



**UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE ODONTOLÓGÍA
DEPARTAMENTO DE PATOLOGÍA Y MEDICINA ORAL
ÁREA DE ANATOMÍA PATOLÓGICA
LABORATORIO DE ANATOMÍA PATOLÓGICA**

**“Expresión de Porcupina en biopsias de pacientes con displasia
epitelial oral”.**

Gabriela Astudillo Dinamarca

**TRABAJO DE INVESTIGACIÓN
REQUISITO PARA OPTAR AL TÍTULO
DE CIRUJANO-DENTISTA**

Tutor Principal: Montserrat Reyes MSc, PhD

Adscrito al Proyecto FONDECYT 11221000

Santiago-Chile

Año 2023

AGRADECIMIENTOS

Después de éste arduo y largo camino, lo hemos logrado. Todas estas personas lo han logrado conmigo: Mi familia que me apoyó siempre, preguntando, compartiendo la información, siendo mis pacientes. Mención especial a mi mamá, quien siempre estuvo ahí y no lo hubiera logrado sin ella. Gracias a mi iglesia, IBM la Florida por orar por mí constantemente. Gracias a mis compañeros con los que pudimos ser un equipo que avanzaba junto. Gracias a todos esos pacientes que se comprometieron conmigo. Gracias a esos profesores que de verdad tienen vocación. Gracias a los “animalitos”, a mis amistades, a mi Nacho y su apoyo incondicional, a la Coni y los martes sagrados de tesis y a la mejor profesora guía. Pero, sobre todo, gracias a Dios, sin Él nada de esto tiene sentido. Él lo prometió y cumplió, siempre fue fiel, esta carrera está a su disposición y espero poder ser útil y de ayuda a las personas, porque me encanta estar con las personas.

ÍNDICE

| | |
|--|----|
| 1. Resumen | |
| 2. Marco Teórico | 1 |
| 2.1 Cáncer Oral | |
| 2.2 Desórdenes orales potencialmente malignos | |
| 2.3 Displasia Epitelial Oral | |
| 2.4 Vía de Señalización Wnt/ β -Catenina | |
| 2.5 Ligandos Wnt y Porcupina | |
| 2.6 Vía Wnt/ β -catenina y Carcinogénesis Oral | |
| 2.7 Porcupina y Cáncer | |
| 2.8 Porcupina y Cáncer de Cabeza y Cuello | |
| 2.9 Formulación del problema | |
| 3. Hipótesis y Objetivos | 12 |
| 3.1. Hipótesis | |
| 3.2 Objetivo General | |
| 3.3 Objetivos Específicos | |
| 4. Materiales y Métodos | 13 |
| 5. Resultados | 16 |
| 6. Discusión | 23 |
| 7. Conclusiones | 27 |
| 8. Referencias bibliográficas | 28 |
| 9. Anexos y Apéndices | 38 |

1. RESUMEN

Introducción: El cáncer oral es un problema de salud mundial. Aproximadamente el 90% corresponde a Carcinoma Oral de Células Escamosas (COCE). Los desórdenes orales potencialmente malignos (DPM) son lesiones precursoras del COCE con mayor potencial de malignización y la displasia epitelial oral en la mayoría de los casos, es el diagnóstico histopatológico asociado a estos. Una de las vías de señalización que se encuentra alterada en displasia epitelial oral es la vía Wnt/ β -Catenina, la cual podría estar implicada en la progresión de la displasia hacia el COCE por sobreexpresión de ligandos Wnt. Porcupina (PORCN) es una O-aciltransferasa que permite el procesamiento de ligandos Wnt y es fundamental para regular esta vía, sin embargo, no existen estudios sobre su expresión en las diferentes etapas de la carcinogénesis oral. Por lo que este estudio busca determinar y comparar la expresión de PORCN en biopsias de pacientes con displasia epitelial oral de bajo y de alto grado.

Metodología: Se determinó la expresión de PORCN en 43 muestras en total; 21 displasias de bajo grado y 22 displasias de alto grado con técnica de inmunohistoquímica. Las muestras se observaron a través de microscopio óptico para determinar intensidad de PORCN y clasificar las muestras en tres grupos: baja intensidad, mediana intensidad y fuerte intensidad. Para ver distribución se utilizó la prueba de Shapiro Wilk y para análisis estadístico la prueba de Mann Whitney.

Resultados: Se observó un aumento en la intensidad de PORCN a medida que avanzaba la progresión de la displasia. Siendo de baja a mediana intensidad en displasias de bajo grado en comparación a displasias de alto grado en donde la expresión de PORCN fue de fuerte intensidad.

Conclusiones: La expresión de PORCN va aumentando a medida que progresa la displasia epitelial oral a etapas más severas. Esto demuestra que PORCN podría tener un rol en la progresión de la displasia epitelial oral. PORCN al ser una enzima que tiene funciones específicas en el proceso de secreción y transporte de ligandos Wnt se transforma en un objetivo farmacológico selectivo y atrayente para el tratamiento de la carcinogénesis oral en sus etapas más tempranas.

Palabras clave: *displasia epitelial oral, vía Wnt/ β -catenina, Porcupina, inmunohistoquímica.*

2. MARCO TEÓRICO

2.1 Cáncer Oral

El cáncer oral es una neoplasia maligna que presenta altas tasas de incidencia (Rivera, 2015), encontrándose en el puesto número 13 en neoplasias malignas más comunes (WHO, 2023), siendo la quinceava causa de muerte a nivel mundial (Inchingolo y cols., 2020).

El cáncer oral actualmente es un problema de salud mundial que afecta a un gran número de la población. La Organización Mundial de la Salud (OMS) estimó un número de casos para el 2020 de 377.713 a nivel mundial, calculando una mortalidad de 177.757 lo que corresponde al 47,06% de los casos totales, es decir tiene una baja supervivencia (WHO, 2020), siendo la sexta causa de muerte por cáncer (Organización Colegial de Dentistas de España, 2019).

Dentro del cáncer oral, aproximadamente el 90% corresponde al Carcinoma Oral de Células Escamosas (COCE) siendo los otros porcentajes sarcomas, melanomas y linfomas (Rivera, 2015; Organización Colegial de Dentistas de España, 2019).

Se han reportado diversos factores de riesgo para el desarrollo del COCE, siendo el principal el consumo de tabaco y alcohol seguido por factores genéticos, dieta y nutrición, algunos virus como el Virus Papiloma Humano (tipos 16 y 18), radiación, etnicidad, candidiasis oral, inmunosupresión, sífilis, factores dentales, riesgos laborales, entre otros (Rivera, 2015; Kumar y cols., 2016; Organización Colegial de Dentistas de España, 2019; WHO, 2023). Es más común en personas sobre los 50 años y se da más frecuentemente en hombres que en mujeres (Rivera, 2015; Organización Colegial de Dentistas de España, 2019; WHO, 2020). En cuanto a su ubicación, la más frecuente reportada es la lengua (Dhanuthai y cols., 2018).

Sus tasas de supervivencia a los 5 años son de aproximadamente del 50% (Kumar y cols., 2016; Organización Colegial de Dentistas de España, 2019). Esto se debe principalmente a que es detectado en estadios avanzados cuando ya hay compromiso de los ganglios linfáticos por lo que es importante la detección temprana en el pronóstico de la enfermedad (Dost y cols., 2014; Organización Colegial de Dentistas de España, 2019; WHO, 2023).

Actualmente el tratamiento consiste en la resección quirúrgica con terapia adyuvante post-operatoria (radioterapia y/o quimioterapia). Esta estrategia terapéutica ha dado mejores estadísticas de supervivencia durante la última década (Montero y Patel, 2015).

La biopsia y el análisis histopatológico siguen siendo el Gold standard para realizar el diagnóstico definitivo del COCE (Rivera, 2015; Organización Colegial de Dentistas de España, 2019), permitiendo diferenciar las distintas lesiones cancerígenas y establecer los distintos estadios en el caso de lesiones precursoras, las cuales actualmente son el factor predictor más seguro de COCE (Rivera, 2015).

Una detección temprana mejora el pronóstico del COCE, por eso es importante conocer y pesquisar los desórdenes potencialmente malignos que al seguir desarrollándose pueden avanzar a un cáncer oral (Dost y cols., 2014; Rivera, 2015; Organización Colegial de Dentistas de España, 2019).

2.2. Desórdenes Orales Potencialmente Malignos

Los desórdenes potencialmente malignos (DPM) son lesiones precursoras del COCE y como su nombre lo indica, tienen un mayor potencial de malignización (Ganesh y cols., 2018; Mello y cols., 2018). Los DPM que podemos encontrar en la cavidad oral son muy diversos y su potencial de malignización varía según distintos factores ya sea externos, así como también, propios del paciente (Warnakulasuriya y cols., 2007; Mello y cols., 2018). Entre los DPM podemos encontrar la leucoplasia, eritroplasia, lesiones palatinas asociadas a tabaquismo inverso, fibrosis submucosa oral, queilitis actínica, liquen plano oral y lupus eritematoso discoide (Warnakulasuriya y cols., 2007; Ganesh y cols., 2018).

Un meta-análisis realizado por Mello y cols., publicado el 2018 mostró una prevalencia de los DPM del 4.47% (Mello y cols., 2018). Dentro de ellos los considerados como más prevalentes fueron la fibrosis submucosa oral (4,96%) y la leucoplasia (4,11%), seguidas de la queilitis actínica con un 2.08% y finalmente mencionar la eritroplasia que tiene una prevalencia de sólo el 0.17%, (Mello, 2018), sin embargo, es considerada como la lesión con mayor potencial de malignización (Bouquot y Ephros, 1995; Warnakulasuriya y cols., 2007). Según Shafer y Waldron, *“el 51% de las eritroplasias orales se transformaron en COCE”* (Ganesh y cols., 2018). Las tasas de malignización de la eritroplasia

varían entre el 14% y 50%, apreciándose en la histología un carcinoma invasivo (51%), carcinoma in situ o displasia epitelial severa (40%) y displasia leve a moderada (9%) (Reichart y Philipsen, 2005).

La leucoplasia es más prevalente y tiene menor potencial de transformación maligna que la eritroplasia. Se estima que la tasa de malignización de la leucoplasia varía de 0,69% a 2,03% (Petti, 2003). La OMS lo aproxima a 1-2% (Müller, 2017). Sin embargo, una revisión más reciente, estima valores mayores de malignización que varían entre 1,1% y 40,8% siendo la proporción combinada de 9,8% (Aguirre-Urizar, 2021). Por otro lado, la tasa de malignización de la fibrosis submucosa oral es de 2-8%, (Ray y cols., 2016) y de la queilitis actínica 6-10% (Ganesh y cols., 2018).

El diagnóstico de un DPM se realiza integrando las manifestaciones clínicas y el examen histopatológico, en el cual se pueden observar o no, áreas de displasia, lo que se da con mayor frecuencia en la eritroplasia (Iocca y cols., 2020).

Si se detectan signos de displasia en los cortes histológicos, esto indicaría una mayor probabilidad de desarrollo de COCE en el tiempo (Iocca y cols., 2020).

2.3. Displasia Epitelial Oral

La displasia epitelial oral es un diagnóstico histopatológico caracterizado por una alteración de la arquitectura epitelial normal y atipia de las células (variaciones en el tamaño y la forma), las cuales sufren una modificación en su maduración y aumentan su actividad proliferativa (Warnakulasuriya y cols., 2008; Iocca y cols., 2020). A diferencia del carcinoma, *“sus alteraciones están restringidas a la capa epitelial superficial”* (Dost y cols., 2014). También se refieren a ellas como lesiones con mayor potencial de evolución a cáncer oral, especialmente a COCE (Ereño Zárata, 2007; Speight, 2007).

