



**UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE ODONTOLÓGÍA
DEPARTAMENTO DE PATOLOGÍA Y MEDICINA ORAL**

**REVISIÓN: ESTRATEGIAS TERAPÉUTICAS DIRIGIDAS CONTRA LOS
COMPONENTES DE LA VÍA DE SEÑALIZACIÓN WNT/ β -CATENINA EN
DISPLASIA EPITELIAL ORAL Y CARCINOMA ORAL DE CÉLULAS
ESCAMOSAS**

Daniela Alejandra Ibazeta Serei

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

TUTOR PRINCIPAL

Dra. Montserrat Reyes Rojas

**Adscrito a Proyecto U-Inicia UI-024/19
Santiago - Chile
2021**



**UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE ODONTOLÓGÍA
DEPARTAMENTO DE PATOLOGÍA Y MEDICINA ORAL**

**REVISIÓN: ESTRATEGIAS TERAPÉUTICAS DIRIGIDAS CONTRA LOS
COMPONENTES DE LA VÍA DE SEÑALIZACIÓN WNT/ β -CATENINA EN
DISPLASIA EPITELIAL ORAL Y CARCINOMA ORAL DE CÉLULAS
ESCAMOSAS**

Daniela Alejandra Ibazeta Serei

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

TUTOR PRINCIPAL

Dra. Montserrat Reyes Rojas

**Adscrito a Proyecto U-Inicia UI-024/19
Santiago - Chile
2021**

Dedicatoria:

*Con mucho cariño y felicidad
quiero dedicar este trabajo a mi familia; que siempre creyó en mí,
en especial a mis primeros y mejores pacientes; mis padres.*

*A mi compañero de vida; Mario,
que estuvo conmigo durante todo este largo proceso
y me entregó su apoyo y dulce paciencia siempre.*

AGRADECIMIENTOS

Le agradezco a Dios por permitirme estudiar esta hermosa carrera y a mi familia por apoyarme, por estar siempre a mi lado y por creer desde siempre en mí.

A Mario por su infinito e incondicional amor, por su paciencia y por su apoyo y buenas vibras que nunca faltaron y que siempre me ayudaron mucho.

A mi sugris y a mi cuñada por tenerme mucha paciencia en esta última etapa de escritura de tesis y siempre ayudarnos a Mario y a mí con mucho amor.

A Montserrat, mi tutora de tesis que con mucha paciencia, cariño y bondad me ayudó a terminar este ciclo siempre con una palabra de aliento y con un afecto que hizo esta última etapa muy amena.

También agradezco al Proyecto U-Inicia UI-024/19, que me permitió investigar sobre este tema tan importante que es el cáncer oral y hacer posible el escribir mi tesis para obtener mi tan anhelado título profesional.

ÍNDICE

RESUMEN.....	1
1) MARCO TEÓRICO	2
1.1 CÁNCER ORAL.....	2
1.2 DISPLASIA EPITELIAL ORAL.....	3
1.3 VÍA DE SEÑALIZACIÓN WNT/ β -CATENINA.....	4
1.3.1 Ligandos Wnt	4
1.3.2 Activación de la vía Wnt/ β -catenina.....	5
1.3.3 β -catenina en el núcleo	5
1.3.4 Inhibidores Wnt	6
1.4 SEÑALIZACIÓN DE WNT EN CARCINOGENESIS	7
1.4.1 Vía Wnt y células madre cancerosas.....	7
1.4.2 Vía Wnt y transición epitelio-mesénquima.....	8
1.4.3 Vía Wnt y carcinogénesis oral	8
1.5 ESTRATEGIAS TERAPÉUTICAS ACTUALES PARA LA DISPLASIA ORAL Y EL COCE.....	9
1.6 ARGUMENTACIÓN DEL PROBLEMA	9
2) PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN	10
3) OBJETIVO GENERAL.....	10
4) METODOLOGÍA.....	11
4.1 TIPO DE ESTUDIO	11
4.2 CRITERIOS DE SELECCIÓN	11
4.3 FUENTES DE INFORMACIÓN Y ESTRATEGIA DE BÚSQUEDA.....	12
4.4 SELECCIÓN DE LOS ESTUDIOS	13
5) RESULTADOS	13
5.1 CARACTERÍSTICAS DE LOS ARTÍCULOS	14
5.2 ESTRATEGIA TERAPÉUTICA CONTRA LA VÍA WNT/ β -CATENINA: INHIBICIÓN O SOBREENPRESIÓN DE MOLÉCULAS.....	16
5.2.1 Estrategia terapéutica contra la vía de señalización Wnt/ β -catenina: inhibición o sobreexpresión de miARN o lncARN	16
5.2.2 Estrategia terapéutica contra la vía de señalización Wnt/ β -catenina: inhibición o sobreexpresión de proteínas de la vía de señalización Wnt/ β -catenina	20
5.2.3 Estrategia terapéutica contra la vía de señalización Wnt/ β -catenina: inhibición o sobreexpresión de proteínas relacionadas a la vía Wnt.....	21

5.3 ESTRATEGIA TERAPÉUTICA CONTRA COMPONENTES DE LA VÍA WNT/β-CATENINA UTILIZANDO FÁRMACOS	24
5.4 ESTRATEGIA TERAPÉUTICA CONTRA LA VÍA WNT/β-CATENINA: INHIBICIÓN DE MOLÉCULAS PEQUEÑAS RELACIONADAS CON WNT.....	26
6) DISCUSIÓN	30
7) CONCLUSIONES.....	39
8) REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	41
9) ANEXOS Y APENDICES.....	54

RESUMEN

Introducción: El carcinoma oral de células escamosas (COCE) es el cáncer más frecuente de la cavidad oral, y su estado histopatológico previo corresponde a la displasia epitelial oral. Una de las vías de señalización involucrada en la progresión de la displasia oral hacia el COCE, es la vía de señalización Wnt/ β -catenina que está relacionada con las células madre cancerosas y la transición epitelio-mesénquima. Sin embargo, es poco lo que se conoce de esta vía en la carcinogénesis oral. Por lo tanto, el objetivo de esta revisión es recopilar la evidencia disponible sobre las diferentes estrategias terapéuticas dirigidas contra los componentes de la vía Wnt/ β -catenina para el posible tratamiento de la displasia oral y el COCE. **Metodología:** Se realizó una revisión sistemática cualitativa, que incluyó estudios realizados en displasia epitelial oral y COCE que evaluaron una estrategia terapéutica contra la vía Wnt/ β -catenina. **Resultados:** Se seleccionaron 28 artículos, un 92,8% estudiaron carcinoma oral y sólo un 7,2% displasia oral. Se identificaron tres grandes estrategias terapéuticas, la primera de ellas enfocada en inhibir o sobreexpresar moléculas; como los miARNs y lncARNs, proteínas de la vía Wnt/ β -catenina como FZD2 y Wnt3a, otras proteínas relacionadas como Twist1, CD200, c-Met, Rab5 y el eje Rspo-LGR4. La segunda estrategia terapéutica identificada fue el uso de fármacos que se dirigen contra componentes de la vía Wnt/ β -catenina en COCE como los agentes dirigidos a los microtúbulos (MTA), el crisofanol, la quercetina, la fenretinida, la nanoquinacrina y los oligonucleótidos antisentido en combinación con la salinomicina. Por último, la tercera estrategia terapéutica identificada consistió en el uso de inhibidores de moléculas pequeñas relacionadas con Wnt. **Conclusiones:** La estrategia de inhibir al gen de Porcupina es la estrategia terapéutica dirigida contra la vía Wnt/ β -catenina más avanzada en ensayos clínicos y con más opciones de convertirse en una terapia farmacológica para COCE, sin embargo, la amplia mayoría de las investigaciones se centran en el carcinoma oral, existiendo muy pocos estudios en displasia oral, en donde la vía Wnt/ β -catenina se encuentra más sobreactivada. Por lo tanto, futuras investigaciones en displasia oral podrían ser claves en la prevención de la progresión de la displasia oral hacia el COCE.

1) MARCO TEÓRICO

1.1 CÁNCER ORAL

El cáncer oral se caracteriza por ser una neoplasia maligna que afecta el labio y la cavidad bucal. En el año 2018, el cáncer oral presentó una incidencia de 354.864 casos, correspondiendo al 2% del total de casos de cáncer en el mundo. En cuanto a su tasa de mortalidad, la estimación mundial de muertes provocadas por el cáncer oral fue de 177.384 casos y más del 70% de estas muertes ocurrieron en Asia. Su incidencia se da preferentemente en hombres; se estima que en Sudamérica la incidencia en hombres es de 4,3 y en mujeres de 1,7 por cada 100.000 habitantes (Bray et al., 2018).

En Chile, los registros poblacionales de cáncer oral indican una incidencia en hombres de 3,2 por cada 100.000 hombres y en mujeres de 1,2 por cada 100.000 mujeres. Las tasas de mortalidad fluctúan entre 1,11 y 1,25 por 100.000 habitantes y la sobrevivida en nuestro país a los 5 años, según el Instituto Nacional del Cáncer, es de 56,9% y a los 10 años de 46,3%, lo que lo convierte en un importante problema de salud pública (Santelices et al., 2016).

La etiología del cáncer oral es multifactorial, el tabaco y el alcohol son dos de los factores de riesgo más importantes, incluso usados conjuntamente, ya que aumentan de una manera drástica el riesgo de padecer cáncer oral y faríngeo, debido a su efecto sinérgico. El consumo de nuez de betel o de areca, o hábitos tales como mascar tabaco y fumar invertido, son también factores muy importantes en la etiología del cáncer oral. Algunos virus, como virus de ADN (hepatitis B y C), Epstein-Barr o Virus Papiloma Humano (VPH) (genotipos 16 y 18), se engloban también dentro de la etiología. El aumento de edad, químicos en dieta, prótesis mal ajustadas, mala higiene oral o exposiciones a energías que producen daño directo a los genes como los rayos X, son también factores a tener en cuenta (Mateo-Sidrón Antón & Somacarrera Pérez, 2015).

