herramienta fundamental para el diagnóstico y pronóstico en el ámbito odontológico y su utilización nos permitirá seguir generando conocimientos para mejorar la atención y tratamiento de los pacientes.

Conflicto de intereses/Conflict of interest

Todos los autores declaran que no existen conflictos potenciales de interés con respecto a la autoría y / o publicación de este artículo.

All authors declare no potential conflicts of interest with respect to the authorship and/or publication of this article.

Referencias

1. Mullis KB, Faloona FA. Specific synthesis of DNA in vitro via a polymerase-catalyzed chain reaction. *Methods Enzymol.* 1987; 155:335-5.
2. Santos CF, Sakai VT, Machado MA, Schippers DN, Greene AS. Reverse transcription and polymerase chain reaction: principles and applications in dentistry. *J Appl Oral Sci.* 2004;12(1):1-11.
3. Al-hebshi N, Al-Alimi A, Taiyeb-Ali T, Jaafar N. Quantitative analysis of classical and new putative periodontal pathogens in subgingival biofilm: a case-control study. *J Periodontal Res.* 2015; 50 (3): 320-329.
4. Marin MJ, Figuero E, Herrera D, Sanz M. Quantitative analysis of periodontal pathogens using real-time polymerase chain reaction (PCR). *Methods Mol Biol.* 2017; 1537:191-202.
5. Zhang L, Parvin R, Fan Q, Ye F. Emerging digital PCR technology in precision medicine. *Biosens Bioelectron.* 2022; 211:114344.
6. Bridge J. Reverse transcription-polymerase chain reaction molecular testing of cytology specimens: Pre-analytic and analytic factors. *Cancer Cytopathol.* 2017; 125 (1): 11-19.
7. Parada F, Fonseca D, Carvajal M, Sepulveda C. Comparación de la muestra salival y de nasofaringe en la detección de SARS-CoV-2 mediante RT-PCR. *Int J Odontostomat.* 2020; 14 (4): 540-543.
8. Shahi S, Zununi Vahed S, Fathi N, Sharifi S. Polymerase chain reaction (PCR)-based methods: Promising molecular tools in dentistry. *Int J Biol Macromol.* 2018; 117:983-992.



Publisher's Note: This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution(CC BY) license (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>)