La displasia epitelial oral está principalmente asociada a trastornos potencialmente malignos ya mencionados como eritroplasia y leucoplasia, pero no es un requisito para la formación de un carcinoma (Speight, 2007). Según un meta-análisis realizado por Mehanna y cols., el riesgo de progresión de displasia epitelial a COCE varía considerablemente de un 6% a 36% (Mehanna y cols., 2009). Sin embargo, según un estudio realizado por Dost y cols., la tasa de transformación maligna anual es de aproximadamente de un 1% (Dost y cols., 2014).

Actualmente el tratamiento de elección de estas lesiones es la escisión quirúrgica, no obstante, tiene un alto riesgo de recurrencia, hasta un 35% (Mehanna y cols., 2009).

La OMS (2005) clasifica la displasia epitelial oral en leve, moderada y severa dependiendo de los estratos del epitelio afectados. En displasia leve la alteración arquitectónica se limita al tercio inferior del epitelio, acompañada de una mínima atipia citológica. En displasia moderada la alteración se extiende hasta el tercio medio del epitelio; y en displasia severa se observan más de dos tercios del epitelio con alteraciones arquitectónicas con atipia celular asociada (Warnakulasuriya y cols., 2008).

Una segunda clasificación de la OMS (2017) categoriza las displasias en dos grupos: displasia de bajo grado (DBG) y displasia de alto grado (DAG), agrupando las displasias moderadas y severas en este último grupo (El-Naggar y cols., 2017).

Si bien actualmente se propone que la displasia epitelial oral es el indicador más probable de desarrollo de COCE (Farah y cols., 2014), algunos estudios han revelado que la clasificación del 2005 (leve, moderada y severa) no sería útil para predecir el riesgo de transformación maligna y por lo tanto tampoco para determinar la elección de un tratamiento específico (Speight, 2007; Warnakulasuriya y cols., 2011; Dost y cols., 2014, Aguirre-Urizar y cols., 2021). La displasia epitelial oral es un diagnóstico histopatológico, sin embargo, hay que considerar la clínica y parámetros moleculares para evaluar un adecuado riesgo de malignización, facilitando así la elección de las opciones terapéuticas (Farah y cols., 2014). De acuerdo con esto último, una de las vías de señalización que se encuentra alterada en displasia epitelial oral es la vía de señalización Wnt/ β -Catenina, la cual podría estar implicada en la progresión de la displasia hacia el COCE (Clevers, 2006; MacDonald y cols., 2009).

2.4. Vía de Señalización Wnt/ β -Catenina.

La vía de señalización Wnt es fundamental en el desarrollo embrionario y la homeostasis de los tejidos adultos. Esto a través de la secreción de glicoproteínas codificadas por los genes Wnt que están involucradas en procesos de proliferación, polaridad, distribución, apoptosis y renovación celular (Clevers, 2006; MacDonald y cols., 2009; Willert y Nusse, 2012).

Al verse desregulada la vía Wnt, se desencadenan múltiples procesos de enfermedad, relacionados con defectos de nacimiento, cánceres y otras enfermedades degenerativas (Logan y Nusse, 2004; Clevers, 2006; MacDonald y cols., 2009).

La señalización Wnt comprende más de una vía. La más estudiada es la vía canónica Wnt/ β -catenina, pero también se han estudiado vías independientes de β -catenina como la vía de polaridad celular planar, la vía dependiente de Calcio y una vía dependiente de proteínas de unión GTP (Kohn y Moon, 2005; Clevers, 2006).

La vía de nuestro estudio es la canónica, en donde β -catenina actúa como mediador central, siendo ésta un co-factor transcripcional (Kohn y Moon 2005; MacDonald y cols., 2009). La regulación de β -catenina está mediada por la presencia o ausencia de ligandos Wnt. En ausencia de ligandos Wnt, β -catenina presente en el citoplasma es degradada gracias al complejo de destrucción compuesto por la proteína de andamiaje Axina, la proteína poliposis coli adenomatosa (APC), caseína quinasa 1 (CK1) y glucógeno sintasa quinasa 3 β (GSK-3 β). CK1 y GSK-3 β fosforilan a β -catenina, resultando en el reconocimiento de esta por parte de β -Trcp, una subunidad de ligasa de ubiquitina E3, lo que resulta en la posterior ubiquitinización y degradación de β -catenina por el proteosoma (Clevers, 2006; MacDonald y cols., 2009; Reyes y cols., 2020). Por el contrario, la unión de un ligando Wnt a su receptor transmembrana Frizzled (FZ), y al co-receptor de lipoproteínas de baja densidad 5/6 (LRP5/6) activa la vía Wnt/ β -catenina, lo que resulta en el posterior reclutamiento de la proteína de andamiaje Disheveled (Dvh) inhibiendo la fosforilación de β -catenina por el secuestro del complejo de destrucción y permitiendo así que β -catenina no fosforilada se estabilice, se acumule en el citoplasma y finalmente se transloque al núcleo para unirse al complejo de proteína del factor de células T/factor potenciador linfoide (TCF/LEF) (Clevers, 2006; MacDonald y cols., 2009; Reyes y cols., 2020) (Figura 1), activando la transcripción de genes diana para Wnt implicados en la proliferación celular, como ciclina D1, COX-2 y survivina, entre otros (Reyes y cols., 2020).

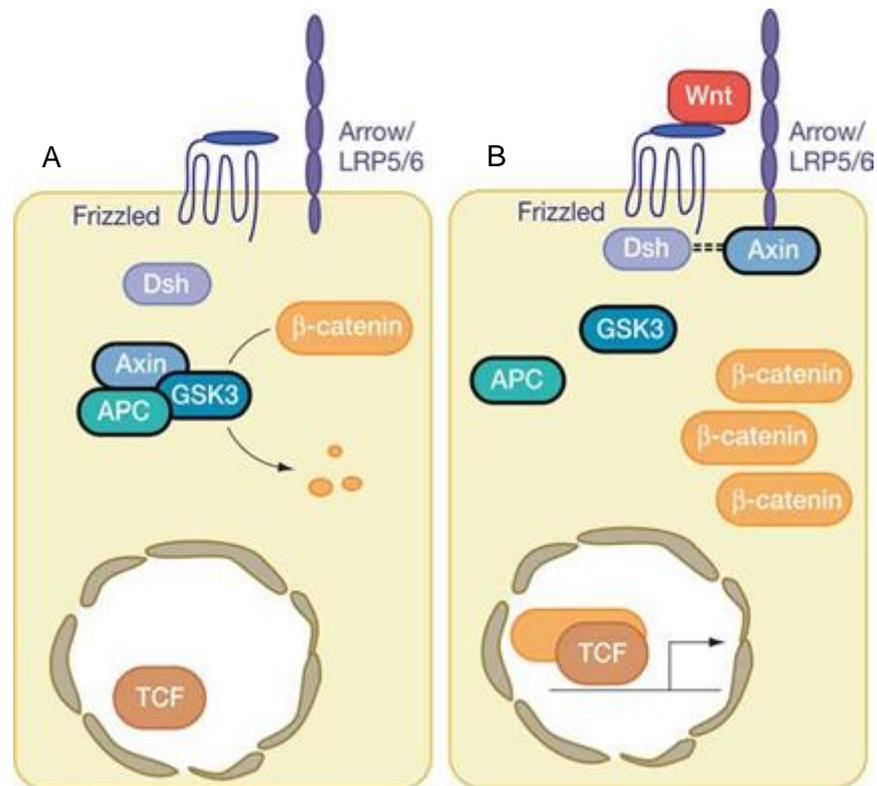


Figura 1. Vía de señalización Wnt canónica. Extraído de Logan, C. The canonical Wnt signaling pathway. (2014).

(A) Vía Wnt apagada, (B) Vía Wnt encendida

En la actualidad se conoce la existencia de 19 ligandos Wnt en mamíferos, proteínas con un alto componente de cisteína y un péptido N-terminal (MacDonald y cols., 2009; Willert y Nusse, 2012). Las proteínas Wnt deben pasar por procesos de glicosilación y acilación que son claves para su posterior secreción y activación (Willert y Nusse, 2012). El proceso de acilación consta en la unión de ácidos grasos, los cuales se les añaden a los ligandos Wnt (Willert y cols., 2003; Takada y cols., 2006). Este proceso de acilación es llevado a cabo por la proteína Porcupina (PORCN) en el retículo endoplasmático y es fundamental para el procesamiento y posterior secreción del ligando Wnt (Kadowaki y cols., 1996; Takada y cols., 2006; Willert y Nusse, 2012; Torres y cols., 2019).

2.5 Ligandos Wnt y Porcupina

“PORCN es una O-aciltransferasa unida a membrana (MBOAT) que acila moléculas Wnt en sitios específicos, lo que confiere actividad funcional a la familia de proteínas Wnt” (Torres y cols., 2019). PORCN se encuentra en el

Retículo Endoplásmico (RE) (Hofmann, 2000; Willert y Nusse, 2012; Torres y cols., 2019) y es parte de una familia de 16 genes conservados evolutivamente con actividad aciltransferasa, formada por 11 dominios transmembrana (Hofmann, 2000; Tran y Zheng, 2017; Wolf y Boutros, 2023). Los ligandos Wnt son transportados hacia la superficie celular mediante un receptor codificado por el gen Wntless (WL) que sólo se une a Wnt si PORCN realizó la acilación en una serina conservada, estructura fundamental para que PORCN reconozca al sustrato (Willert y Nusse, 2012; Liu y cols., 2022, Wolf y Boutros, 2023). Por ejemplo, el ligando Wnt3a, necesita la acilación en la Ser209 por PORCN para ser posteriormente transportado a la superficie celular (Takada y cols., 2006; Torres y cols., 2019).

El principal ácido graso que debe ser transferido por PORCN al ligando Wnt es el palmitoleico (Takada y cols., 2006; Wolf y Boutros, 2023), este es un ácido graso monoinsaturado a diferencia del palmítico que es un ácido graso saturado. Sin embargo, es necesario un intermediario para convertir el ácido graso saturado en monoinsaturado por lo que se ha propuesto que la proteína del RE estearoil-CoA desaturasa (ECD), realiza este proceso obteniendo el palmitoleoil-CoA para PORCN (Rios-Esteves y Resh, 2013; Torres y cols., 2019; Wolf y Boutros, 2023).

Rios-Esteves y Resh demostraron que se requiere actividad de ECD para generar un sustrato monoinsaturado para PORCN, y que PORCN lo transfiere a Wnt3a, pero no así ácidos grasos saturados. Además, la inhibición de la ECD bloquea la secreción de Wnt3a y la vuelve inactiva (Rios-Esteves y Resh, 2013). Por lo tanto, la actividad de PORCN es fundamental para el procesamiento de Wnt y la posterior unión a su receptor Frizzled. (Takada y cols., 2006; Willert y Nusse, 2012; Rios-Esteves y cols., 2014; Liu y cols., 2022).

Como se mencionó anteriormente hay 19 ligandos Wnt que desencadenan la señalización Wnt, pero PORCN es la única enzima que realiza la acilación de Wnt permitiendo su procesamiento y la posterior unión a su receptor Frizzled (Takada y cols., 2006; Willert y Nusse, 2012; Rios-Esteves y cols., 2014; Liu y cols., 2022).

2.6 Vía Wnt/ β -catenina y Carcinogénesis Oral

Como mencionamos anteriormente, la vía Wnt/ β -catenina cumple variadas funciones en el organismo relacionadas con el desarrollo embrionario y homeostasis tisular (Clevers, 2006; MacDonald y cols., 2009; Willert y Nusse, 2012). Sin embargo, cuando esta vía se encuentra desregulada puede verse involucrada en el desarrollo de distintos tipos de cáncer (Iwai y cols., 2005; Reyes y cols., 2019; 2020), por ejemplo, cáncer colorrectal (Herr y cols., 2012; Taciak y cols., 2018), leucemia (Liu y cols., 2013), melanomas, cáncer de mama (Zhan y cols., 2017) y cáncer oral, entre otros (Christie y cols., 2013).