Dentro de los carcinomas de células escamosas de cabeza y cuello (CCECC), el carcinoma oral de células escamosas (COCE) es la neoplasia maligna más común de la cavidad oral, correspondiendo a más del 90% del total de neoplasias malignas orales (García-Martín et al., 2019; Warnakulasuriya &

Greenspan, 2020). Por lo tanto, su diagnóstico temprano y tratamiento oportuno son esenciales para mejorar la supervivencia de los pacientes y reducir significativamente las tasas de mortalidad.

La mayoría de los COCE pueden estar precedidos por cambios clínicos visibles en la mucosa oral; los más comunes son la leucoplasia y eritroplasia; ambas lesiones son diagnósticos clínicos provisionales, ya que, requieren de un estudio histopatológico para su diagnóstico definitivo, que puede corresponder a hiperplasia epitelial, hiperqueratosis, displasia epitelial o incluso carcinoma (Warnakulasuriya et al., 2007).

1.2 DISPLASIA EPITELIAL ORAL

La displasia epitelial oral o displasia oral implica cambios citológicos y arquitecturales en el epitelio oral, que revelan una modificación en la maduración celular del epitelio y un aumento de la actividad proliferativa. En el año 2005 la Organización Mundial de la Salud (OMS) clasificó histológicamente la displasia oral según su grado de diferenciación en: leve, moderada y severa, y las características de cada una están íntimamente ligadas a los cambios en la arquitectura epitelial y presencia de atipias celulares, las cuales van aumentando en las capas del epitelio a medida que la displasia va progresando (Ereño Zárate, 2007).

Como se mencionó anteriormente, la displasia epitelial oral es un diagnóstico exclusivamente histopatológico, la cual puede ser diagnosticada en un grupo de trastornos orales potencialmente malignos, que clínicamente pueden manifestarse como leucoplasia oral, leucoplasia verrucosa proliferativa, eritroplasia, fibrosis submucosa oral, liquen plano oral, entre otros. Por lo tanto, las causas de displasia epitelial oral deben correlacionarse con cada entidad clínica. Dentro de sus factores de riesgo, al igual que en COCE, se describen principalmente el consumo de tabaco y alcohol, se ha asociado también a microorganismos como el VPH y el virus Epstein Barr, infecciones por Cándida, por *Treponema Pallidum*, exposición a luz ultravioleta, enfermedades mediadas inmunológicamente, alteraciones genéticas, inmunosupresión y deficiencias nutricionales. Además, estos factores de riesgo también contribuyen en el desarrollo del COCE, que puede ocurrir en lesiones preexistentes con displasia epitelial oral o *de novo* (Tilakaratne et al., 2019).

Las alteraciones moleculares implicadas en el desarrollo de la displasia oral y el COCE, no son totalmente comprendidas. Una de las vías de señalización involucrada en la progresión de la displasia oral hacia el COCE, es la vía de señalización Wnt/ β -catenina, la cual ha sido poco estudiada como posible estrategia terapéutica en el desarrollo de esta entidad potencialmente maligna.

1.3 VÍA DE SEÑALIZACIÓN WNT/ β -CATENINA

La vía de señalización de Wnt involucra genes altamente conservados cuyas proteínas cumplen importantes funciones biológicas, tales como; el crecimiento, la proliferación y la diferenciación celular. Se ha demostrado la activación aberrante de la vía de señalización de Wnt en varios cánceres humanos, incluidos colorrectal y carcinoma hepatocelular, entre otros (Giles et al., 2003). Por lo tanto, hay evidencia considerable de anomalías en la vía de señalización de Wnt en la tumorigénesis. Sin embargo, es poco lo que se conoce de esta vía en la carcinogénesis oral.

La vía Wnt/ β -catenina o vía Wnt canónica está regulada por los niveles intracelulares de su proteína principal β -catenina, la cual cumple un rol funcional al ser la molécula efectora de la activación de la señal Wnt, y un rol estructural al estar involucrada en la adhesión celular junto con E-cadherina.

1.3.1 Ligandos Wnt

Los ligandos o proteínas Wnt tienen como propiedad definitoria una posición casi invariante de 22 residuos de cisteína y son proteínas palmitoiladas, es decir, poseen una unión covalente de ácidos grasos que le confiere mayor hidrofobicidad, esta característica es fundamental para la señalización. Las enzimas que agregan palmitato a Wnt están codificadas por el gen de Porcupina (Porcn) (Willert & Nusse, 2012). Se ha demostrado que las mutaciones en Porcn anulan todas las señales de Wnt, dando como resultado durante el desarrollo embrionario una letalidad temprana en ratones (Barrott et al., 2011; Biechele et al., 2011).

1.3.2 Activación de la vía Wnt/ β -catenina

Los niveles de β -catenina citoplasmática normalmente se mantienen bajos, ya que en ausencia de señales Wnt, β -catenina es dirigida a degradación a través del proteasoma, mediante el marcaje y posterior fosforilación por medio de un complejo de destrucción multiproteico compuesto por las proteínas poliposis adenomatosa coli (APC), Axin, glucógeno sintasa quinasa 3 β (GSK-3 β) y caseína quinasa 1 α (CK1- α).

Al ser presentados en la superficie de las células, los ligandos Wnt, actúan sobre las células diana uniéndose a los receptores Frizzled (FZD), los cuales tienen una extensión amino terminal larga llamada CRD (dominio rico en cisteína). Las proteínas Wnt se unen directamente al CRD de FZD y al complejo de proteínas relacionadas (LRP) en la superficie celular. Posteriormente, los receptores se reorganizan, lo que lleva a la activación de β -catenina.

La recepción de una señal Wnt desencadena el reclutamiento de Axin ya sea en LRP o en Dishevelled (Dvl) unido a FZD, eliminando a Axin del complejo de destrucción para promover la estabilización de la β -catenina. La inhibición de la degradación de β -catenina causada por el ligando Wnt da como resultado la acumulación de esta proteína en el citoplasma y su posterior translocación al núcleo (Logan & Nusse, 2004).

1.3.3 β -catenina en el núcleo

En el núcleo, en ausencia de la señal Wnt, la familia de factores de transcripción de células T y el factor potenciador de linfoides (TCF/LEF) actúan como represores de los genes diana Wnt formando un complejo con el correpresor transcripcional Groucho.

Cuando β -catenina se transloca al núcleo actúa como transactivador. Inicia la transcripción génica al convertir el complejo represor en un complejo activador transcripcional mediante el desplazamiento de Groucho unido a TCF/LEF y el reclutamiento de la histona acetilasa CBP, la cual actúa como coactivador induciendo la transcripción de genes diana de la vía de señalización Wnt, que están asociados con el crecimiento y la proliferación celular como c-Myc, Cox-2, Survivina,

Ciclina D1, entre otros. Por lo tanto, una activación aberrante, puede conducir a un crecimiento celular descontrolado y a la formación de tumores (Logan & Nusse, 2004).

Los eventos de señalización de Wnt en el núcleo están controlados por una serie de proteínas asociadas. Por ejemplo, la proteína Chibby es un antagonista nuclear que se une al extremo C de la β -catenina impidiendo su unión a TCF/LEF (Takemaru et al., 2003). Otra proteína de unión a β -catenina, ICAT, no solo bloquea la unión de β -catenina a TCF (Tago et al., 2000) sino que también conduce a la disociación de complejos entre β -catenina, LEF y CBP (Daniels & Weis, 2002; Graham et al., 2002).

1.3.4 Inhibidores Wnt

Los Wnt secretados aparte de unirse a su receptor principal FZD para iniciar la señalización de Wnt, en condiciones fisiológicas normales, suelen unirse a miembros de la familia de proteínas secretadas relacionadas con Frizzled (SFRP) las cuales contienen un CRD homólogo al sitio putativo de unión a Wnt de las proteínas FZD y, se pueden unir también al factor inhibidor de Wnt (WIF). En general, se considera que tanto los SFRP como los WIF funcionan como inhibidores extracelulares de Wnt.

Existen otros receptores como las proteínas tirosina quinasas transmembrana Derailed/RYK que poseen un dominio de unión a Wnt similar a WIF a las cuales también se pueden unir los ligandos Wnt, pero no han sido ampliamente estudiados.

Los inhibidores de señalización de Wnt secretados mejor caracterizados son las proteínas Dickkopf (Dkk). Se unen a LRP con alta afinidad y a otra clase de moléculas transmembrana, las Kremens. Al formar un complejo con LRP y Kremen, Dkk promueve la internalización del co-receptor LRP, por lo cual no puede unirse al ligando Wnt, y por lo tanto, se inhibe la activación de la señalización de Wnt/ β -catenina. La mayoría de los inhibidores de Wnt se encuentran mutados en diferentes tipos de neoplasias (Logan & Nusse, 2004).

1.4 SEÑALIZACIÓN DE WNT EN CARCINOGENESIS

La actividad desregulada de la vía de señalización Wnt/ β -catenina se ha asociado con diversos tipos de cánceres (Nusse & Clevers, 2017). Los CCECC, donde está incluido el COCE, han sido agregados a la lista de tumores afectados por la vía de señalización Wnt/ β -catenina; gracias a la creciente evidencia de modelos celulares y animales junto con la caracterización genómica de este tipo de patologías (Network, 2015)(Castilho & Gutkind, 2014).

1.4.1 Vía Wnt y células madre cancerosas

Al igual que otros tejidos cancerosos, el tejido de CCECC contiene subconjuntos de células madre cancerosas (CMC). Las CMC representan un subconjunto único de células dentro de un tumor que poseen capacidad de autorrenovación y pluripotencia, y pueden impulsar la iniciación y el mantenimiento del tumor (Nassar & Blanpain, 2016).

A diferencia de las células madre normales, las CMC poseen la capacidad de autorrenovación ilimitada a través de la división celular simétrica, la capacidad de dar lugar a células progenitoras a través de la división asimétrica y también una resistencia innata a las terapias citotóxicas (Nassar & Blanpain, 2016). Mientras que el proceso de diferenciación iniciado por una célula madre normal finalmente da como resultado una progenie especializada sin potencial proliferativo, una CMC da lugar a una progenie que no experimenta diferenciación terminal sino que exhibe una proliferación incontrolada (Curtin et al., 2010).

