

## ÍNDICE GENERAL

INFORME DE APROBACIÓN DE TESIS DE MAGÍSTER Y TÍTULO DE BIOQUÍMICO.....	I
DEDICATORIA.....	II
AGRADECIMIENTOS.....	III
ÍNDICE GENERAL.....	V
ÍNDICE DE FIGURAS.....	VIII
ÍNDICE DE TABLAS.....	IX
BECAS Y FINANCIAMIENTO.....	X
ABREVIATURAS.....	XI
RESUMEN.....	XIV
ABSTRACT.....	XV
<b>I. INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>1</b>
1. Cáncer, una de las enfermedades con mayor incidencia a nivel mundial.....	1
2. Carcinoma Basocelular Cutáneo (BCC), uno de los cánceres más comunes en la población caucásica.....	2
3. Sonic Hedgehog, un factor involucrado en tumorigénesis.....	9
4. Neo1, un receptor de dependencia blanco de la vía de Shh/Gli.....	17
5. Neo1 y su expresión en neoplasia.....	20
6. Neo1, un potencial blanco terapéutico en Carcinoma Basocelular.....	22
<b>II. HIPOTESIS.....</b>	<b>25</b>
<b>III. OBJETIVOS.....</b>	<b>25</b>
1. OBJETIVO GENERAL.....	25
2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	25
<b>IV. MATERIALES Y MÉTODOS.....</b>	<b>26</b>
1. Obtención de Muestras.....	26
a) Humanas.....	26
i. Sanas.....	26

ii. Patológicas.....	26
b) Murinas.....	27
2. Cultivo.....	27
a) Tratamiento con ciclopamina.....	29
3. Extracción de RNA y síntesis de cDNA.....	29
4. Extracción de DNA y Genotipificación.....	30
5. PCR cuantitativo.....	30
6. Histología.....	33
7. Inmunotinción.....	33
a) IHQ.....	34
b) IF.....	34
8. Microscopía y análisis de imágenes.....	35
9. Análisis estadístico.....	35
<b>V. RESULTADOS.....</b>	<b>37</b>
1. Evaluación de la expresión de NEO1 y sus ligandos en muestras de piel de pacientes con BCC que poseen sobre activación de la vía SHH/GLI.....	37
a) <i>NEO1</i> , sus ligandos y reporteros de la vía SHH/GLI se expresan en piel sana humana.....	37
b) <i>NEO1</i> aumenta en BCC.....	39
c) Los ligandos de NEO1 se expresan en BCC y sus niveles de mRNA se correlacionan con los de <i>NEO1</i> .....	41
d) Niveles de mRNA de <i>NEO1</i> y ligandos se correlacionan con actividad de la vía SHH/GLI.....	46
2. Evaluación de la relación entre NEO1 y la proliferación y/o agresividad tumoral en BCC.....	50
a) Niveles de mRNA de <i>NEO1</i> se asocian con agresividad tumoral.....	50
b) La distribución celular de NEO1 en BCC varía con el subtipo histomorfológico.....	52

3. Evaluación de los niveles de NEO1 en la progresión tumoral de BCC murino SHH dependiente.....	55
a) Ratones <i>K14:Ptch1lox/lox</i> generan BCC de tipo agresivo.....	55
b) El mRNA de <i>Neol</i> y sus ligandos se detecta en piel sana de ratón.....	57
c) Los niveles de mRNA de <i>Neol</i> disminuyen en la progresión de BCC murino....	57
<b>VI.DISCUSIÓN.....</b>	<b>64</b>
1. NEO1, un conocido receptor de guía axonal, se expresa en piel humana.....	65
2. GLI1, reportero clásico de la vía SHH/GLI, varía en BCC.....	68
3. NEO1 se comporta como un receptor de dependencia en BCC.....	71
4. NEO1 como efector de la vía SHH/GLI.....	75
5. Diferencias en los niveles de NEO1 tienen relación con agresividad tumoral....	76
6. NEO1 y SHH/GLI son importantes en el surgimiento tumoral y disminuyen con la progresión.....	81
<b>VII. CONCLUSIONES.....</b>	<b>85</b>
<b>VIII. BIBLIOGRAFÍA.....</b>	<b>86</b>
<b>IX. ANEXOS.....</b>	<b>92</b>
1. Documentos.....	92
a) Consentimiento Informado para la obtención de muestras sanas en el Hospital Clínico de la Universidad de Chile.....	92
b) Consentimiento Informado para la obtención de muestras patológicas en el Hospital Clínico de la Universidad de Chile.....	95
c) Consentimiento Informado para la obtención de muestras en la Fundación Arturo López Pérez.....	98
2. Figuras.....	100