Los factores involucrados en la desregulación de la vía Wnt/ β -catenina, pueden ser: *“mutaciones en el gen de β -catenina, anomalías en el complejo de destrucción de β -catenina, mutaciones en APC, sobreexpresión de ligandos de Wnt y pérdida de inhibición o disminución de la actividad de las vías reguladoras”* (Rivera, 2015).

Se ha observado en COCE y en DPM con displasia epitelial oral, una sobreactivación de la vía Wnt/ β -catenina, aunque su grado de activación varía dependiendo el estado de la carcinogénesis oral (Delmas y cols., 2007). Una de las alteraciones más comunes debido a la desregulación de la vía Wnt en carcinogénesis oral es la translocación de β -catenina al núcleo (Luis y cols., 2012; Reyes y cols., 2015; 2020). Estudios en carcinogénesis oral no han detectado mutaciones en los componentes de la vía Wnt, tales como APC, β -catenina o axina (Lin y cols., 2000), y, por otra parte, últimas investigaciones han demostrado que la desregulación en carcinogénesis oral se debe principalmente a la sobreexpresión de ligandos Wnt (Reyes y cols., 2019) específicamente se han visto altos niveles de Wnt3a en células de displasia epitelial oral (Uraguchi y cols., 2004; Prgomet y cols., 2015; Reyes y cols., 2019). Se ha demostrado que, en mucosa oral sana, β -catenina se encuentra exclusivamente en la membrana plasmática unida a E-cadherina ayudando a conservar la arquitectura del epitelio y restringiendo la migración y proliferación celular (Reyes, 2019; 2020), de forma contraria en células de displasia epitelial oral se ha encontrado presencia nuclear de β -catenina (Reyes y cols., 2015; 2019). Reyes, M & cols en su estudio *“mostró un incremento paralelo y progresivo tanto en la expresión de Wnt3a como en β -catenina nuclear al comparar la mucosa normal con biopsias de displasia leve, moderada y severa”*. (Reyes y cols., 2019).

Según lo anterior, la sobreexpresión de ligandos Wnt es clave para la activación aberrante de la vía Wnt/ β -catenina, por lo tanto, se ha apuntado a la inhibición de PORCN para regular la vía, al ser fundamental en la actividad funcional de los ligandos Wnt, (Liu y cols., 2013; Mo y cols., 2013; Jiang y cols., 2018; Torres y cols., 2019; Shah y cols., 2021).

2.7 Porcupina y Cáncer

La desregulación de la vía Wnt está asociada a distintos tipos de cáncer (Iwai y cols., 2005; Reyes y cols., 2019; 2020). Como mencionamos anteriormente, PORCN es una O-aciltransferasa que permite el procesamiento y secreción de ligandos Wnt junto con su transporte a la membrana generando así las distintas respuestas celulares (Takada y cols., 2006; Willert y Nusse, 2012; Rios-Esteves y cols., 2014; Torres y cols., 2019; Shah y cols., 2021). La inhibición de PORCN ha sido estudiada como potencial regulador de la vía Wnt y como blanco farmacológico, disminuyendo la proliferación celular de tumores provocados por la activación aberrante de Wnt (Liu y cols., 2013; Mo y cols., 2013; Jiang y cols., 2018; Torres y cols., 2019; Shah y cols., 2021). En la actualidad algunos inhibidores de PORCN estudiados son: C-59, LGK974, ETC159, IWP-2, CGX1321 y RXC004, siendo los más utilizados C-59 y LGK974 este último se encuentra actualmente en fase 1 de ensayos clínicos para tumores dependientes de Wnt (Rodon y cols., 2021; Shah y cols., 2021).

Al respecto, varios estudios recientes proporcionan evidencia de que los inhibidores de PORCN, inhiben o retrasan el crecimiento de tumores. Proffitt y cols., evaluaron el uso de C-59 en ratones transgénicos y cultivos celulares, demostrando que el uso de C-59 bloquea la progresión de tumores mamarios en ratones transgénicos y que su uso es seguro y factible en modelos *in vivo* (Proffitt y cols., 2013). Datos similares fueron reportados por Cheng y cols., cuyos investigadores demostraron que el uso de C-59 suprimió el crecimiento de tumores derivados de carcinoma nasofaríngeo en modelo murino (Cheng y cols., 2015). De la misma forma, se ha demostrado que el inhibidor LGK974, inhibe potentemente la señalización Wnt y tiene una gran eficacia en los modelos de tumores murinos (Warnakulasuriya y cols., 2011; Farah y cols., 2014). Liu y cols., estudiaron los mecanismos de inhibición de la acilación de Wnt mediada por

PORCN utilizando el inhibidor LGK974 y descubrieron que éste ocupaba el sitio de unión del palmitoleoil-CoA para inhibir la reacción (Liu y cols., 2022).

Por lo tanto, existe evidencia considerable acerca del uso de inhibidores de PORCN, los cuales disminuyen significativamente el crecimiento de tumores provocados por la activación aberrante de la vía Wnt (Warnakulasuriya y cols., 2011; Proffitt y cols., 2013; Liu y cols., 2013; Mo y cols., 2013; Farah y cols., 2014; Jiang y cols., 2018; Torres y cols., 2019; Shah y cols., 2021).

2.8 Porcupina y Cáncer de Cabeza y Cuello

Estudios sobre el efecto de la inhibición de PORCN en cánceres de cabeza y cuello son escasos (Liu y cols., 2013; Kleszcz y cols., 2019).

Un estudio realizado por Kleszcz y cols., demostró que IWP-2, un inhibidor de PORCN que anteriormente se habría descubierto que reduce la señalización de Wnt/ β -catenina en células de cáncer gástrico, redujo significativamente el nivel de transcripción de Axin2 en la mayoría de las líneas celulares analizadas y además confirmaron su actividad inhibidora en líneas celulares de carcinoma oral de lengua e hipofaringe (Kleszcz y cols., 2019). Por otra parte, Liu y cols., mediante estudios *in vivo* e *in vitro* con líneas celulares de carcinoma de células escamosas de faringe, demostraron que el inhibidor LGK974 reprime la señalización de Wnt mediante la inhibición de PORCN, reduciendo la fosforilación de LRP6 y la expresión de genes diana de Wnt, como AXIN2. Además, demostraron la expresión de ligandos Wnt canónicos (Wnt1, -2, -3, -3A, -6, -7A y -9A) mediante uso de LGK974, el cual mostró un efecto inhibidor en todos los Wnt estudiados, demostrando que las líneas celulares de carcinoma de cabeza y cuello respondían mucho mejor al inhibidor de PORCN en comparación con otras líneas celulares estudiadas. En forma paralela, a través de un modelo murino, se demostró la toxicidad y eficacia del inhibidor, donde una dosis de 3 mg/kg por día durante 14 días fue inofensivo y efectivo en la regresión del tumor, mientras que una dosis de 20mg/kg en el mismo esquema de administración generó pérdida de tejido intestinal. *“Este estudio muestra una ventana terapéutica para LGK974, promoviendo regresiones tumorales a dosis que respetan los tejidos normales”* (Liu y cols., 2013).

Pocos estudios se han realizado en carcinogénesis oral, al respecto Reyes y cols., estudiaron células displásicas orales que poseen activación aberrante de

Wnt, en donde se observó localización nuclear de β -catenina en conjunto a un aumento de Wnt3a el cual fue significativamente menor tras la administración del inhibidor de PORCN C-59, de la misma forma disminuyeron los niveles proteicos y de mRNA de genes blancos de Wnt tales como, Ciclina D1 y Survivina (Reyes y cols., 2019).

Otro estudio realizado por Peña-Oyarzún, D y cols analizaron el efecto del inhibidor de PORCN C59 en un modelo *in vitro* de cáncer oral inducido por tabaco, en un modelo murino *in vivo* de carcinogénesis oral inducido por el carcinógeno 4-Nitroquinoline 1-oxide y en muestras *ex vivo* de pacientes con displasia epitelial oral y COCE mostrando niveles reducidos de β -catenina nuclear y Wnt3a tras aplicar C59, en conjunto con una disminución del tamaño y número de lesiones tumorales en el modelo *in vivo* (Peña-Oyarzún, D y cols., 2023).

Si bien, los estudios presentados han demostrado resultados favorables en la inhibición de PORCN como posible diana terapéutica en cánceres de cabeza y cuello, su expresión en las distintas etapas de la carcinogénesis oral no está clara y quedan muchos estudios por realizar en esta materia para avanzar en el desarrollo y acercamiento de algo seguro y aplicable a pacientes humanos.

2.9 Formulación del Problema

La vía Wnt/ β -catenina cumple variadas funciones en el organismo relacionadas con el desarrollo embrionario y homeostasis tisular. Sin embargo, cuando esta vía se encuentra desregulada puede verse involucrada en distintos tipos de enfermedades, incluido el cáncer.

PORCN es fundamental en el procesamiento y secreción de ligandos Wnt, y varios cánceres están relacionados a la sobreexpresión de estos ligandos. Sin embargo, no existen estudios sobre la expresión de PORCN en las diferentes etapas de la carcinogénesis oral.

Por lo tanto, en esta investigación se quiere determinar la expresión de PORCN en biopsias de pacientes con diagnóstico de displasia epitelial oral en sus distintas etapas, cuyos resultados podrían ayudar a dilucidar el rol de PORCN, proponiéndolo como un blanco terapéutico que impida la progresión de la carcinogénesis oral.

3. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

3.1 HIPÓTESIS

Existe una mayor expresión de PORCN en biopsias de pacientes con diagnóstico de displasia epitelial oral de alto grado en comparación a biopsias de pacientes con diagnóstico de displasia epitelial oral de bajo grado.

3.2 OBJETIVO GENERAL

Determinar y comparar la expresión de PORCN en biopsias de pacientes con diagnóstico de displasia epitelial oral de bajo grado y displasia epitelial oral de alto grado.

3.3 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

3.3.1 Determinar la expresión de PORCN en biopsias con diagnóstico de displasia epitelial oral de bajo grado.

3.3.2 Determinar la expresión de PORCN en biopsias con diagnóstico de displasia epitelial oral de alto grado.

3.3.3 Comparar la expresión de PORCN en biopsias con diagnóstico de displasia epitelial oral de bajo grado y displasia epitelial oral de alto grado.

4. MATERIAL Y MÉTODOS

4.1 Diseño del estudio

Estudio observacional de corte transversal.

4.2 Descripción y obtención de la muestra

Se utilizaron cortes de biopsias de pacientes con diagnóstico histopatológico de displasia epitelial oral leve, moderada y severa. Estas muestras fueron obtenidas por el Servicio de Anatomía Patológica de la Facultad de Odontología de la Universidad de Chile.

La búsqueda de las muestras se realizó en la base de datos entre los años 2000-2018 ingresando los diagnósticos histopatológicos. Se utilizó el programa Microsoft®Access2016 utilizando las palabras claves: displasia oral leve, displasia oral moderada, displasia oral severa y mucosa oral sana.

El número de ficha clínica y placa histológica correspondiente se obtuvieron de la misma base de datos.

Criterios de inclusión:

- Biopsias con diagnóstico histopatológico de displasia epitelial oral leve, moderada y severa, diagnosticado por un Especialista en Patología bucomaxilofacial.
- Cantidad suficiente de material fijado e incluido en bloques de parafina para realizar los análisis de inmunohistoquímica.

Criterios de exclusión

- Muestras que tuvieran artefactos de técnica quirúrgica y/o de procesamiento histológico.