Las CMC a menudo muestran la activación continua de una o más vías de señalización altamente conservadas relacionadas con el desarrollo y la homeostasis tisular (Takebe et al., 2010), y dentro de estas vías desreguladas se encuentra la vía Wnt/ β -catenina que está involucrada en la regulación de la autorrenovación y la diferenciación de las CMC (An et al., 2014), por lo que dirigirse a esta vía de señalización en COCE podría ser un enfoque eficaz para su tratamiento.

1.4.2 Vía Wnt y transición epitelio-mesénquima

La inducción de la transición epitelio-mesénquima (TEM) desempeña un papel importante en la expresión de células con propiedades similares a las de las células madre (Zheng et al., 2021).

La TEM juega un papel esencial en el desarrollo del mesodermo del epitelio durante la embriogénesis. Además de ser un mecanismo fisiológico para el desarrollo, la TEM también se reconoce como un mecanismo patológico en la progresión de diversas enfermedades, incluidas la inflamación, la fibrosis y el cáncer (Thiery & Sleeman, 2006).

Durante la TEM, a medida que las células epiteliales se convierten en células con atributos mesenquimales, experimentan cambios fenotípicos dramáticos, lo que lleva colectivamente a una mayor movilidad celular e invasividad (Thiery & Sleeman, 2006). Por lo tanto, la TEM está estrechamente asociada con la adquisición de rasgos agresivos por las células cancerígenas y se considera fundamental en el proceso de metástasis, recaídas y quimioresistencia (Zheng et al., 2021).

Se ha demostrado que la vía Wnt induce y mantiene estados mesenquimales en CMC de cáncer de mama (Scheel et al., 2011). En modelos animales experimentales se observó que diversos genes diana de la vía Wnt/ β -catenina durante la TEM definen las CMC y predicen la recaída de la enfermedad (Chang et al., 2015). Por lo que inhibir esta vía de señalización, además de dirigirse a las CMC, podría afectar el proceso de TEM obteniendo así resultados esperanzadores.

1.4.3 Vía Wnt y carcinogénesis oral

Considerando que actualmente no existe un marcador único o conjunto de marcadores que puedan utilizarse de manera confiable para predecir la transformación maligna de la displasia oral hacia el COCE, Reyes et al. (Reyes et al., 2015), estudiaron la expresión nuclear de β -catenina en la displasia oral, demostrando que existe presencia de β -catenina nuclear en lesiones con displasia oral moderada y severa en un 100% de las muestras evaluadas. Además, se demostró por primera vez que la acumulación nuclear de β -catenina total y no fosforilada (o transcripcionalmente activa) implica la secreción del ligando Wnt3a en

queratinocitos displásicos orales, lo cual se correlacionó con el grado histológico de las displasias orales, concluyendo que la presencia de β -catenina nuclear y la expresión de genes target como la Survivina y la Ciclina D1, se deben a la activación de la vía de señalización Wnt/ β -catenina mediante Wnt3a, y que, los componentes de la vía de señalización Wnt/ β -catenina, son candidatos factibles para ser explorados como posibles dianas terapéuticas en lesiones de displasia epitelial oral para prevenir la progresión de estas lesiones potencialmente malignas (Reyes et al., 2019).

1.5 ESTRATEGIAS TERAPÉUTICAS ACTUALES PARA LA DISPLASIA ORAL Y EL COCE

Actualmente el tratamiento de lesiones potencialmente malignas con diagnóstico histopatológico de displasia oral depende principalmente del grado de displasia; pacientes con lesiones que presentan displasia leve se controlan cada 6 meses, esperando que puedan revertir si el factor de irritación se elimina (por ejemplo el tabaco), sin embargo, esta decisión depende del clínico, el cual puede extraer la lesión para un mejor tratamiento. Al contrario, aquellas lesiones que presentan displasia de tipo moderada o severa deben ser extirpadas siempre que sea posible. Por otro lado, el tratamiento para el COCE va a depender principalmente del grado de compromiso y la presencia de metástasis, pero en forma general se debe intentar preservar la máxima estructura sana posible. Tanto la cirugía como la radioterapia, siguen siendo el *Gold Standard* para el tratamiento de los tumores de labio y cavidad oral, ya sea usados por separado, o en combinación con quimioterapia en estadios avanzados (Mateo-Sidrón Antón & Somacarrera Pérez, 2015).

1.6 ARGUMENTACIÓN DEL PROBLEMA

Si bien existen diferentes tratamientos convencionales para tratar el COCE, que incluyen cirugía, radioterapia y quimioterapia, esta última suele no ser tan efectiva en cánceres orales metastásicos los cuales a menudo tienen presencia de CMC (Curtin et al., 2010). Por otro lado, hasta el momento no existen tratamientos

de quimioprevención en lesiones con displasia oral que pueden progresar hacia el COCE.

Durante las últimas décadas se ha estado investigando una opción de tratamiento más específico dirigido contra los componentes de la vía de señalización Wnt/ β -catenina en distintos tipos de cánceres provocados por la activación aberrante de Wnt (Nusse & Clevers, 2017). Por lo tanto, el objetivo de esta revisión es resumir la evidencia disponible sobre diferentes estrategias terapéuticas dirigidas contra los componentes de la vía de señalización Wnt/ β -catenina para el posible tratamiento de la displasia oral y el COCE. Contar con esta información permitirá conocer el escenario actual de las investigaciones enfocadas en la búsqueda de posibles estrategias terapéuticas dirigidas contra los componentes de la vía Wnt/ β -catenina en displasia epitelial oral y COCE y, también, permitirá dirigir las futuras investigaciones relacionadas con el área para la creación de posibles fármacos quimiopreventivos que permitan idealmente tratar a los pacientes en el estadio previo a COCE que es la displasia epitelial oral.

2) PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿Cuáles son las estrategias terapéuticas reportadas en la literatura que se dirigen contra los componentes de la vía de señalización Wnt/ β -catenina en displasia epitelial oral y carcinoma oral de células escamosas?

3) OBJETIVO GENERAL

Revisar y sintetizar las investigaciones realizadas entre los años 2009 y 2021 sobre estrategias terapéuticas dirigidas contra componentes de la vía de señalización Wnt/ β -catenina, que permitan una disminución en su actividad o su inhibición, estudiados en displasia oral y COCE, para el posible tratamiento de pacientes con estas patologías.

4) METODOLOGÍA

4.1 TIPO DE ESTUDIO

Se realizó una revisión sistemática cualitativa guiada según la pauta PRISMA (Moher et al., 2009). (Ver anexo 1).

4.2 CRITERIOS DE SELECCIÓN

Criterios de inclusión:

- Investigaciones originales.
- Publicaciones en idioma inglés y español.
- Investigaciones publicadas entre los años 2009 y 2021.
- Estudios realizados en displasia epitelial oral y COCE.
- Estudios que evaluaron molecularmente una estrategia terapéutica que inhiba o altere a la vía Wnt/ β -catenina; pudiendo evaluar ligandos, receptores, el complejo de destrucción, β -catenina, inhibidores de la vía Wnt o moléculas que puedan estar relacionadas con su activación y/o funcionamiento.
- Los componentes evaluados fueron posibles estrategias terapéuticas, es decir, debían ser una posible diana terapéutica que contribuya a la quimioprevención de displasia epitelial oral o COCE.

Criterios de exclusión:

- Revisiones o metaanálisis previos.
- Publicaciones que no estuvieran en idioma inglés o español.
- Investigaciones publicadas antes del año 2009.
- Estudios que no evaluaron específicamente a la vía Wnt/ β -catenina.
- Estudios que evaluaron otro tipo de neoplasias.
- Estudios que postularon marcadores pronósticos o de supervivencia que no pueden ser utilizados como dianas terapéuticas.
- Estudios que evaluaron radio o quimioresistencia.

4.3 FUENTES DE INFORMACIÓN Y ESTRATEGIA DE BÚSQUEDA

Se realizó una búsqueda exhaustiva de la literatura en las siguientes bases de datos: Medline / PubMed y Biblioteca Digital de la Universidad de Chile, la última búsqueda se realizó el 30/06/2021. La estrategia de búsqueda estuvo compuesta de vocabulario controlado (Medical Subject Headings [MeSH]) y lenguaje libre, la sintaxis se complementó utilizando operadores booleanos; OR para términos relacionados, AND para conceptos diferentes y NOT para excluir conceptos de otros tipos de cánceres. La estrategia de búsqueda junto con los artículos identificados se presenta en la tabla 1.

Estrategia de búsqueda	Artículos identificados	
	PubMed	Biblioteca Digital de la Universidad de Chile
("Mouth Neoplasms"[MeSH Terms] OR "Carcinoma, Squamous Cell"[MeSH Terms] OR "Squamous Cell Carcinoma of Head and Neck"[MeSH Terms] OR "Cancer of Mouth" OR "Oral Cancer" OR "Squamous Cell Carcinoma of Head and Neck" OR "Oral Squamous Cell Carcinoma" OR "Precancerous Conditions"[Mesh Terms] OR "Leukoplakia, Oral"[Mesh Terms] OR "Oral Dysplasia" OR "Oral Potentially Malignant Disorders" OR "Oral Precancerous Conditions" OR "Oral Leukoplakia") AND ("Wnt Signaling Pathway"[MeSH Terms] OR "WNT" OR "Wnt Signaling" OR "WNT/beta catenin") NOT ("esophageal" OR "oropharyngeal" OR "laryngeal" OR "colorectal" OR "gastric" OR "bladder" OR "melanoma" OR "glioblastoma" OR "breast" OR "thymoma" OR "hepatocellular" OR "ovarian" OR "lung" OR "Leukemia")	349	63
("Dysplasia" OR "Oral Potentially Malignant Disorders") AND ("Cancer of Mouth" OR "Oral Cancer" OR "Squamous Cell Carcinoma of Head and Neck" OR "Oral Squamous Cell Carcinoma ") AND ("WNT" OR "Wnt Signaling" OR "WNT/beta catenin") NOT ("esophageal" OR "oropharyngeal" OR "laryngeal" OR "colorectal" OR "gastric" OR "hepatocellular" OR "ovarian" OR "lung")	15	16
("Precancerous Conditions"[Mesh Terms] OR "Leukoplakia, Oral"[Mesh Terms] OR "Oral Dysplasia" OR "Oral Potentially Malignant Disorders" OR "Oral Precancerous Conditions" OR "Oral Leukoplakia") AND ("Wnt Signaling Pathway"[MeSH Terms] OR "WNT" OR "Wnt Signaling" OR "WNT/beta catenin") NOT ("esophageal" OR "oropharyngeal" OR "laryngeal" OR "colorectal" OR "gastric" OR "hepatocellular" OR "ovarian" OR "lung")	50	12

Tabla 1. Estrategia de búsqueda de artículos.