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Epidermis y cáncer de piel.....	4
Figura 2. Principales subtipos de BCC.....	6
Figura 3. Vías transduccionales de la señalización de Hedgehog.....	11
Figura 4. Deleción condicional de <i>Ptch1</i> en células basales genera BCC.....	16
Figura 5. Estructura de Neogenina-1 y sus ligandos.....	18
Figura 6. Modelo propuesto del rol de NEO1 en BCC.....	24
Figura 7. Genotipificación de los ratones utilizados para obtención de muestras de piel.....	28
Figura 8. El mRNA de <i>NEO1</i> se detecta en piel sana humana .....	38
Figura 9. BCC presenta activación de la vía SHH/GLI.....	40
Figura 10. NEO1 aumenta en nódulos de BCC.....	42
Figura 11. Los niveles de mRNA de <i>NEO1</i> se correlacionan con los niveles de sus ligandos <i>NTN1</i> y <i>RGMA</i> en BCC. ....	44
Figura 12. Tanto NEO1 como sus ligandos se encuentran en los nódulos tumorales del BCC.....	45
Figura 13. Niveles de mRNA de <i>NEO1</i> y ligandos se correlacionan con los niveles de <i>GLI1</i> .....	47
Figura 14. La inhibición de la vía SHH/GLI <i>ex vivo</i> permite modular los niveles de mRNA de <i>NEO1</i> y ligandos.....	49
Figura 15. Los niveles de mRNA de <i>NEO1</i> varían entre BCC indolente y agresivo....	51
Figura 16. NEO1 varía su patrón de distribución en los subtipos de BCC.....	53
Figura 17. Modelo <i>K14-Cre:Ptch1<sup>lox/lox</sup></i> genera BCC de tipo micronodular que progresa con la edad del ratón.....	56
Figura 18. El mRNA de <i>Neol</i> y sus ligandos se detecta en piel control murina.....	58
Figura 19. La vía SHH/GLI se encuentra sobre-activada en BCC murino.....	60
Figura 20. Los niveles de <i>Neo1</i> disminuyen con la progresión tumoral.....	60
Figura 21. Los niveles de mRNA de <i>Rgma</i> disminuyen con la progresión tumoral en correlación con los niveles de <i>Neo1</i> .....	62

Figura 22. Neol se localiza en las células basales de la piel de ratón y disminuye cambiando su distribución celular en BCC.....	63
Figura A1. No existen variaciones significativas en los niveles de mRNA acorde al origen de la muestra control.....	100
Figura A2. No existen diferencias significativas los niveles de mRNA entre hombres y mujeres.....	101
Figura A3. Niveles de ligandos Rgm se correlacionan con los niveles de Neol en piel sana de ratón.....	102
Figura A4. Los niveles de mRNA de <i>Ntn1</i> , <i>Ntn4</i> , <i>Rgmb</i> varían durante el ciclo folicular.....	103
Figura A5. Los niveles de mRNA de los ligandos de <i>Neol</i> se correlaciona con los niveles de <i>Gli1</i> en ratones <i>K14-Cre:Ptch1<sup>lox/lox</sup></i> .....	104
Figura A6. Correlación entre niveles de mRNA de Neol y sus ligandos.....	105
Figura A7. Los ligandos de NEO1, NTN1 y RGMA se encuentran en las células basales de la epidermis.....	106

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Subtipos morfohistológicos de las muestras BCC.....	28
Tabla 2. Partidores utilizados para la amplificación por PCR cuantitativo de cDNA humano.....	32
Tabla 3. Sondas Taqman utilizadas para la amplificación de cDNA murino.....	32