El tamaño de la muestra final incluyó 43 biopsias. Del total, 21 biopsias con diagnóstico de displasia epitelial oral leve, que se clasificaron según la clasificación de la OMS (2017) como displasias de bajo grado, 15 biopsias con diagnóstico de displasia oral moderada y 7 biopsias con diagnóstico de displasia oral severa, estas últimas se agruparon en displasias de alto grado. Además, se consideraron 5 muestras con diagnóstico de mucosa oral sana para control.

4.3 Técnica de inmunohistoquímica para la detección de Porcupina.

4.3.1 Procesamiento previo

En un micrótopo rotatorio se ejecutó 1 corte de 3 μm de cada muestra seleccionada incluida en parafina para la detección de Porcupina mediante un anticuerpo anti-Porcupina. Los cortes se sometieron a un baño de estirado a 38°C; y posteriormente fueron recogidos en portaobjetos con carga positiva y secados a 60°C por 30 min en estufa.

4.3.2 Técnica Inmunohistoquímica.

Las muestras se desparafinaron en xilol y se rehidrataron en alcoholes descendentes hasta llegar a agua destilada. Los cortes se sometieron en olla a presión con buffer de citrato de sodio a pH 6 por 45 min para la recuperación antigénica. Finalmente fueron lavadas con buffer fosfato salino (PBS) por 5 min. Los cortes se incubaron durante 20 minutos a temperatura ambiente en peróxido de hidrógeno al 3% en metanol para bloquear la actividad de la enzima peroxidasa endógena. Posteriormente los cortes se incubaron a temperatura ambiente en suero de caballo por 30 min seguido de la incubación durante toda la noche en cámara húmeda a 4°C con el anticuerpo anti-PORC, Invitrogen, (PA5-43423) en una dilución 1:300. Finalmente, los cortes se lavaron con PBS por 5 minutos y se incubaron con el anticuerpo secundario biotinilado durante 30 min a 37°C y posteriormente con el conjugado enzimático peroxidasa-estreptavidina (Sistema Detección Universal Vectastain Elite Kit amplio espectro ABC-HRP, RTU, Vector-USA, EE. UU.) por 20 min a 37°C; se visualizó la reacción utilizando diaminobencidina (DAB) y se contrarrestó con hematoxilina de Harris (Reyes y cols., 2015; 2019).

4.4 Recolección de resultados

Se realizó un recuento de aquellas células con marcaje inmunopositivo. Esto se realizó seleccionando 5 campos no aleatorios evaluando microscópicamente (40x) la presencia de epitelios displásicos de bajo o alto grado. Se consideró positivo para la proteína PORCN al visualizar una tinción de color pardo/marrón a nivel citoplasmático. Se determinó como parámetro estándar para el conteo, el número de células con marcaje positivo por cada 1000 células epiteliales

displásicas de bajo y alto grado utilizando el programa Image J para el anticuerpo anti-PORCN.

Los campos se fotografiaron con microscopio Olympus CX41, cámara Olympus LS35, utilizando el programa Micrometrics SE Premium.

La clasificación de la expresión de PORCN, se determinó por medio de la observación directa al microscopio otorgando un valor numérico según intensidad. Se clasificó en 3 parámetros, baja intensidad, mediana intensidad y fuerte intensidad. Se utilizó la mucosa sana como control, siendo esta clasificada como de baja intensidad (Figura 1).

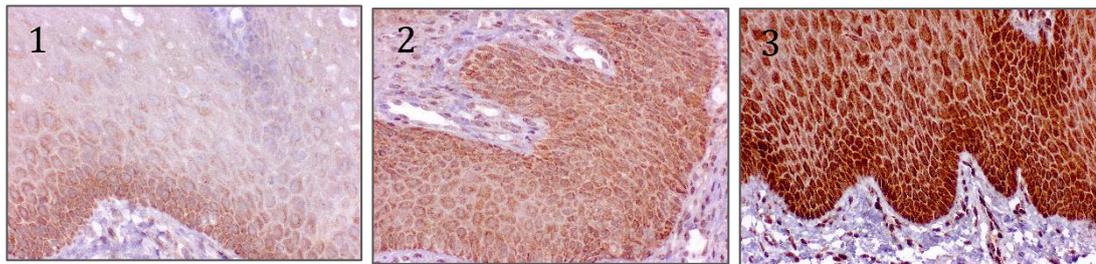


Figura 1. Intensidad de PORCN

*(1) Baja intensidad, (2) Mediana intensidad (3) Fuerte intensidad.
Microfotografías tomadas a 40x.*

4.5 Análisis estadístico

A través de la prueba de Shapiro Wilk se realizó un análisis de normalidad de la curva de los datos obtenidos. Se obtuvieron resultados no paramétricos por lo que se utilizó la prueba de Mann-Whitney.

Los resultados se expresaron en mediana y rango intercuartil considerando un valor de significancia $p < 0,05$ como estadísticamente significativo para determinar diferencias. Las pruebas estadísticas se realizaron con el software Stata 11.0.

4.6 Consideraciones Éticas

Este trabajo formó parte del Proyecto FONDECYT 11221000, el cual fue aprobado por el Comité de Ética de la Facultad de Medicina de la Universidad de Chile (ANEXO 1).

5. RESULTADOS

Se analizaron 43 muestras correspondientes a biopsias de pacientes con diagnóstico histopatológico de displasia epitelial oral; 21 displasias leves, 15 displasias moderadas y 7 displasias severas. Se distribuyeron en 2 grupos según la clasificación de la OMS 2017 en 21 displasias de bajo grado y 22 displasias de alto grado, estas últimas incluyen las displasias moderadas y severas.

Se presentan los resultados de la expresión de la proteína PORCN en ambos grupos y su comparación de acuerdo con los objetivos planteados.

5.1 Diagnósticos histopatológicos

Se presentan a continuación cortes histológicos con tinción hematoxilina-eosina de mucosa oral sana, displasia de bajo grado y displasias de alto grado.

La displasia epitelial oral está caracterizada por variaciones citológicas y arquitectónicas del epitelio en sus capas más superficiales. La OMS la clasifica en leve, moderada y severa dependiendo de los estratos del epitelio afectados. En la displasia leve la alteración se limita al tercio inferior del epitelio. En la displasia moderada hasta el tercio medio y en la displasia severa se observan más de dos tercios del epitelio afectados sin llegar a involucrarlo por completo (Figura 2). En el presente estudio se utilizó la clasificación de la OMS de 2017 que agrupa displasias moderadas y severas en displasias de alto grado.

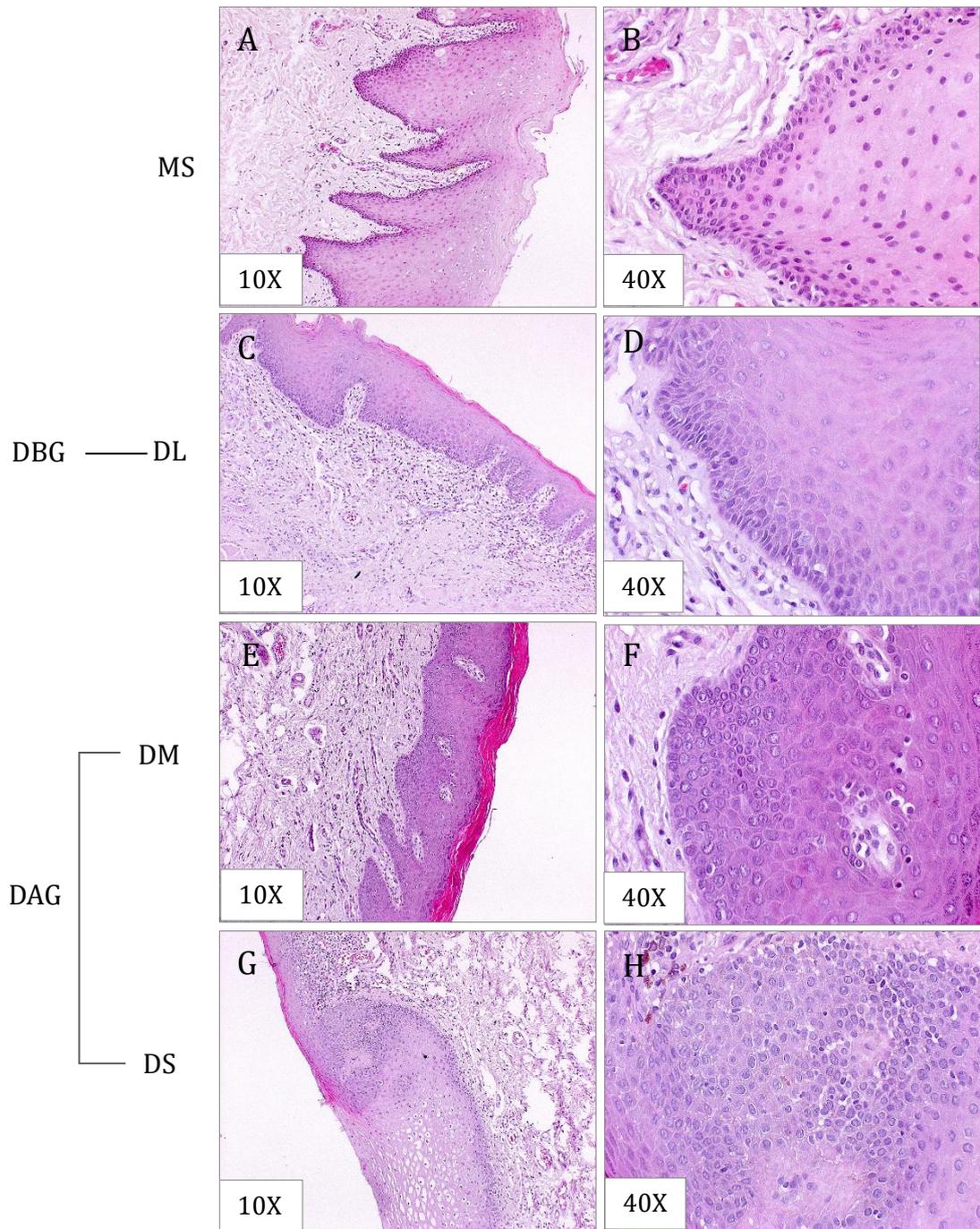


Figura 2. Histopatología de mucosa oral sana, displasias leve, moderada y severa.

Tinción H-E

(MS) Mucosa Oral Sana. (DBG) Displasia de bajo grado. (DAG) Displasia de alto grado. (DL) Displasia Leve. (DM) Displasia Moderada. (DS) Displasia Severa. (A) Mucosa oral sana 10X (B) Mucosa oral sana 40X (C) Displasia de bajo grado (Displasia leve) 10X (D) Displasia de bajo grado (Displasia leve) 40X (E) Displasia de alto grado (Displasia moderada) 10X (F) Displasia de alto grado (Displasia moderada) 40X (G) Displasia de alto grado (Displasia severa) 10X (H) Displasia de alto grado (Displasia severa) 40X.

5.2 Presentación clínica e histopatológica de las muestras

Las características clínico-demográficas de los pacientes incluidos en este estudio se presentan en la Tabla 1. Con respecto al sexo, en ambos grupos hubo más casos de mujeres que de hombres, con un 52.3% de pacientes mujeres en DBG y 59% en DAG.

La edad promedio de ambos grupos supera los 50 años, aumentando la edad en el grupo de displasia de alto grado donde esta supera los 60 años.

La recopilación de los datos de consumo de tabaco fue escasa, teniendo un 44% del total de las muestras que no registra hábito tabáquico en las respectivas fichas clínicas, esto corresponde a 19 casos totales. En el grupo de displasias de bajo grado, del total de los casos registrados 8 casos eran fumadores (38%) y 2 casos no fumadores (9.5%), la otra mitad de los casos (52,5%) no estaba registrado.