4.4 SELECCIÓN DE LOS ESTUDIOS

Para ser seleccionados los artículos debían incluir, en el título, el tipo de patología en la que se estaba investigando; pudiendo ser: cáncer de cabeza y cuello, carcinoma oral de células escamosas, displasia epitelial o lesiones potencialmente malignas, luego de hacer este filtro por título se procedió a la lectura del resumen de cada artículo, el resumen debía indicar que se evaluaba a los componentes de la vía Wnt/ β -catenina. Finalmente se examinó rigurosamente el texto completo el que debía explicitar un posible blanco terapéutico que permitiera la inactivación o alteración de la vía de señalización Wnt/ β -catenina, para prevención y/o tratamiento de COCE y displasia epitelial oral.

Para la extracción y organización de los datos de los artículos seleccionados se utilizó el programa Excel® de Microsoft Office.

5) RESULTADOS

Fueron identificados un total de 505 registros en las 2 bases de datos utilizadas, además se añadieron 2 artículos que fueron identificados en otras fuentes al revisar las citas de los artículos más concordantes con el objetivo de este estudio.

Se removieron 109 registros que estaban duplicados. Posteriormente se analizaron los artículos y se filtraron según su título, resumen y criterios de elegibilidad.

Finalmente 28 artículos fueron seleccionados para la inclusión y análisis en esta revisión. El diagrama de flujo de la selección de los artículos se encuentra en la Figura 1.

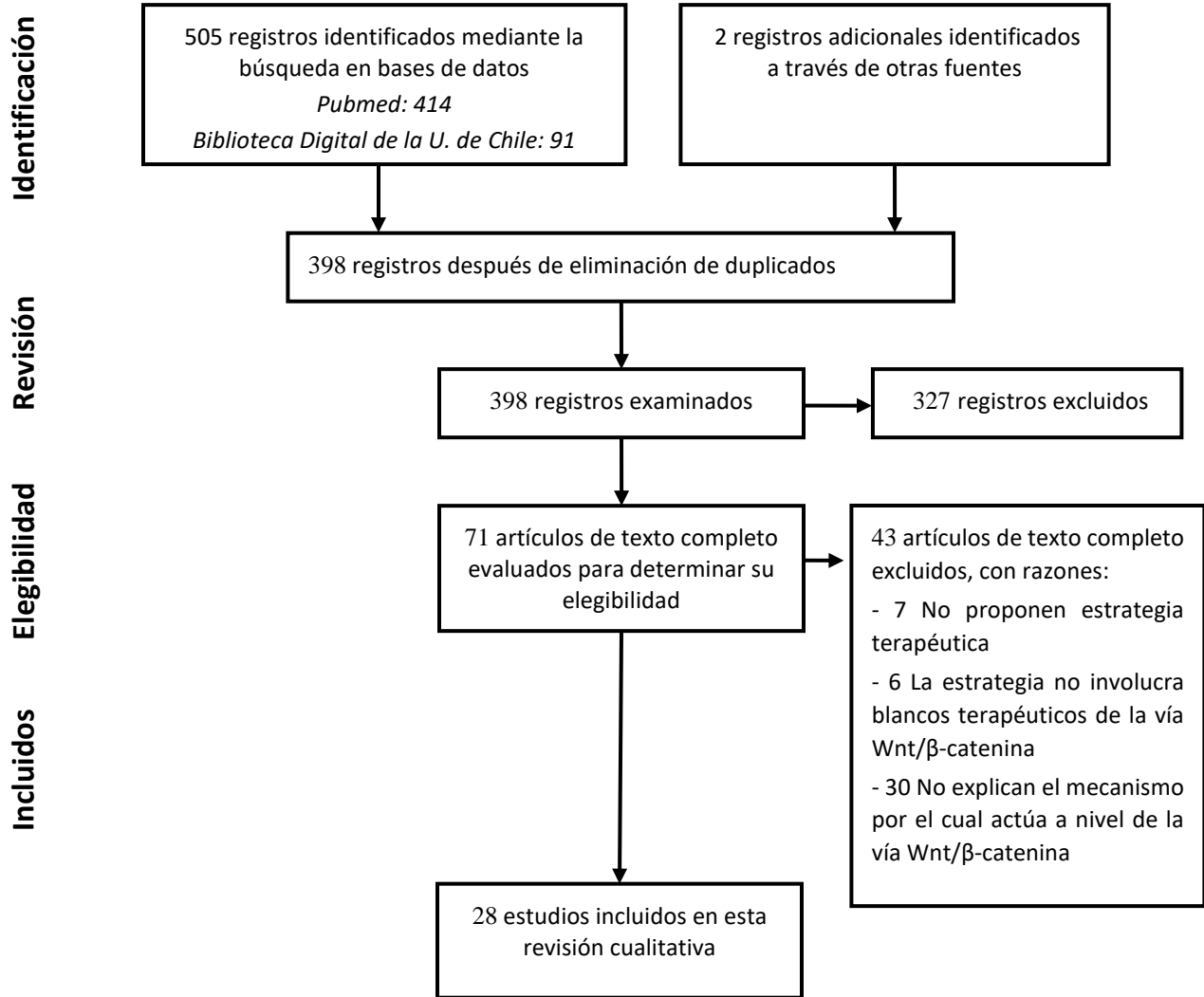


Figura 1. Diagrama de flujo de selección de artículos.

5.1 CARACTERÍSTICAS DE LOS ARTÍCULOS

Los 28 artículos seleccionados se resumen en la tabla 2. El rango de años de publicación fluctúa entre el año 2013 y 2021 y el idioma de su publicación fue inglés. 19 estudios son de origen asiático -siendo 12 de estos de origen chino-, 1 de Polonia, 6 de Estados Unidos y sólo 2 son de origen chileno.

En cuanto al tipo de patología evaluada 11 estudiaron COCE, 9 CCECC, 6 realizaron análisis en COCE de lengua (COCE-L) y sólo 2 evaluaron alguna estrategia terapéutica enfocada en la vía Wnt/ β -catenina en displasia epitelial oral.

Por otra parte, 18 de los artículos seleccionados presentaban como estrategia terapéutica bloquear o sobreexpresar una molécula específica para disminuir la actividad de la vía Wnt/ β -catenina y los otros 10 dieron a conocer la evaluación de un fármaco o inhibidor cuya acción afectaba a componentes de la vía Wnt/ β -catenina alterando su expresión.

n	AÑO	AUTORES	TÍTULO	PAÍS	PATOLOGÍA
1	2021	Cui et al.	Wnt/ β -catenin signaling pathway participates in the effect of miR-626 on oral squamous cell carcinoma by targeting RASSF4.	China	COCE
2	2021	Kumari et al.	Microtubule-targeting agents impair kinesin-2-dependent nuclear transport of β -catenin: Evidence of inhibition of Wnt/ β -catenin signaling as an important antitumor mechanism of microtubule-targeting agents.	India	COCE-L
3	2020	Wei et al.	miR-223 regulates oral squamous cell carcinoma metastasis through the Wnt/ β -catenin signaling pathway.	China	COCE
4	2020	Ai et al.	LINC00941 promotes oral squamous cell carcinoma progression via activating CAPRN2 and canonical WNT/ β -catenin signaling pathway.	China	COCE
5	2020	Li et al.	Antisense oligonucleotides targeting lncRNA AC104041.1 induces antitumor activity through Wnt2B/ β -catenin pathway in head and neck squamous cell carcinomas.	China	CCECC
6	2020	Chung et al.	Role of Chrysophanol in Epithelial-Mesenchymal Transition in Oral Cancer Cell Lines via a Wnt-3-Dependent Pathway.	Taiwán	COCE
7	2020	Reyes et al.	Nuclear accumulation of β -catenin is associated with endosomal sequestration of the destruction complex and increased activation of Rab5 in oral dysplasia.	Chile	Displasia oral
8	2019	Huang et al.	FZD2 regulates cell proliferation and invasion in tongue squamous cell carcinoma.	China	COCE-L
9	2019	Shin et al.	CD200 Induces Epithelial-to-Mesenchymal Transition in Head and Neck Squamous Cell Carcinoma via β -Catenin-Mediated Nuclear Translocation.	Corea	CCECC
10	2019	L. Zhang et al.	R-spondin 2-LGR4 system regulates growth, migration and invasion, epithelial-mesenchymal transition and stem-like properties of tongue squamous cell carcinoma via Wnt/ β -catenin signaling.	China	COCE-L
11	2019	C. Zhang et al.	Quercetin suppresses the tumorigenesis of oral squamous cell carcinoma by regulating microRNA-22/WNT1/ β -catenin axis.	China	COCE
12	2019	Kleszcz et al.	Inhibition of CBP/ β -catenin and porcupine attenuates Wnt signaling and induces apoptosis in head and neck carcinoma cells.	Polonia	CCECC
13	2019	Mallery et al.	Fenretinide, Tocilizumab, and Reparixin Provide Multifaceted Disruption of Oral Squamous Cell Carcinoma Stem Cell Properties: Implications for Tertiary Chemoprevention.	EE.UU	COCE
14	2019	Sogutlu et al.	The effect of ICRT-3 on Wnt signaling pathway in head and neck cancer.	Turquía	CCECC
15	2019	Reyes et al.	Nuclear localization of β -catenin and expression of target genes are associated with increased Wnt secretion in oral dysplasia	Chile	Displasia oral
16	2019	Phuong N et al.	Wnt signaling dynamics in head and neck squamous cell cancer tumor-stroma interactions.	EE. UU	CCECC
17	2018	Kartha et al.	Functional and genomic analyses reveal therapeutic potential of targeting β -catenin/CBP activity in head and neck cancer.	EE.UU	CCECC
18	2017	Liu et al.	MicroRNA-27b inhibits cell proliferation in oral squamous cell carcinoma by targeting FZD7 and Wnt signaling pathway.	China	COCE
19	2017	Ma et al.	Silencing of long non-coding RNA CCAT2 depressed malignancy of oral squamous cell carcinoma via Wnt/ β -catenin pathway.	China	COCE
20	2017	Weng et al.	miR-373-3p Targets DKK1 to Promote EMT-Induced Metastasis via the Wnt/ β -Catenin Pathway in Tongue Squamous Cell Carcinoma.	China	COCE-L
21	2017	Nayak et al.	Nanoquinacrine caused apoptosis in oral cancer stem cells by disrupting the interaction between GLI1 and β catenin through activation of GSK3 β .	India	COCE
22	2016	Rudy et al.	In vivo Wnt pathway inhibition of human squamous cell carcinoma growth and metastasis in the chick chorioallantoic model.	EE.UU	CCECC
23	2015	Zheng et al.	Twist-related protein 1 enhances oral tongue squamous cell carcinoma cell invasion through β -catenin signaling.	China	COCE-L