En el grupo de displasias de alto grado, la mitad de los casos eran fumadores (50%) y 3 casos no eran fumadores (13,6%), el 36,4% no registró el dato en la ficha clínica, sin embargo, se obtuvo aproximadamente un 15% más de casos donde se registra el hábito tabáquico en comparación con el grupo de displasias de bajo grado. En ambos grupos la relación fumador/no fumador es aproximadamente 4:1.

La localización más frecuente en ambos grupos fue la lengua con 8 casos (38%) en el grupo de DBG y 6 casos (27%) en el grupo de DAG, lo que corresponde a un 28% del total de los casos. Le sigue en DBG el vano desdentado (19%) y la mucosa oral (19%) y en DAG el vano desdentado (22,7%) y piso de boca (22,7%).

Del total de los casos, aproximadamente la mitad de las lesiones (48.8%) fueron diagnosticadas como leucoplasia, siguiendo en segundo lugar el diagnóstico de leucoplasia verrucosa (18.6%).

Tabla 1. Características clínicas de las muestras clasificadas en displasias de bajo grado y displasias de alto grado

| | DBG | DAG |
|-----------------------------|------------|------------|
| Total de casos | 21 | 22 |
| Sexo | | |
| Femenino | 11 (52,4%) | 13 (59%) |
| Masculino | 10 (47,6%) | 9 (41%) |
| Edad (promedio) | 58.15 | 61.66 |
| Fumador | | |
| Sí | 8 (38,1%) | 11 (50%) |
| No | 2 (9,5%) | 3 (13,6%) |
| No registra | 11 (53,4%) | 8 (36,4%) |
| Localización | | |
| Lengua | 8 (38,1%) | 6 (27,3%) |
| Mucosa | 4 (19%) | 3 (13,6%) |
| Paladar duro | 3 (14,3%) | 0 (0%) |
| Encía | 2 (9,5%) | 3 (13,6%) |
| Piso de boca | 0 (0%) | 5 (22,7%) |
| Vano desdentado | 4 (19%) | 5 (22,7%) |
| Diagnóstico clínico | | |
| Leucoplasia | 6 (28,6%) | 15 (68,2%) |
| Leucoplasia Verrucosa | 5 (23,8%) | 3 (13,6%) |
| Liquen Plano | 2 (9,5%) | 1 (4,55%) |
| Queratosis friccional | 3 (14,3%) | 0 (0%) |
| Úlcera | 2 (9,5%) | 0 (0%) |
| Fibroma irritativo | 2 (9,5%) | 0 (0%) |
| Leucoeritroplasia | 1 (4,8%) | 0 (0%) |
| Melanosis del fumador | 0 (0%) | 1 (4,55%) |
| Fibroma de celulas gigantes | 0 (0%) | 1 (4,55%) |
| Papiloma Oral | 0 (0%) | 1 (4,55%) |

DBG: Displasias de bajo grado. DAG: Displasias de alto grado.

5.3 Localización e intensidad de Porcupina

En el 100% de las muestras se observó la expresión de PORCN, la cual abarcaba la totalidad de los estratos epiteliales, a excepción de la mucosa sana (control negativo), donde si bien el 100% de las muestras fueron positivas, la expresión de la proteína solo se observó en los estratos basales del epitelio. La proteína se concentró en el citoplasma en todos los casos estudiados (Figura 3).

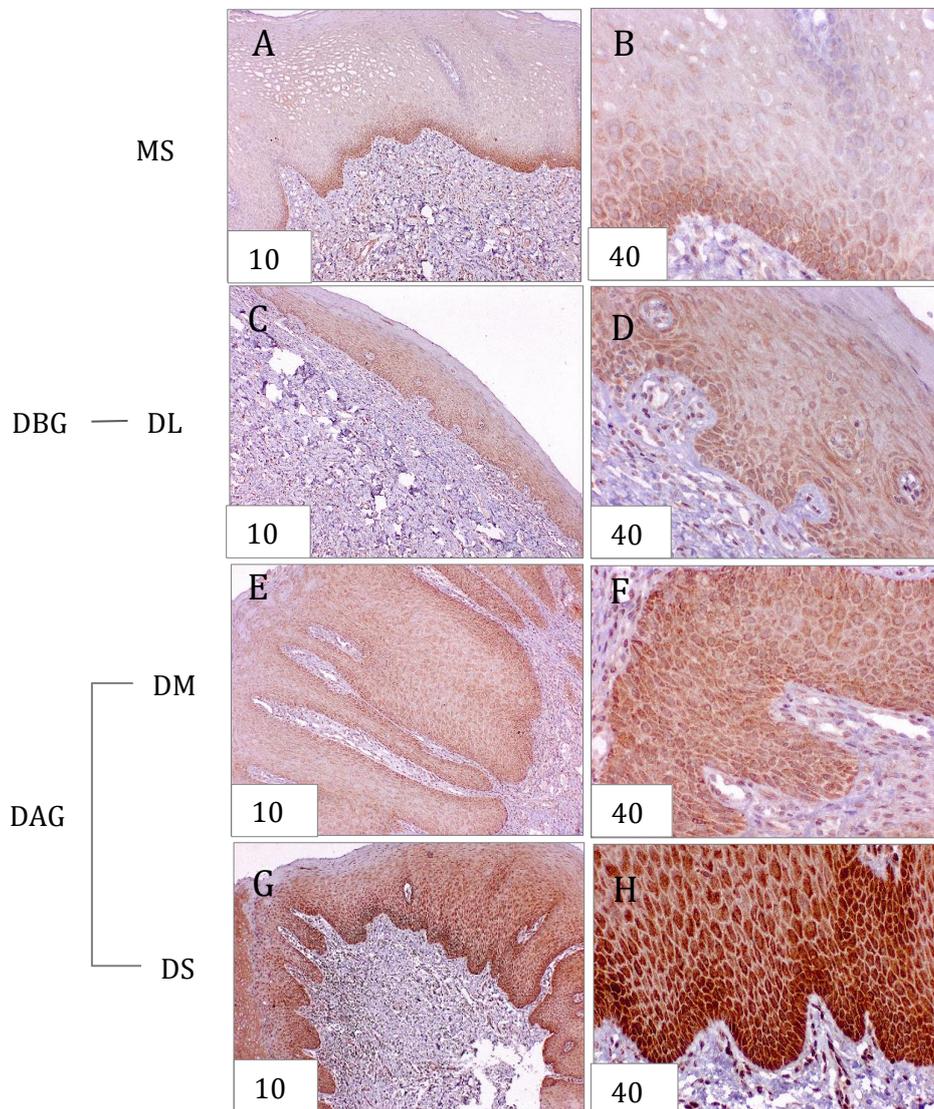


Figura 3. Expresión de PORCN.

(MS) Mucosa Oral Sana. (DBG) Displasia de bajo grado. (DAG) Displasia de alto grado. (DL) Displasia Leve. (DM) Displasia Moderada. (DS) Displasia Severa.

(A) Mucosa oral sana 10X (B) Mucosa oral sana 40X (C) Displasia de bajo grado (Displasia leve) 10X, clasificada como 1 (D) Displasia de bajo grado (Displasia leve) 40X, clasificada como 1 (E) Displasia de alto grado (Displasia moderada) 10X, clasificada como 2 (F) Displasia de alto grado (Displasia moderada) 40X, clasificada como 2 (G) Displasia de alto grado (Displasia severa) 10X, clasificada como 3 (H) Displasia de alto grado (Displasia severa) 40X, clasificada como 3.

En cuanto a la intensidad, en el grupo de displasias de bajo grado, solo 1 muestra (5%) mostró una fuerte intensidad de PORCN, 17 muestras (81%) mostraron una mediana intensidad de PORCN y 3 muestras (14%) presentaron baja intensidad de expresión de PORCN.

En el grupo de displasias de alto grado, 17 muestras (77%) mostraron una fuerte intensidad de PORCN, 5 muestras (23%) mostraron una mediana intensidad y 0 (0%) muestras una baja intensidad. Como control se utilizaron muestras de mucosa sana cuya expresión de PORCN es de baja intensidad (Figura 3; Tabla 2)

Tabla 2. Clasificación de displasias según intensidad de PORCN

| | Indicador | DBG | DAG |
|---|--------------------|-----|-----|
| 1 | Baja intensidad | 3 | 0 |
| 2 | Mediana intensidad | 17 | 5 |
| 3 | Fuerte intensidad | 1 | 17 |

DBG: Displasias de bajo grado. DAG: Displasias de alto grado.

5.4 Comparación de la expresión de PORCN entre las displasias de bajo grado y alto grado

Las muestras de displasia epitelial oral de alto grado presentaron una mayor expresión de PORCN de forma significativa en comparación con las muestras de displasia epitelial oral de bajo grado en donde hubo una menor expresión de PORCN (Figura.4).

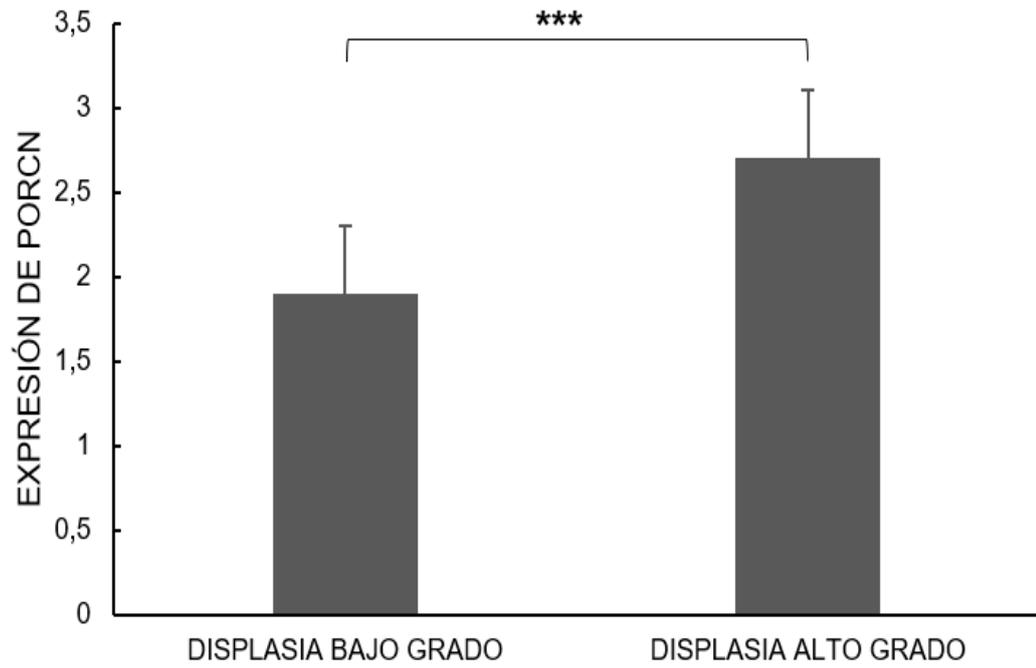


Figura 4. Expresión de PORCN. Número de muestras según la intensidad de PORCN del 1 al 3. El gráfico muestra el promedio \pm la desviación estándar (***) = $p \leq 0.001$).

6. DISCUSIÓN

Una de las vías de señalización que se encuentra desregulada en displasia epitelial oral es la vía de señalización Wnt/ β -catenina, la cual se encuentra relacionada con múltiples procesos patológicos de desarrollo y homeostasis, la cual podría estar implicada en la progresión de la displasia hacia el COCE (Logan y Nusse, 2004; Clevers, 2006; MacDonald y cols., 2009).

PORCN es una O-aciltransferasa fundamental en el procesamiento y secreción de ligandos Wnt (Takada y cols., 2006; Willert y Nusse, 2012; Rios-Esteves y cols., 2014; Torres y cols., 2019; Shah y cols., 2021) y su inhibición ha sido estudiada en neoplasias dependientes de la secreción de ligandos Wnt (Liu y cols., 2013; Mo y cols., 2013; Jiang y cols., 2018; Torres y cols., 2019; Shah y cols., 2021). Sin embargo, no existen estudios sobre su expresión en las diferentes etapas de la displasia epitelial oral. Por lo tanto, en esta investigación por primera vez se determinó y comparó la expresión de PORCN en biopsias de pacientes con diagnóstico de displasia epitelial oral en sus distintas etapas.

Con respecto a las características demográficas de los pacientes, en ambos grupos hubo más casos de mujeres que de hombres, 52.3% en DBG y 59% en DAG. Si bien lo reportado en la literatura indica que en COCE la frecuencia es mayor en hombres que en mujeres (Rivera, 2015; Organización Colegial de Dentistas de España, 2019; WHO, 2020) y que este patrón se repite en desórdenes potencialmente malignos (Weber y cols., 2018), estudios recientes de DPM han reportado un aumento de casos en el sexo femenino junto con un mayor riesgo de transformación maligna (Aguirre-Urizar y cols., 2021; Iparraguirre y cols., 2020; Speight y cols., 2018; Warnakulasuriya y cols., 2011). Esto puede deberse principalmente al aumento de consumo de tabaco y el alcohol por parte del sexo femenino en los últimos años (Carrard y van der Waal, 2018; Iparraguirre y cols., 2020; Neville y Day, 2002). Con respecto a la edad, el promedio en ambos grupos supera los 55 años, lo que coincide ampliamente con lo reportado en la literatura (Rivera, 2015; Ganesh y cols., 2018; WHO, 2020).

En relación al hábito tabáquico, en ambos grupos la relación fumador/no fumador fue de aproximadamente 4:1. Al respecto es sabido que el hábito tabáquico en la literatura se menciona como uno de los principales factores de riesgo para desarrollar displasia epitelial oral y COCE (Escribano-Bermejo y Bascones-

Martínez, 2009; García Kass y cols., 2013; Rivera, 2015; Kumar y cols., 2016; Organización Colegial de Dentistas de España, 2019; Iparraguirre y cols., 2020; WHO, 2023). Sin embargo, hay que considerar que la recopilación de los datos de consumo de tabaco fue escasa, teniendo un 44% del total de las muestras (19 casos) que no registró este dato en la ficha clínica. Considerando que el hábito tabáquico es el más importante factor de riesgo de cáncer, es importante registrarlo en la ficha clínica para futuras investigaciones.

La localización más frecuente en ambos grupos fue en lengua con 8 casos (38%) en el grupo de displasias de bajo grado y 6 casos (27%) en el grupo de displasias de alto grado, lo que corresponde a un 28% del total de los casos, además en displasias de alto grado se ve un 23% de casos en piso de boca, lo que se condice con la literatura (Brouns y cols., 2022; Dhanuthai y cols., 2018; Mateo-Sidrón Antón y Somacarrera Pérez, 2015; Neville y Day, 2002).

Del total de los casos, aproximadamente la mitad (48.8%) fue diagnosticado como leucoplasia, siguiendo en segundo lugar el diagnóstico de leucoplasia verrucosa (18.6%). Por lo que en esta investigación la leucoplasia es el diagnóstico clínico más prevalente, lo que está respaldado por la literatura (Petti, 2003; Organización Colegial de Dentistas de España, 2019; Chaturvedi y cols., 2020; Escribano-Bermejo y Bascones-Martínez, 2009; Weber y cols., 2018)

Respecto a la intensidad de PORCN, se ha visto que esta proteína está involucrada en la secreción y transporte a la membrana de los ligandos Wnt (Takada y cols., 2006; Willert y Nusse, 2012; Rios-Esteves y cols., 2014; Torres y cols., 2019; Shah y cols., 2021). Investigaciones recientes demostraron que la desregulación de la vía Wnt/ β -catenina en carcinogénesis oral se debe principalmente a la sobreexpresión de ligandos Wnt (Reyes y cols., 2020) ya que esto promueve la translocación de β -catenina al núcleo, aumentando la proliferación celular (Clevers, 2006; MacDonald y cols., 2009; Reyes y cols., 2020). Además, en células de displasia epitelial oral, se han observado específicamente altos niveles de Wnt3a (Uraguchi y cols., 2004; Prgomet y cols., 2015; Reyes y cols., 2020).

La presente investigación demostró que las muestras de pacientes con diagnóstico de displasia epitelial oral de alto grado presentaron una mayor intensidad de PORCN en comparación con las muestras de displasia epitelial oral de bajo grado. Si bien no existen estudios donde se determine la expresión

de PORCN en muestras de displasia epitelial oral, estos resultados son concordantes con el aumento en la expresión nuclear de β -catenina en displasias de mayor grado en conjunto con una mayor expresión de ligando Wnt3a en displasia moderada y severa en comparación con displasia leve y COCE (Reyes y cols., 2015; 2019; Goñi Montenegro, 2019).

Se ha estudiado la expresión de PORCN en otros tipos de cánceres. Li & cols descubrieron altas expresiones de PORCN en tejidos de cáncer de células renales en comparación con tejido normal y además una fuerte correlación entre PORCN y proteínas Wnt, apuntando a regular la vía Wnt a través de la inhibición de PORCN con el inhibidor LGK974 demostrando que este inhibidor podría inhibir la progresión del carcinoma (Li & cols, 2020). Liu & cols también estudiaron LGK974 en modelos de cáncer de mama murino induciendo regresión tumoral. También descubrieron que las líneas celulares de COCE eran sensibles a la inhibición de PORCN con LGK974 en contraste con líneas celulares de cáncer de pulmón de células pequeñas, linfoma/leucemia, cáncer de cerebro y de colon (Liu & cols, 2013). Por su parte, Mo & cols encontraron una sobreexpresión de PORCN significativa en muestras de tejido y líneas celulares de cáncer gástrico humano en comparación con tejido normal, que trataron con el inhibidor de PORCN IWP-2 obteniendo una potencial opción terapéutica (Mo & cols, 2013).

Por lo anterior se ha propuesto a PORCN como un nuevo blanco farmacológico en el tratamiento de distintos cánceres por sobreexpresión de ligandos Wnt, ya que su inhibición, bloquearía la producción y transporte de los ligandos Wnt a la membrana, evitando la sobreexpresión β -catenina, su translocación al núcleo y la desregulación de la vía en conjunto con eventos cancerígenos (Shah y cols, 2021). Esto tiene mayor relevancia ya que que PORCN es la única proteína que realiza la palmitoilación de las proteínas Wnt (Y. Liu, y cols. 2022; Shah y cols., 2021)

En conclusión, existe una mayor intensidad de PORCN en muestras de displasias de alto grado en comparación con displasias de bajo grado lo cual podría estar relacionado con la progresión de la displasia epitelial oral. Estos resultados son relevantes ya que es la primera vez que se estudia la expresión de PORCN en biopsias de pacientes con displasia epitelial oral, proponiendo un

rol clave de PORCN en displasia epitelial oral y así avanzar en terapias que apunten a PORCN como blanco farmacológico en lesiones precancerosas.

7. CONCLUSIONES

La expresión de la enzima *O-aciltransferasa* porcupina en displasia epitelial oral era desconocida hasta ahora.

- La expresión citoplasmática de PORCN va aumentando a medida que progresa la displasia epitelial oral a etapas más severas.
- PORCN tiene un importante rol en la progresión de la carcinogénesis oral y su inhibición podría ayudar a regular la vía Wnt/ β -catenina.
- PORCN al ser una enzima que tiene funciones específicas en este proceso de secreción y transporte de ligandos Wnt se transforma en un objetivo farmacológico selectivo y atrayente para el tratamiento del cáncer oral en sus etapas más tempranas.

8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Aguirre-Urizar, J. M., Lafuente-Ibáñez de Mendoza, I., & Warnakulasuriya, S. (2021). Malignant transformation of oral leukoplakia: Systematic review and meta-analysis of the last 5 years. *Oral Diseases*, 27(8), 1881-1895. <https://doi.org/10.1111/odi.13810>

Bagan, J., Scully, C., Jimenez, Y., & Martorell, M. (2010). Proliferative verrucous leukoplakia: A concise update. *Oral Diseases*, 16(4), 328-332. <https://doi.org/10.1111/j.1601-0825.2009.01632.x>

Brouns, E. R., Evren, I., Wils, L. J., Poell, J. B., Brakenhoff, R. H. y cols. (2022). Oral leukoplakia classification and staging system with incorporation of differentiated dysplasia. *Oral diseases*, 10.1111/odi.14295. Advance online publication. <https://doi.org/10.1111/odi.14295>

Carrard, V.-C., & van der Waal, I. (2018). A clinical diagnosis of oral leukoplakia; A guide for dentists. *Medicina Oral, Patología Oral Y Cirugía Bucal*, 23(1), e59-e64. <https://doi.org/10.4317/medoral.22292>

Chaturvedi, A. K., Udaltsova, N., Engels, E. A., Katzel, J. A., Yanik, E. L., y cols. (2020). Oral Leukoplakia and Risk of Progression to Oral Cancer: A Population-Based Cohort Study. *Journal of the National Cancer Institute*, 112(10), 1047-1054. <https://doi.org/10.1093/jnci/djz238>

Cheng, Y., Phoon, Y. P., Jin, X., Chong, S. Y. S., Ip, J. C. Y. y cols. (2015). Wnt-C59 arrests stemness and suppresses growth of nasopharyngeal carcinoma in mice by inhibiting the Wnt pathway in the tumor microenvironment. *Oncotarget*, 6(16), 14428-14439. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.3982>

Christie, M., Jorissen, R. N., Mouradov, D., Sakthianandeswaren, A., Li, S., y cols. (2013). Different APC genotypes in proximal and distal sporadic colorectal cancers suggest distinct WNT/ β -catenin signalling thresholds for tumourigenesis. *Oncogene*, 32(39), 4675-4682. <https://doi.org/10.1038/onc.2012.486>

Clevers, H. (2006). Wnt/beta-catenin signaling in development and disease. *Cell*, 127(3), 469-480. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2006.10.018>

Consejo de Dentistas. Organización Colegial de Dentistas de España. (2019). *Cáncer Oral para Dentistas (Primera Edición)*. Santiago de Compostela, España: Fundación Dental Española.

Delmas, V., Beermann, F., Martinozzi, S., Carreira, S., Ackermann, J y cols. (2007). Beta-catenin induces immortalization of melanocytes by suppressing p16INK4a expression and cooperates with N-Ras in melanoma development. *Genes & Development*, 21(22), 2923-2935. <https://doi.org/10.1101/gad.450107>

Dhanuthai, K., Rojanawatsirivej, S., Thosaporn, W., Kintarak, S., Subarnbhesaj, A y cols. (2018). Oral cancer: A multicenter study. *Medicina Oral, Patología Oral y Cirugía Bucal*, 23(1), e23-e29. <https://doi.org/10.4317/medoral.21999>

Dost, F., Lê Cao, K., Ford, P. J., Ades, C., & Farah, C. S. (2014). Malignant transformation of oral epithelial dysplasia: A real-world evaluation of histopathologic grading. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology and Oral Radiology*, 117(3), 343-352. <https://doi.org/10.1016/j.oooo.2013.09.017>

El-Naggar, A. K., Chan, J. K. C., Takata, T., Grandis, J. R., & Slotweg, P. J. (2017). The fourth edition of the head and neck World Health Organization blue book: Editors' perspectives. *Human Pathology*, 66, 10-12. <https://doi.org/10.1016/j.humpath.2017.05.014>

Ereño Zárata, C. (2007). La nueva clasificación de la O.M.S. 2005. Lesiones precursoras y los tumores de la laringe, hipofaringe y tráquea. *Revista Española de Patología*, 40(1), 3-10. [https://doi.org/10.1016/S1699-8855\(07\)70050-8](https://doi.org/10.1016/S1699-8855(07)70050-8)

Escribano-Bermejo, M., & Bascones-Martínez, A. (2009). Leucoplasia oral: Conceptos actuales. *Avances en Odontostomatología*, 25(2), 83-97.