24	2014	Shiah et al.	Downregulated miR329 and miR410 promote the proliferation and invasion of oral squamous cell carcinoma by targeting Wnt-7b.	Taiwán	COCE
25	2014	Sun et al.	Targeting the c-Met/FZD8 signaling axis eliminates patient-derived cancer stem-like cells in head and neck squamous carcinomas.	China	CCECC
26	2014	Kawakita et al.	MicroRNA-21 promotes oral cancer invasion via the Wnt/ β -catenin pathway by targeting DKK2.	Japón	COCE-L
27	2014	Affifi et al.	XAV939: from a small inhibitor to a potent drug bioconjugate when delivered by gold nanoparticles.	EE.UU	COCE
28	2013	Liu et al.	Targeting Wnt-driven cancer through the inhibition of Porcupine by LGK974.	EE.UU	CCECC

Tabla 2. Artículos incluidos en esta revisión sistemática cualitativa.

5.2 ESTRATEGIA TERAPÉUTICA CONTRA LA VÍA WNT/ β -CATENINA: INHIBICIÓN O SOBREENPRESIÓN DE MOLÉCULAS

De las diferentes moléculas evaluadas un 41% (7) de los artículos estudió microARNs (miARNs), un 18% (3) a ARN largos no codificantes (lncARNs), un 29% (5) a otras moléculas relacionadas y un 12% (2) a moléculas propias de la vía de señalización Wnt/ β -catenina. El resumen de los estudios que evaluaron moléculas se encuentra en la tabla 3.

5.2.1 Estrategia terapéutica contra la vía de señalización Wnt/ β -catenina: inhibición o sobreexpresión de miARN o lncARN

Dentro de las estrategias terapéuticas evaluadas en esta revisión se encuentra la estrategia centrada en el estudio de miARNs que pueden estar disminuidos o sobreexpresados en COCE, actuando así como supresores de tumores u oncogenes.

RASSF4 pertenece a la familia de dominios de asociación a Ras (RASSF) y está involucrada en procesos biológicos celulares, como la proliferación, diferenciación, migración y apoptosis (Dickson, 2017). Cui et al. (Cui et al., 2021), evaluaron la expresión de miR-626 y RASSF4 en tejidos y células de COCE y el mecanismo molecular implicado fue estudiado a través de modelos *in vitro*. En este estudio se encontró una baja expresión de RASSF en COCE, en comparación a miR-626 el cual se encontró aumentado, los autores señalan que esta expresión se correlaciona significativamente con el grado histopatológico del COCE, el estadio del tumor, la metástasis en los ganglios linfáticos y con una supervivencia global más corta. miR-626 regula negativamente la expresión de RASSF4 en células

COCE y una sobreexpresión de RASSF4 causa un bloqueo de la vía de señalización de Wnt/ β -catenina, acompañado de reducciones en la expresión del ARNm y de las proteínas FZD1 y β -catenina, además de causar inhibición en la proliferación, aumento de apoptosis, disminución de la capacidad de invasión y migración celular. Por lo tanto, bloquear a miR-626 es una estrategia terapéutica que podría disminuir la expresión del receptor FZD1 y como consecuencia la inactivación de la vía de señalización Wnt/ β -catenina en COCE.

Otro miARN estudiado en COCE es el miR-27b, el cual regula negativamente la expresión de los receptores FZD, sin embargo, se ha estudiado que se encuentra disminuido en COCE. Por lo tanto, una estrategia basada en su sobreexpresión podría inhibir la proliferación de células de carcinoma oral gracias a que miR-27b se dirige directamente contra FZD7 disminuyendo su expresión y suprimiendo la vía de señalización Wnt/ β -catenina (Liu et al., 2017).

Por otra parte, se ha estudiado que miR-22 se encuentra disminuido en COCE. La expresión ectópica de miR-22 provoca una reducción de la viabilidad celular y una elevación de la tasa de apoptosis celular. miR-22 se une directamente a Wnt1 y lo regula negativamente, inactivando la vía de señalización Wnt1/ β -catenina en células COCE (Zhang et al., 2019). En el mismo estudio se evaluó el efecto de la quercetina demostrando que es capaz de inducir la expresión de miR-22 obteniendo resultados satisfactorios al provocar una disminución en el peso y en el volumen de tumores de xenoinjerto de ratón de células COCE al inhibir la vía de señalización Wnt/ β -catenina.

Otros miARNs que se unen directamente a un ligando Wnt son el miR329 y miR410 los que se encuentran disminuidos en COCE. Normalmente actúan como supresores de tumores mediante la regulación negativa de Wnt7b, por lo tanto, los autores demostraron que al sobreexpresarlos no se activa la vía Wnt/ β -catenina mediada por ligando Wnt7b en células de carcinoma oral a través de modelos *in vitro*. Los resultados indicaron que la sobreexpresión de miR329 y miR410 redujo la proliferación e invasión en las células estudiadas. Por otra parte, a través de un modelo *in vivo*, se comprobó que la sobreexpresión de estos miARNs redujo el peso y el volumen promedio del tumor junto con la disminución de los niveles de expresión de las proteínas Wnt7b y β -catenina (Shiah et al., 2014). En este mismo

estudio a través de modelos *ex vivo* en muestras de tejido de pacientes diagnosticados con COCE, la expresión de Wnt7b a través de inmunohistoquímica se correlacionó con la diferenciación celular; expresándose principalmente en las células tumorales menos diferenciadas y una mayor expresión de Wnt7b se asoció significativamente con una mayor invasión linfovascular. Por lo tanto, los pacientes con una elevada expresión de Wnt7b presentaron una supervivencia libre de recaída menos favorable y una tasa de supervivencia específica de la enfermedad significativamente más baja en comparación con las muestras de pacientes con una baja expresión de Wnt7b (Shiah et al., 2014).

Por otra parte, otro miARN asociado a la vía Wnt/ β -catenina es el miR-373-3p el cual activa la vía Wnt inhibiendo directamente al represor de señalización Wnt/ β -catenina; Dkk1 y así permite promover la TEM y la metástasis. Weng et al. (Weng et al., 2017), estudiaron la expresión de miR-373-3p en muestras de pacientes con diagnóstico de COCE-L, en donde se determinó que la expresión miR-373-3p se encontraba aumentada en estas muestras. De forma similar, Kawakita et al. (Kawakita et al., 2014), determinaron la expresión del miR-21 (inhibidor de Dkk2) en células de COCE, demostrando un aumento en su expresión. En este estudio, además, demostraron que la supresión de miR-21 reduce significativamente el potencial de invasión de las células COCE. Por lo tanto una estrategia basada en la supresión de estos miARNs podría ser efectiva para impedir la activación de la vía Wnt/ β -catenina.

Otro estudio que determinó la expresión de miARNs fue el de Wei et al. (Wei et al., 2020), en el cual determinaron la expresión de miR-223. Este miARN es considerado que actúa como supresor tumoral, sin embargo, en este artículo demostraron que se encuentra disminuido en COCE aumentando la tasa de metástasis en COCE tanto en modelos *in vivo* como *in vitro*. miR-223 se dirige directamente al factor de transcripción 7-like2 (TCF7L2) y lo regula de manera negativa. TCF7L2 se correlaciona negativamente con la metástasis y la supervivencia del paciente. Por lo tanto, al sobreexpresar miR-223, disminuye la expresión de TCF7L2 disminuyendo a su vez la actividad de la vía de señalización Wnt/ β -catenina, por lo que miR-223 puede servir como un objetivo atractivo para la intervención de metástasis de COCE.

Algunos miARNs se relacionan con lncARNs como es el caso de miR-6817-3p con el lncARN AC104041.1. El lncARN AC104041.1 está altamente expresado en células CCECC y se correlaciona con una pobre supervivencia global en pacientes con CCECC (Li et al., 2020). Este lncARN funciona como una esponja molecular para el miR-6817-3p, uniéndose directamente a él inhibiendo su expresión. El objetivo directo del miR-6817-3p es Wnt2b al cual se une y lo regula de manera negativa, por lo tanto, al estar sobreexpresado AC104041.1, miR-6817-3p se encuentra disminuido permitiendo la estabilización de Wnt2b, regulándose al alza la vía de señalización Wnt2b/ β -catenina. El bloqueo de AC104041.1 da como resultado una inhibición significativa de la viabilidad celular de células tumorales y su migración en modelos *in vitro*, así como también en una disminución en el crecimiento tumoral de células de CCECC a través de modelos *in vivo* (Li et al., 2020).

Otro lncARN regulado positivamente en líneas celulares y tejidos tumorales de COCE es LINC00941, el cual promueve la proliferación de células de carcinoma oral y la formación de tumores en modelos *in vivo*. Además, LINC00941 regula al alza la expresión de CAPRIN2 y este aumento de CAPRIN2 promueve la proliferación celular. CAPRIN2 fosforila el correceptor LRP6 de WNT, lo cual aumenta la actividad de la vía de señalización Wnt (Ding et al., 2008). Ai et al. (Ai et al., 2020), demostraron en células de carcinoma oral que la expresión de LINC00941 aumenta a su vez la expresión de CAPRIN2 activando la vía Wnt/ β -catenina.