Farah, C. S., Woo, S., Zain, R. B., Sklavounou, A., McCullough, M. J y cols. (2014). Oral Cancer and Oral Potentially Malignant Disorders. *International Journal of Dentistry*, 2014, 853479. <https://doi.org/10.1155/2014/853479>

Ganesh, D., Sreenivasan, P., Öhman, J., Wallström, M., Braz-Silva, P. H y cols. (2018). Potentially Malignant Oral Disorders and Cancer Transformation. *Anticancer Research*, 38(6), 3223-3229. <https://doi.org/10.21873/anticancer.12587>

García Kass, A. I., Domínguez Gordillo, A. A., García Núñez, J. A., Cancela Rivas, G., Torres Salcines, J y cols. (2013). Revisión y puesta al día en cáncer de lengua. *Avances en Odontoestomatología*, 29(5), 255-269.

Goñi Montenegro, F. (2019). *Asociación entre la detección de β -catenina nuclear y la expresión de Wnt3a, Wnt5a, APC, Axina y GSK-3 β en displasia y carcinoma oral de células escamosas*. <https://repositoriobibliotecas.uv.cl/handle/uvscl/1426>

Herr, P., Hausmann, G., & Basler, K. (2012). WNT secretion and signalling in human disease. *Trends in Molecular Medicine*, 18(8), 483-493. <https://doi.org/10.1016/j.molmed.2012.06.008>

Hofmann, K. (2000). A superfamily of membrane-bound O-acyltransferases with implications for wnt signaling. *Trends in Biochemical Sciences*, 25(3), 111-112. [https://doi.org/10.1016/s0968-0004\(99\)01539-x](https://doi.org/10.1016/s0968-0004(99)01539-x)

Inchingolo, F., Santacroce, L., Ballini, A., Topi, S., Dipalma, G y cols. (2020). Oral Cancer: A Historical Review. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 17(9), 3168. <https://doi.org/10.3390/ijerph17093168>

Locca, O., Sollecito, T. P., Alawi, F., Weinstein, G. S., Newman, J. G y cols. (2020). Potentially malignant disorders of the oral cavity and oral dysplasia: A systematic review and meta-analysis of malignant transformation rate by subtype. *Head & Neck*, 42(3), 539-555. <https://doi.org/10.1002/hed.26006>

Iparraguirre, M. F., Fajardo, X., Carneiro, E., Couto, P. H., Iparraguirre, M. F y cols. (2020). Desordenes orales potencialmente malignos-Lo que el odontólogo debe conocer. *Revista Estomatológica Herediana*, 30(3), 216-223. <https://doi.org/10.20453/reh.v30i3.3826>

Iwai, S., Katagiri, W., Kong, C., Amekawa, S., Nakazawa, M y cols.. (2005). Mutations of the APC, beta-catenin, and axin 1 genes and cytoplasmic accumulation of beta-catenin in oral squamous cell carcinoma. *Journal of Cancer Research and Clinical Oncology*, 131(12), 773-782. <https://doi.org/10.1007/s00432-005-0027-y>

Jiang, J., Lan, C., Li, L., Yang, D., Xia, X y cols. (2018). A novel porcupine inhibitor blocks WNT pathways and attenuates cardiac hypertrophy. *Biochimica Et Biophysica Acta. Molecular Basis of Disease*, 1864(10), 3459-3467. <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2018.07.035>

Kadowaki, T., Wilder, E., Klingensmith, J., Zachary, K., & Perrimon, N. (1996). The segment polarity gene porcupine encodes a putative multitransmembrane protein involved in Wingless processing. *Genes & Development*, 10(24), 3116-3128. <https://doi.org/10.1101/gad.10.24.3116>

Kleszcz, R., Szymańska, A., Krajka-Kuźniak, V., Baer-Dubowska, W., & Paluszczak, J. (2019). Inhibition of CBP/ β -catenin and porcupine attenuates Wnt signaling and induces apoptosis in head and neck carcinoma cells. *Cellular Oncology (Dordrecht)*, 42(4), 505-520. <https://doi.org/10.1007/s13402-019-00440-4>

Kohn, A. D., & Moon, R. T. (2005). Wnt and calcium signaling: Beta-catenin-independent pathways. *Cell Calcium*, 38(3-4), 439-446. <https://doi.org/10.1016/j.ceca.2005.06.022>

Kumar, M., Nanavati, R., Modi, T. G., & Dobariya, C. (2016). Oral cancer: Etiology and risk factors: A review. *Journal of Cancer Research and Therapeutics*, 12(2), 458-463. <https://doi.org/10.4103/0973-1482.186696>

Li, J., Wu, G., Xu, Y., Li, J., Ruan, N y cols.. (2020). Porcupine Inhibitor LGK974 Downregulates the Wnt Signaling Pathway and Inhibits Clear Cell Renal Cell Carcinoma. *BioMed research international*, 2020, 2527643. <https://doi.org/10.1155/2020/2527643>

Lin, S. Y., Xia, W., Wang, J. C., Kwong, K. Y., Spohn, B y cols. (2000). Beta-catenin, a novel prognostic marker for breast cancer: Its roles in cyclin D1 expression and cancer progression. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 97(8), 4262-4266. <https://doi.org/10.1073/pnas.060025397>

Liu, J., Pan, S., Hsieh, M. H., Ng, N., Sun, F y cols. (2013). Targeting Wnt-driven cancer through the inhibition of Porcupine by LGK974. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 110(50), 20224-20229. <https://doi.org/10.1073/pnas.1314239110>

Liu, Y., Qi, X., Donnelly, L., Elghobashi-Meinhardt, N., Long, T y cols. (2022). Mechanisms and inhibition of Porcupine-mediated Wnt acylation. *Nature*, 607(7920), 816-822. <https://doi.org/10.1038/s41586-022-04952-2>

Logan, C. Y., & Nusse, R. (2004). The Wnt signaling pathway in development and disease. *Annual Review of Cell and Developmental Biology*, 20, 781-810. <https://doi.org/10.1146/annurev.cellbio.20.010403.113126>

Luis, T. C., Ichii, M., Brugman, M. H., Kincade, P., & Staal, F. J. T. (2012). Wnt signaling strength regulates normal hematopoiesis and its deregulation is involved in leukemia development. *Leukemia*, 26(3), 414-421. <https://doi.org/10.1038/leu.2011.387>

MacDonald, B. T., Tamai, K., & He, X. (2009). Wnt/ β -catenin signaling: Components, mechanisms, and diseases. *Developmental cell*, 17(1), 9-26. <https://doi.org/10.1016/j.devcel.2009.06.016>

Martínez-Sahuquillo Márquez, A., Gallardo Castillo, I., Cobos Fuentes, M. J., Caballero Aguilar, J., & Bullón Fernández, P. (2008). La leucoplasia oral: Su implicación como lesión precancerosa. *Avances en Odontoestomatología*, 24(1), 33-44.

Mateo-Sidrón Antón, M. C., & Somacarrera Pérez, M. L. (2015). Cáncer oral: Genética, prevención, diagnóstico y tratamiento. revisión de la literatura.

Avances en Odontoestomatología, 31(4), 247-259.
<https://doi.org/10.4321/S0213-12852015000400002>

Mehanna, H. M., Rattay, T., Smith, J., & McConkey, C. C. (2009). Treatment and follow-up of oral dysplasia—A systematic review and meta-analysis. *Head & Neck*, 31(12), 1600-1609. <https://doi.org/10.1002/hed.21131>

Mello, F. W., Miguel, A. F. P., Dutra, K. L., Porporatti, A. L., Warnakulasuriya, S y cols. (2018). Prevalence of oral potentially malignant disorders: A systematic review and meta-analysis. *Journal of Oral Pathology & Medicine: Official Publication of the International Association of Oral Pathologists and the American Academy of Oral Pathology*, 47(7), 633-640. <https://doi.org/10.1111/jop.12726>

Mo, M.-L., Li, M.-R., Chen, Z., Liu, X.-W., Sheng, Q y cols.. (2013). Inhibition of the Wnt palmitoyltransferase porcupine suppresses cell growth and downregulates the Wnt/ β -catenin pathway in gastric cancer. *Oncology Letters*, 5(5), 1719-1723. <https://doi.org/10.3892/ol.2013.1256>

Montero, P. H., & Patel, S. G. (2015). Cancer of the oral cavity. *Surgical Oncology Clinics of North America*, 24(3), 491-508. <https://doi.org/10.1016/j.soc.2015.03.006>

Müller, S. (2017). Update from the 4th Edition of the World Health Organization of Head and Neck Tumours: Tumours of the Oral Cavity and Mobile Tongue. *Head and Neck Pathology*, 11(1), 33-40. <https://doi.org/10.1007/s12105-017-0792-3>

Neville, B. W., & Day, T. A. (2002). Oral cancer and precancerous lesions. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 52(4), 195-215. <https://doi.org/10.3322/canjclin.52.4.195>

Petti, S. (2003). Pooled estimate of world leukoplakia prevalence: A systematic review. *Oral Oncology*, 39(8), 770-780. [https://doi.org/10.1016/s1368-8375\(03\)00102-7](https://doi.org/10.1016/s1368-8375(03)00102-7)

Peña-Oyarzún, D., Flores, T., Torres, V., Quest, A., Lobos-Gonzalez, L y cols. (2023). Inhibition of PORCN blocks Wnt signaling to attenuate progression of oral carcinogenesis. *Clinical cancer research: an official journal of the American Association for Cancer Research*, 10.1158/1078-0432.CCR-23-0318. Advance online publication. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-23-0318>

Prgomet, Z., Axelsson, L., Lindberg, P., & Andersson, T. (2015). Migration and invasion of oral squamous carcinoma cells is promoted by WNT5A, a regulator of cancer progression. *Journal of Oral Pathology & Medicine: Official Publication of the International Association of Oral Pathologists and the American Academy of Oral Pathology*, 44(10), 776-784. <https://doi.org/10.1111/jop.12292>

Proffitt, K. D., Madan, B., Ke, Z., Pendharkar, V., Ding, L., Lee, M. A y cols. (2013). Pharmacological inhibition of the Wnt acyltransferase PORCN prevents growth of WNT-driven mammary cancer. *Cancer Research*, 73(2), 502-507. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-12-2258>

Ray, J. G., Ranganathan, K., & Chattopadhyay, A. (2016). Malignant transformation of oral submucous fibrosis: Overview of histopathological aspects. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology and Oral Radiology*, 122(2), 200-209. <https://doi.org/10.1016/j.oooo.2015.11.024>

Reichart, P. A., & Philipsen, H. P. (2005). Oral erythroplakia—A review. *Oral Oncology*, 41(6), 551-561. <https://doi.org/10.1016/j.oraloncology.2004.12.003>

Reyes, M., Flores, T., Betancur, D., Peña-Oyarzún, D., & Torres, V. A. (2020). Wnt/ β -Catenin Signaling in Oral Carcinogenesis. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(13), 4682. <https://doi.org/10.3390/ijms21134682>

Reyes, M., Peña-Oyarzun, D., Maturana, A., & Torres, V. A. (2019). Nuclear localization of β -catenin and expression of target genes are associated with increased Wnt secretion in oral dysplasia. *Oral Oncology*, 94, 58-67. <https://doi.org/10.1016/j.oraloncology.2019.05.010>

Reyes, M., Rojas-Alcayaga, G., Maturana, A., Aitken, J.-P., Rojas, C y cols. (2015). Increased nuclear β -catenin expression in oral potentially malignant

lesions: A marker of epithelial dysplasia. *Medicina Oral, Patología Oral y Cirugía Bucal*, 20(5), e540-e546. <https://doi.org/10.4317/medoral.20341>

Rios-Esteves, J., Haugen, B., & Resh, M. D. (2014). Identification of key residues and regions important for porcupine-mediated Wnt acylation. *The Journal of Biological Chemistry*, 289(24), 17009-17019. <https://doi.org/10.1074/jbc.M114.561209>

Rios-Esteves, J., & Resh, M. D. (2013). Stearoyl CoA desaturase is required to produce active, lipid-modified Wnt proteins. *Cell Reports*, 4(6), 1072-1081. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2013.08.027>

Rivera, C. (2015). Essentials of oral cancer. *International Journal of Clinical and Experimental Pathology*, 8(9), 11884-11894.