CCAT2 es otro lncARN que se encuentra aumentado en COCE, lo cual se correlaciona con un pobre grado de diferenciación en biopsias de pacientes con COCE, un estadio T más alto y una supervivencia global reducida. Por lo tanto, al silenciarlo se inhiben los comportamientos biológicos malignos de las células COCE y se inhibe la actividad transcripcional de la vía de señalización Wnt/ β -catenina al aumentar la expresión de GSK-3 β (Ma et al., 2017).

5.2.2 Estrategia terapéutica contra la vía de señalización Wnt/ β -catenina: inhibición o sobreexpresión de proteínas de la vía de señalización Wnt/ β -catenina

De las proteínas pertenecientes a la vía Wnt/ β -catenina, los estudios incluidos en esta revisión evaluaron como posibles dianas terapéuticas al receptor FZD2 en COCE-L y al ligando Wnt3a en displasia epitelial oral y CCECC.

El receptor FZD2 activa la vía de señalización Wnt/ β -catenina al unirse con los ligandos Wnt3a, Wnt5b y Wnt7a. Se ha observado que FZD2 se encuentra sobreexpresado en muestras de CCECC y en COCE-L a través de modelos *ex vivo* y que promueve la proliferación celular, la migración y la invasión de células orales de carcinoma de lengua en modelos *in vitro*. La supresión de FZD2 inhibió significativamente el crecimiento y la proliferación celular en células de carcinoma oral, y a su vez, utilizando un modelo *in vivo*, se demostró que el bloqueo de FZD2 inhibe eficazmente la formación y el crecimiento tumoral (Huang et al., 2019). Por lo tanto, inhibir la expresión de este receptor podría ser una estrategia terapéutica eficaz para aquellos tumores con sobreactivación de la vía Wnt/ β -catenina.

Se ha demostrado que los queratinocitos orales displásicos (DOK) tienen concentraciones elevadas de β -catenina nuclear, la cual es mediada por el ligando Wnt3a que activa la vía Wnt en estas células (Reyes et al., 2019). Paralelamente en este mismo estudio se demostró que la expresión de Wnt3a y β -catenina nuclear aumentan simultáneamente en las biopsias de displasia oral en comparación a muestras de mucosa oral sana. A través de ensayos *in vitro* en células DOK se inhibió la proteína Porcupina responsable de la secreción del ligando Wnt3a, utilizando el inhibidor C-59, esta inhibición dio como resultado una significativa disminución de la localización nuclear β -catenina y de la transcripción de genes asociados a la proliferación celular como Survivina y Ciclina D1. Por lo tanto, la inhibición de Wnt3a a través de C-59 representa un objetivo terapéutico potencial en displasia oral (Reyes et al., 2019).

Por otra parte, en CCECC, se demostró que Wnt3a y con menos frecuencia Wnt16, activaron la señalización de Wnt tanto en células cancerosas como en fibroblastos asociados al cáncer. La activación aumentó el fenotipo de CMC y el potencial invasivo de las células cancerosas a través de la regulación positiva

transitoria de Twist1. Además, los inhibidores fisiológicos de Wnt suprimieron la proliferación de xenoinjertos derivados del paciente (PDX) al suprimir la señalización de Wnt durante el proceso de TEM en modelos *in vitro* (Le et al., 2019).

5.2.3 Estrategia terapéutica contra la vía de señalización Wnt/ β -catenina: inhibición o sobreexpresión de proteínas relacionadas a la vía Wnt

Twist1 es esencial en el desarrollo del mesodermo y la diferenciación de los tejidos derivados del mesodermo (Entz-Werle et al., 2007). Zheng et al. (Zheng et al., 2015), investigaron el efecto de Twist1 en la señalización de β -catenina en células de COCE-L. Los resultados mostraron que Twist1 se encuentra aumentado en COCE-L y se relaciona positivamente con la activación de la vía de señalización Wnt/ β -catenina; Twist1 es capaz de regular los niveles de β -catenina soluble mediante la inducción de la inactivación de GSK-3 β a través de la fosforilación de la Serina-9 (Ser-9) en células COCE-L impidiendo que β -catenina sea degradada a través del proteasoma. Por lo tanto, la inhibición de Twist1 es un blanco terapéutico a considerar.

Shin et al. (Shin et al., 2019), estudiaron a la glucoproteína de membrana CD200. Muestras de CCECC metastásico exhiben una expresión de CD200 significativamente mayor en comparación con el no metastásico, además, una alta expresión de CD200 se asoció con características de TEM; estrechamente con el grado del tumor y con una alta invasividad en CCECC. En modelos *in vivo*, se observó que CD200 aumenta la capacidad metastásica. Además, demostraron que CD200 se une a β -catenina en el citoplasma, liberándola de la acción del complejo de destrucción permitiendo su translocación al núcleo, por lo tanto, al bloquear a CD200 se inhibió la translocación nuclear de β -catenina, inhibiendo a la vía Wnt/ β -catenina y la expresión de genes relacionados con la TEM.

Se ha demostrado que el eje Rspo-LGR4 agonista de la vía Wnt, se encuentra aumentado en muestras de COCE-L, y se asocia a una supervivencia global deficiente, metástasis en los ganglios linfáticos, estadio clínico avanzado y pobre diferenciación histopatológica. Rspo2 promueve la proliferación, estimula el crecimiento activando el ciclo celular, promueve la migración, invasión, induce la TEM en las células COCE-L y les confiere propiedades similares a las de las CMC.

Rspo2-LGR4 aumenta la fosforilación de LRP6 y la acumulación de Dvl3 mientras que disminuye la activación de GSK-3 β , lo que conduce a la posterior translocación nuclear de β -catenina (Zhang et al., 2019). Nuevas estrategias terapéuticas dirigidas contra estas proteínas serían de utilidad en la inhibición de la vía Wnt/ β -catenina.

c-Met, receptor de tirosina quinasa para el factor de crecimiento de hepatocitos, se sobreexpresa en una amplia variedad de tumores humanos en los que desempeña un papel central en la transformación maligna (Gentile et al., 2008). Se identificó a c-Met como un marcador de autorrenovación en CMC de xenoinjertos tumorales derivados de pacientes con CCECC (Sun & Wang, 2011). Con estos antecedentes Sun et al. (Sun et al., 2014), decidieron investigar si c-Met puede comprender un objetivo eficaz para la terapia dirigida a las CMC de CCECC y exploraron el mecanismo subyacente de c-Met en el mantenimiento de las CMC derivadas de pacientes con CCECC. La eliminación de c-Met inhibe las propiedades de las CMC de CCECC al inhibir la autorrenovación, la iniciación del tumor y la capacidad de generar metástasis. Además, demostraron que la regulación a la baja de la señalización de Wnt/ β -catenina es un paso crucial para la eliminación de las CMC de CCECC inducidas por la inhibición de c-Met. Al inhibir c-Met se disminuye la expresión de FZD8 en las CMC de CCECC disminuyendo la actividad transcripcional de la vía Wnt/ β -catenina.

Rab5 es una pequeña GTPasa que controla la dinámica de los endosomas tempranos (Stenmark, 2009). Reyes et al. (Reyes et al., 2020), demostraron que el complejo de destrucción de β -catenina es secuestrado en endosomas tempranos, posterior a la activación de la vía Wnt mediada por ligando Wnt3a, tanto en muestras de displasia oral y en cultivos de queratinocitos orales displásicos, en comparación con biopsias de mucosa sana y queratinocitos normales, respectivamente. Estos eventos se asociaron con un aumento de la actividad de Rab5. Posteriormente se comprobó que la inhibición de Rab5 impide el secuestro endosómico del complejo de destrucción, disminuyendo los niveles de β -catenina nuclear y la transcripción dependiente de TCF/LEF.

METODOLOGÍA	MOLÉCULAS EVALUADAS	PRESENCIA PATOLÓGICA	ESTRATEGIA TERAPÉUTICA PARA INHIBIR A LA VÍA WNT/ β -catenina
In vitro y ex vivo Células de COCE comerciales	miR-626→ RASSF→ FZD1	miR-626 aumentado RASSF4 disminuido	BLOQUEAR A miR-626 Al bloquear a miR-626, RASSF4 aumenta su expresión y disminuye la expresión de FZD1.
In vitro Células de COCE comerciales	miR-27b→ FZD7	miR-27b disminuido	SOBREEXPRESAR miR-27b miR-27b regula negativamente a FZD7 por interacción directa.
In vitro, ex vivo e in vivo Células de COCE comerciales	miR-22→ Wnt1	miR-22 disminuido	SOBREEXPRESAR miR-22 miR-22 regula negativamente a Wnt1 por interacción directa.
In vitro, ex vivo e in vivo Células de COCE comerciales	miR329 y miR410→ Wnt7b	miR329 y miR410 disminuidos Wnt7b aumentado	SOBREEXPRESAR miR329 y miR410 miR329 y miR410 regulan negativamente a Wnt7b por interacción directa.
In vitro y ex vivo Células de COCE-L comerciales	miR-373-3p→ Dkk1	miR-373-3p aumentado	BLOQUEAR A miR-373-3p miR-373-3p se dirige directamente al inhibidor Wnt Dkk1 disminuyendo su expresión.
In vitro y ex vivo Células de COCE comerciales	miR-21→ Dkk2	miR-21 aumentado Dkk2 disminuido	BLOQUEAR A miR-21 miR-21 regula negativamente al antagonista de Wnt Dkk2.
In vitro, ex vivo e in vivo Células de COCE comerciales	miR-223→ TCF7L2	miR-223 disminuido TCF7L2 aumentado	SOBREEXPRESAR miR-223 miR-223 puede unirse directamente a TCF7L2 disminuyendo su expresión.
In vitro, ex vivo e in vivo Células de COCE comerciales	lncARN AC104041.1→ miR-6817-3p→ Wnt2b	AC104041.1 aumentado miR-6817-3p disminuido Wnt2b aumentado	BLOQUEAR A AC104041.1 AC104041.1 funciona para regular la estabilidad del ARNm de Wnt2b secuestrando miR-6817-3p, al bloquearlo se regula al alza miR-6817-3p, por lo tanto, disminuye la expresión de Wnt2b.
In vitro, ex vivo e in vivo Células de COCE comerciales	lncARN LINC00941→ CAPRIN2→ LRP6	LINC00941 aumentado CAPRIN2 al aumentado	BLOQUEAR A LINC00941 Al bloquear a LINC00941, se regula a la baja a CAPRIN2, lo que impide la fosforilación del correceptor LRP6.
In vitro y ex vivo Células de COCE comerciales	lncARN CCAT2→GSK-3 β	CCAT2 aumentado	BLOQUEAR A CCAT2 El silenciamiento de CCAT2 promueve la expresión de GSK-3 β y suprime a la β -catenina.
In vitro Células de COCE-L comerciales	Twist1→GSK-3 β	Twist1 aumentado	BLOQUEAR A Twist1 Twist1 aumenta los niveles de β -catenina soluble al inactivar a GSK-3 β .
In vitro, ex vivo e in vivo Células de COCE comerciales	CD200→ β -catenina	CD200 aumentado	BLOQUEAR A CD200 CD200 se une a β -catenina en el citoplasma, liberándola de la acción del complejo de destrucción.
In vitro, ex vivo e in vivo Células de COCE comerciales	Eje Rspo2- LGR4→ LRP6, Dvl3 y GSK-3 β	Rspo2 aumentado LGR4 aumentado	BLOQUEAR EL EJE Rspo2-LGR4 Rspo2-LGR4 aumenta la fosforilación de LRP6 y la acumulación de Dvl3 mientras que disminuye la activación de GSK-3 β .
In vitro, ex vivo e in vivo CMC de CCECC de cultivos primarios	c-Met→ FZD8	c-Met aumentado FZD8 aumentado	BLOQUEAR A c-Met La expresión de FZD8 está regulada positivamente por la actividad de c-Met.
In vitro y ex vivo Células de displasia oral (DOK) comerciales y de cultivos primarios	Rab5→ GSK3 β , Axin y APC	Rab5 aumento modesto, pero no significativo Rab5-GTP aumentado	BLOQUEAR A RAB5 Los componentes del complejo de destrucción de β -catenina se reclutan dentro de endosomas tempranos y este secuestro depende de Rab5 funcional.
In vitro y ex vivo Células DOK comerciales y de COCE de cultivos primarios	Wnt3a	Wnt-3a aumentado en displasia oral	BLOQUEAR A Wnt3a
In vitro e in vivo CMC de COCE de cultivos primarios	Wnt3a	Wnt-3a aumentado	BLOQUEAR A Wnt3a
In vitro, ex vivo e in vivo Células de COCE comerciales	FZD2	FZD2 aumentado	BLOQUEAR A FZD2

Tabla 3. Artículos que evaluaron moléculas dentro de su estrategia terapéutica para inhibir a la vía Wnt/ β -catenina.

5.3 ESTRATEGIA TERAPÉUTICA CONTRA COMPONENTES DE LA VÍA WNT/ β -CATENINA UTILIZANDO FÁRMACOS

Dentro de los fármacos o inhibidores farmacológicos estudiados que disminuyen la actividad de la vía de señalización Wnt/ β -catenina, se encuentra el uso de agentes dirigidos a los microtúbulos (MTA), como el compuesto C12, la vinblastina y el taxol.

Los microtúbulos son estructuras similares a un tubo hueco y estrecho que se encuentran en el citoplasma, ayudan a mantener la forma de la célula, también ayudan a que los cromosomas se muevan durante la multiplicación celular y que los orgánulos y algunas moléculas se muevan dentro de la célula (Gundersen & Cook, 1999). Los MTA impiden que los microtúbulos funcionen correctamente, con el objetivo de impedir que las células cancerosas se multipliquen (Jordan & Wilson, 2004).

Kumari et al., reportaron en células de COCE-L a través de modelos *in vitro* que el uso de MTA inhibió la señalización de Wnt/ β -catenina aumentando los niveles de reguladores negativos como las proteínas APC y Axin; lo que provocó un aumento en la actividad del complejo de destrucción de β -catenina, disminuyendo los niveles de reguladores positivos de la vía de señalización Wnt/ β -catenina como Dvl1. Por otro lado, a través de modelos *in vivo*, los autores reportaron que el compuesto C12 suprime el crecimiento de xenoinjertos en ratones sin causar ninguna toxicidad evidente. Además, C12 provocó bloqueo mitótico, indujo apoptosis y supresión en el nivel de señalización de Wnt/ β -catenina tanto en el tejido tumoral como en células COCE-L. Por otra parte, los autores demostraron en su investigación que el transporte nuclear de β -catenina depende de la interacción física entre Kif3a, una subunidad de kinesina-2 con β -catenina. Las kinesinas son una familia de proteínas motoras que median el transporte intracelular anterógrado sobre los microtúbulos, es por esto que tras la interrupción de la organización de los microtúbulos provocada por los MTA, la localización nuclear de β -catenina fue reducida de manera significativa (Kumari et al., 2021).

Por lo tanto, al evaluar el efecto de los MTA en combinación con inhibidores de moléculas pequeñas de la vía Wnt/ β -catenina como; IWP-2 que inhibe a Porcn, afectando la modificación postraduccional en los ligandos Wnt e IWR-1 estabilizador

de Axin, que conduce a la estabilización del complejo de destrucción, provocando a su vez un aumento en la degradación de β -catenina, se evidenció que los efectos sobre la muerte celular aumentaron de un 50% aproximadamente cuando se utilizan MTA solos a un 80% aproximadamente cuando se utilizan en combinación con los inhibidores de la vía de señalización Wnt; IWP-2 e IWR-1 (Kumari et al., 2021).

El crisofanol, es un fármaco de origen natural, derivado de antraquinona aislado de los rizomas de *Rheum palmatum*. Se reportó que su uso regula la muerte celular, la metástasis, la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS) y la ferroptosis en líneas celulares de COCE, disminuyendo la formación de fenotipo de TEM a través de la disminución de Wnt3 y de la actividad de la vía de señalización Wnt/ β -catenina (Chung et al., 2020).

Los oligonucleótidos antisentido (ASO) son análogos sintéticos de ADN monocatenario con 16-22 bases que se unen a los ARN diana (incluidos los ARNm y los ARN no codificantes) y conducen a la eliminación del transcrito mediado por endonucleasas (Bennett & Swayze, 2010). Li et al. (Li et al., 2020), diseñaron un oligonucleótido antisentido modificado con ácido nucleico bloqueado (LNA-ASO) con especificidad para el lncARN AC104041.1, el cual regula la estabilidad del ARNm de Wnt2b; aumentando su expresión. Se evaluó su actividad antitumoral en ensayos *in vitro* e *in vivo* en combinación con el agente de salinomicina, obteniendo como resultado una inhibición significativa de la viabilidad celular y la migración *in vitro* y una disminución del crecimiento tumoral de modelos de xenoinjerto derivados de pacientes con CCECC. El tratamiento combinado con salinomicina y AC104041.1 LNA-ASO, provocó una disminución en la viabilidad y la migración celular y el volumen tumoral fue mucho más pequeño que al usar cualquiera de los agentes por separado. Además, las señales de β -catenina nuclear fueron significativamente más bajas en las células tratadas con AC104041.1 LNA-ASO y salinomicina.

La quercetina, es un flavonoide bioactivo que posee múltiples efectos farmacológicos como antioxidante, antibacteriano, antiinflamatorio y antiviral (Anand David et al., 2016). Zhang et al. (Zhang et al., 2019), demostraron que la quercetina reduce la viabilidad celular y estimula la apoptosis celular de una manera dependiente de la dosis en las células COCE gracias a que la quercetina induce la

expresión de miR-22, molécula que actúa como un supresor de tumores en COCE mediante la regulación negativa de Wnt1 inactivando la vía Wnt1/ β -catenina. Mediante ensayos *in vivo* la quercetina suprimió el crecimiento tumoral del xenoinjerto de COCE a través del eje miR-22/Wnt1/ β -catenina.

Mallery et al. (Mallery et al., 2019), identificaron un grupo de tres agentes que funcionan de manera coordinada para suprimir los mecanismos tumorigénicos claves en las CMC de COCE; el derivado de la vitamina A; fenretinida, el anticuerpo monoclonal contra el receptor de IL-6; tocilizumab, y el inhibidor de CXCR1/CXCR2; reparixina. Mediante ensayos *in vitro* se demostró que la fenretinida se une con una afinidad apreciablemente mayor (~ 158 veces) en relación con el ligando endógeno Wnt en el sitio de unión Wnt-FZD, lo que suprime significativamente la activación de la vía Wnt/ β -catenina en líneas de CMC de COCE. Al evaluar la tasa de crecimiento celular y la capacidad de respuesta a la supresión del crecimiento quimiopreventivo, la fenretinida fue el agente reductor de la proliferación más eficaz en todas las líneas celulares, mientras que el tocilizumab como agente único no mostró ningún efecto o mostró un ligero aumento del crecimiento, las combinaciones de fenretinida + tocilizumab y, fenretinida + tocilizumab + reparixina fueron muy eficaces en la reducción del crecimiento celular en CMC de COCE (Mallery et al., 2019).

La Quinacrina (QC), es un antiguo agente antipalúdico redescubierto recientemente como agente anticanceroso (Preet et al., 2012). Nayak et al. (Nayak et al., 2017), estudiaron la QC nanoformulada o nanoquinacrina (NQC) en cultivos de CMC de COCE, demostrando que la NQC disminuye el crecimiento celular y promueve la apoptosis en CMC de COCE al incrementar de manera significativa la expresión de GSK-3 β a nivel transcripcional y traduccional de una manera dosis dependiente. Además, se observó una disminución de 10 veces en la expresión de β -catenina en comparación al grupo control sin tratamiento con NQC.

5.4 ESTRATEGIA TERAPÉUTICA CONTRA LA VÍA WNT/ β -CATENINA: INHIBICIÓN DE MOLÉCULAS PEQUEÑAS RELACIONADAS CON WNT

Dentro de los inhibidores de moléculas pequeñas, una estrategia terapéutica dirigida contra los componentes de la vía de señalización Wnt/ β -catenina estudiada

en células COCE es el bloqueo del gen *Porcn* mediante WNT974 (también llamado LGK974).