Rodon, J., Argilés, G., Connolly, R. M., Vaishampayan, U., de Jonge, M y cols. (2021). Phase 1 study of single-agent WNT974, a first-in-class Porcupine inhibitor, in patients with advanced solid tumours. *British Journal of Cancer*, 125(1), 28-37. <https://doi.org/10.1038/s41416-021-01389-8>

Shah, K., Panchal, S., & Patel, B. (2021). Porcupine inhibitors: Novel and emerging anti-cancer therapeutics targeting the Wnt signaling pathway. *Pharmacological Research*, 167, 105532. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2021.105532>

Speight, P. M. (2007). Update on Oral Epithelial Dysplasia and Progression to Cancer. *Head and Neck Pathology*, 1(1), 61-66. <https://doi.org/10.1007/s12105-007-0014-5>

Speight, P. M., Khurram, S. A., & Kujan, O. (2018). Oral potentially malignant disorders: Risk of progression to malignancy. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology and Oral Radiology*, 125(6), 612-627. <https://doi.org/10.1016/j.oooo.2017.12.011>

Taciak, B., Pruszynska, I., Kiraga, L., Bialasek, M., & Krol, M. (2018). Wnt signaling pathway in development and cancer. *Journal of Physiology and*

Pharmacology: An Official Journal of the Polish Physiological Society, 69(2).
<https://doi.org/10.26402/jpp.2018.2.07>

Takada, R., Satomi, Y., Kurata, T., Ueno, N., Norioka, S y cols. (2006).
Monounsaturated fatty acid modification of Wnt protein: Its role in Wnt secretion.
Developmental Cell, 11(6), 791-801.
<https://doi.org/10.1016/j.devcel.2006.10.003>

Torres, V. I., Godoy, J. A., & Inestrosa, N. C. (2019). Modulating Wnt signaling at
the root: Porcupine and Wnt acylation. *Pharmacology & Therapeutics*, 198, 34-
45. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2019.02.009>

Tran, F. H., & Zheng, J. J. (2017). Modulating the wnt signaling pathway with
small molecules. *Protein Science: A Publication of the Protein Society*, 26(4),
650-661. <https://doi.org/10.1002/pro.3122>

Uraguchi, M., Morikawa, M., Shirakawa, M., Sanada, K., & Imai, K. (2004).
Activation of WNT family expression and signaling in squamous cell carcinomas
of the oral cavity. *Journal of Dental Research*, 83(4), 327-332.
<https://doi.org/10.1177/154405910408300411>

Warnakulasuriya, S., Johnson, N. W., & van der Waal, I. (2007). Nomenclature
and classification of potentially malignant disorders of the oral mucosa. *Journal
of Oral Pathology & Medicine: Official Publication of the International Association
of Oral Pathologists and the American Academy of Oral Pathology*, 36(10), 575-
580. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0714.2007.00582.x>

Warnakulasuriya, S., Kovacevic, T., Madden, P., Coupland, V. H., Sperandio, M
y cols. (2011). Factors predicting malignant transformation in oral potentially
malignant disorders among patients accrued over a 10-year period in South East
England. *Journal of Oral Pathology & Medicine*, 40(9), 677-683.
<https://doi.org/10.1111/j.1600-0714.2011.01054.x>

Warnakulasuriya, S., Reibel, J., Bouquot, J., & Dabelsteen, E. (2008). Oral
epithelial dysplasia classification systems: Predictive value, utility, weaknesses
and scope for improvement. *Journal of Oral Pathology & Medicine: Official*

Publication of the International Association of Oral Pathologists and the American Academy of Oral Pathology, 37(3), 127-133. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0714.2007.00584.x>

Weber, F. W., Miguel, A. F. P., Dutra, K. L., Porporatti, A. L., Warnakulasuriya, S y cols. (2018). Prevalence of oral potentially malignant disorders: A systematic review and meta-analysis. *Journal of Oral Pathology & Medicine: Official Publication of the International Association of Oral Pathologists and the American Academy of Oral Pathology*, 47(7), 633-640. <https://doi.org/10.1111/jop.12726>

Willert, K., Brown, J. D., Danenberg, E., Duncan, A. W., Weissman, I. L y cols. (2003). Wnt proteins are lipid-modified and can act as stem cell growth factors. *Nature*, 423(6938), 448-452. <https://doi.org/10.1038/nature01611>

Willert, K., & Nusse, R. (2012). Wnt proteins. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 4(9), a007864. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a007864>

Wolf, L., & Boutros, M. (2023). The role of Evi/Wntless in exporting Wnt proteins. *Development (Cambridge, England)*, 150(3), dev201352. <https://doi.org/10.1242/dev.201352>

World Health organization. (2020). Estimated number of new cases in 2020, world, both sexes, all ages. Cancer Today website: <https://gco.iarc.fr/today/online-analysis-table>

World Health organization. (14 March 2023). Oral Health. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/oral-health>

Zhan, T., Rindtorff, N., & Boutros, M. (2017). Wnt signaling in cancer. *Oncogene*, 36(11), 1461-1473. <https://doi.org/10.1038/onc.2016.304>

9. ANEXOS Y APÉNDICES

ANEXO 1.



**Agencia
Nacional de
Investigación
y Desarrollo**

Ministerio de Ciencia,
Tecnología, Conocimiento
e Innovación

ANID/Subdirección de Proyectos/N°60

Santiago, 28 de Enero del 2022
Ref.: Proyecto N° 11221000

Señora
MONTSERRAT DE LOS ANGELES REYES ROJAS

Estimada señora REYES:

En nombre de la Agencia Nacional de Investigación y Desarrollo, me dirijo a usted para informar que ha sido aprobado su proyecto N°11221000, postulado al Concurso FONDECYT de Iniciación en Investigación 2022.

En la presente convocatoria, concursaron 1.289 proyectos, de los cuales 398 (30,8 %) fueron adjudicados. Su proyecto fue revisado en el Grupo de Evaluación de MEDICINA G1 - CS. BIOMÉDICAS, donde obtuvo el lugar N° 2 y un puntaje de 4,625. En este Grupo concursaron 38 propuestas, se adjudicaron 12 (31,6%) y la calificación del último proyecto financiado fue de 4,100 puntos.

A continuación de esta carta, se informan las calificaciones y comentarios que recibió el proyecto y adjunta un certificado que acredita su adjudicación. Asimismo, en el Sistema de Evaluación en Línea, podrá acceder:

- a) Al presupuesto aprobado para cada año de ejecución. Recuerde que puede redistribuir los fondos anualmente, si lo estima pertinente.
- b) Al Informe Autorizaciones-Certificaciones donde se indica los documentos que deberá presentar al inicio del proyecto, si corresponde.
- c) A comunicar si acepta o rechaza la adjudicación del proyecto (botón "Decisión de Ejecutar"). Esto último, en un plazo máximo de 10 días hábiles administrativos, a partir de la fecha de esta carta. Si no le es posible realizar esta acción en el sistema, agradeceremos nos informe su decisión a través de Ayuda ANID (<https://ayuda.anid.cl/hc/es>). Tenga presente que, de no comunicar la aceptación en el plazo antes indicado, perderá sus derechos en este concurso y se dejará sin efecto la adjudicación.

Respecto al proceso de Firma de Convenio y Transferencia de recursos, revise el instructivo correspondiente, disponible en [InstructivoFirmaConvenioIniciacion2022.pdf](#). En caso de consultas, solicitamos realizarlas a través del Centro de Ayuda IRs (<https://fondecyt.anid.cl>).

En la página web de ANID, Subdirección de Proyectos de Investigación, encontrará información respecto al proceso de evaluación del Concurso.

Desde ya reciba nuestras felicitaciones por este importante logro en su carrera científica.

Saluda atentamente a Ud.,

ALEJANDRA VIDALES CARMONA
Subdirectora
Subdirección de Proyectos de Investigación
Agencia Nacional de Investigación y Desarrollo



UNIVERSIDAD DE CHILE - FACULTAD DE MEDICINA
COMITÉ DE ÉTICA DE INVESTIGACIÓN EN SERES HUMANOS

ACTA DE APROBACIÓN DE PROYECTO

(Documento en versión 3.1 corregido 17.11.2020)

Con fecha 22 de marzo de 2022, el Comité de Ética de Investigación en Seres Humanos de la Facultad de Medicina, Universidad de Chile, integrado por los siguientes miembros:

Dr. Manuel Oyarzún G., Médico Neumólogo, Profesor Titular, Presidente
 Dra. Lucia Cifuentes O., Médico Genetista, Profesor Titular, Vicepresidente Subrogante
 Sra. Claudia Marshall F., Educadora, Representante de la comunidad
 Dra. Grisel Orellana V., Médico Neuropsiquiatra, Profesor Asociado
 Prof. Julieta González B., Bióloga Celular, Profesor Asociado
 Dra. María Angela Delucchi B., Médico Pediatra Nefrólogo, Profesor Titular
 Dr. Miguel O’Ryan G., Médico Infectólogo, Profesor Titular
 Dra. María Luz Bascuñán R., Psicóloga PhD, Profesor Asociado
 Sra. Karima Yarmuch G., Abogada, Dirección Jurídica, Facultad de Medicina
 Srta. Javiera Cobo R., Nutricionista, Secretaria Ejecutiva
 Prof. Verónica Aliaga C., Kinesióloga, Magíster en Bioética, Profesor Asociado
 Dr. Dante Cáceres L., Médico Veterinario, Doctor en Salud Pública, Profesor Asociado

Ha revisado el Proyecto de Investigación titulado: **“ROLE OF PORCN IN TOBACCO SMOKE-INDUCED ORAL CARCINOGENESIS: A NOVEL THERAPEUTIC APPROACH TO PREVENT MALIGNANT TRANSFORMATION OF ORAL KERATINOCYTES”**. Cuyo investigador responsable es la Dra. Montserrat Reyes, quien desarrolla labores en el Departamento de Patología y Medicina Oral, Facultad de Odontología, Universidad de Chile.

El Comité revisó los siguientes documentos del estudio:

- Proyecto Concursable FONDECYT de Iniciación N°11221000
- Curriculum Vitae de los investigadores
- Consentimiento Informado
- Carta de autorización del Establecimiento:
 1. Dr. Vladimir Pizarro Díaz, Director Clínica Odontológica, Universidad de Chile
- Carta Compromiso del investigador

El proyecto y los documentos señalados en el párrafo precedente han sido analizados a la luz de los postulados de la Declaración de Helsinki, de las Pautas Éticas Internacionales para la Investigación Biomédica en Seres Humanos CIOMS 2016, y de las Guías de Buena Práctica Clínica de ICH 1996.

22|MAR|2022



Teléfono: 29789536 - Email: ceish.med@uchile.cl