Liu et al. (Liu et al., 2013)., demostraron que aproximadamente el 30% de líneas celulares de CCECC son sensibles a WNT974, en contraste con otros tipos de cánceres donde no se identificaron líneas sensibles. Además, identificaron que la inhibición sostenida de la vía *Wnt/β-catenina* no es necesaria para lograr la regresión del tumor por WNT974, proporcionando una ventana terapéutica para la eficacia del tumor sin afectar los tejidos normales dependientes de *Wnt*. Gracias a sus experimentos *in vitro* e *in vivo* concluyeron, que el inhibidor WNT974 es exitoso en líneas celulares de CCECC, es potente, selectivo y biodisponible por vía oral.

Por otra parte, para probar la efectividad de la inhibición de la vía *Wnt* mediante el uso de WNT974 en el crecimiento tumoral y metástasis a distancia en ensayos *in vivo*, Rudy et al.(Rudy et al., 2016), utilizaron el ensayo de membrana corioalantoidea de pollo y líneas celulares primarias de CMC de CCECC, concluyendo que WNT974 interrumpe eficazmente el crecimiento tumoral de xenoinjerto y la metástasis hepática de varias líneas celulares de CCECC con presencia de CMC.

Kleszcz et al. (Kleszcz et al., 2019), realizaron una investigación cuyo objetivo fue buscar dianas moleculares adecuadas para la inhibición de la señalización de *Wnt* entre un amplio conjunto de genes asociados con la regulación multinivel de la señalización canónica de *Wnt*, junto con evaluar si la modulación de las dianas identificadas afectaba significativamente la proliferación, migración y apoptosis de las células de CCECC. Sus resultados mostraron que *Porcn* unido a la membrana celular y *CBP* nuclear son los mejores objetivos para la regulación negativa efectiva de la expresión génica dependiente de *Wnt/β-catenina* en las células CCECC probadas.

El inhibidor de *CBP/β-catenina*; PRI-724, y el inhibidor de *Porcn*; IWP-2, mostraron las reducciones más fuertes en los niveles de tres genes diana *Wnt/β-catenina* y ambos compuestos mostraron capacidad de inhibir la proliferación celular, inducir apoptosis y afectar la migración celular (Kleszcz et al., 2019).

Otro estudio que evaluó la inhibición de la interacción entre *β-catenina/CBP* utilizó el inhibidor ICG-001, concluyendo que ICG-001 interfiere con el crecimiento

de las células de COCE, la proliferación celular, la supervivencia y la adhesión intercelular junto con afectar la expresión de genes implicados en la señalización de Wnt. Además, mediante ensayos *in vivo* ICG-001 inhibió el crecimiento tumoral y los fenotipos agresivos en modelos de ratón, mientras que en xenoinjertos de pez cebra con contenido de CMC de COCE, el tratamiento con ICG-001 redujo significativamente la metástasis, lo que confirma que la actividad transcripcional mediada por β -catenina/CBP es fundamental para el mantenimiento de las CMC de COCE humanas agresivas *in vivo* (Karthan et al., 2018).

El inhibidor de la transcripción mediada por β -catenina (ICRT-3), se une al residuo Arg469 en β -catenina e inhibe la interacción del complejo β -catenina-TCF4. Por lo tanto, ICRT-3 dificulta la transcripción de genes diana de β -catenina (Gonsalves et al., 2011). Por otra parte, Sogutlu et al. (Sogutlu et al., 2019), demostraron que ICRT-3 tiene un efecto citotóxico, induce significativamente la apoptosis, provoca la detención de G1 en el ciclo celular e inhibe la migración completamente en células de CCECC en modelos *in vitro*.

Los inhibidores del receptor FZD estudiados en CCECC son OMP-54F28 el cual consta de una región de inmunoglobulina G1 (IgG1) fusionada con un receptor FZD que se une a los ligandos Wnt y los secuestra (Le et al., 2015), por otro lado, OMP-18R5 es un anticuerpo monoclonal que se une a múltiples receptores FZD, incluidos FZD1, FZD2, FZD5 y FZD8, provocando el bloqueo de la unión a los ligandos Wnt (Gurney et al., 2012). Se demostró, en experimentos mediante ensayos *in vivo*, que estos inhibidores de la vía Wnt/ β -catenina provocan una inhibición significativa del crecimiento del tumor y una disminución significativa de los niveles post-tratamiento de Wnt3a y Axin2. Además, la inhibición de Wnt con estos agentes disminuye la TEM y bloquea la iniciación de CMC de CCECC del tumor mediante ensayos *in vivo* (Le et al., 2019).

Otra estrategia para suprimir la actividad de la vía Wnt/ β -catenina mediada por la disminución en la expresión de receptores FZD es mediante la inhibición de c-Met que provoca la disminución de FZD8 en CMC de CCECC. La inhibición farmacológica de c-Met con el inhibidor PF-2341066 inhibió la autorenovación de las CMC de CCECC y mejoró la eficacia terapéutica de la quimioterapia tradicional en xenoinjertos tumorales derivados de pacientes con CCECC al inhibir eficazmente

el crecimiento tumoral, mientras que el tratamiento combinado con docetaxel + PF-2341066 mostró efectos inhibidores tumorales más fuertes y, PF-2341066 + cisplatino, inhibió notablemente el crecimiento tumoral. Además, PF-2341066 sinergia con docetaxel para inhibir la capacidad metastásica (Sun et al., 2014).

La enzima tanquirasa se ha implicado en la señalización de Wnt/ β -catenina marcando a Axin, provocando su degradación y estabilizando posteriormente la acumulación celular de β -catenina. El inhibidor XAV939, regula fuertemente la vía Wnt al inhibir la enzima tanquirasa provocando la posterior estabilización de los niveles de Axin citoplasmático estimulando la degradación de β -catenina (Huang et al., 2009). Paralelamente, XAV939 al ser conjugado con nanopartículas de oro (AuNP) provocó una disminución de la viabilidad y citotoxicidad celular dosis dependiente, en comparación con su forma libre no unida a AuNP en células de COCE (Afifi et al., 2014).

El resumen de los artículos que evaluaron fármacos o inhibidores farmacológicos se encuentra en la tabla 4.

METODOLOGÍA	FÁRMACO INHIBIDOR → DIANA	Y/O	ESTRATEGIA TERAPÉUTICA PARA INHIBIR A LA VÍA WNT/ β -CATENINA
In vitro, ex vivo e in vivo Células de COCE-L comerciales	MTA → Dvl-1, APC, Axin y β -catenina.		Los MTA provocan una reducción del nivel de Dvl-1 y un aumento del nivel de las proteínas APC y Axin. También reducen el transporte nuclear de β -catenina dependiente de kinesina-2.
In vitro Células de COCE comerciales	Crisofanol → Wnt3		El crisofanol disminuye la expresión de Wnt3 y la translocación nuclear de β -catenina.
In vitro, ex vivo e in vivo Células de COCE comerciales	LNA-ASO+ salinomicina → Wnt2b		Uso del LNA-ASO específico para bloquear lncARN AC104041.1, gracias a esto se regula al alza a miR-6817-3p y este disminuye la estabilidad de Wnt2b.
In vitro, ex vivo e in vivo Células de COCE comerciales	Quercetina → Wnt1		La quercetina induce la expresión de miR-22 el cual actúa como un supresor de tumores en COCE mediante la regulación negativa de Wnt1 por interacción directa.
In vitro CMC de COCE de cultivos primarios	Fenretinida, Tocilizumab y Reparixina → FZD8		La fenretinida se une con una afinidad apreciablemente mayor (~ 158 veces) al CRD de FZD8 en comparación a los ligandos endógenos de Wnt. El tratamiento triple confiere mejores resultados in vitro.
In vitro, ex vivo e in vivo CMC de CCECC de cultivos primarios	Inhibidor de c-Met: PF- 2341066 → FZD8		La expresión de FZD8 está regulada positivamente por la actividad de c-Met en CCECC, por lo tanto, al usar el inhibidor de c-Met; PF-2341066, se regula a la baja a FZD8.
In vitro e in vivo CMC de COCE de cultivos primarios	OMP-18R5 y OMP- 54F28 → FZD		OMP-54F28 es una región de IgG1 fusionada con un receptor FZD que se une y secuestra ligandos Wnt, mientras que OMP-18R5 es un anticuerpo monoclonal que se une a múltiples FZD bloqueando así la unión del ligando.
In vitro Células de COCE comerciales y CMC de COCE de cultivos primarios	Nanoquinacrina (NQC) → GSK3 β		NQC activa a GSK-3 β en COCE a nivel transcripcional y traduccional, GSK3 β participa en la fosforilación de la β catenina, lo que conduce a la degradación proteosómica.
In vitro e in vivo Células de CCECC comerciales	WNT974 → Porcn		El inhibidor de Porcn es exitoso en líneas celulares de CCECC, es potente, selectivo y biodisponible por vía oral.
In vivo CMC de COCE de cultivos primarios	WNT974 → Porcn		WNT974 es un potente inhibidor de Porcn por lo que los ligandos Wnt no pueden ser palmitoilados. Esta modificación es esencial para la secreción de ligandos Wnt.

In vitro Células de comerciales CCECC	IWP-2→ Porcupine PRI-724→ β-catenina/CBP	Uso de PRI-724 inhibidor de la interacción entre CBP y β-catenina e IWP-2 inhibidor del gen de Porcupine.
In vitro e in vivo Células de comerciales COCE	ICG-001→ β-catenina/CBP	ICG-001 bloquea preferencialmente la interacción entre la β-catenina y CBP en el núcleo.
In vitro Células de comerciales CCECC	ICRT-3→ β-catenina/TCF4	ICRT-3, se une al residuo Arg469 en β-catenina e inhibe la interacción del complejo β-catenina-TCF4.
In vitro Células de comerciales COCE	Nanopartículas de oro (AuNP) + XAV939→ Axin	XAV939 regula fuertemente la vía Wnt al inhibir la enzima tanquirasa provocando la posterior estabilización de los niveles de Axin citoplasmático estimulando la degradación de β-catenina.

Tabla 4. Artículos que evaluaron fármacos o inhibidores dentro de su estrategia terapéutica para inhibir a la vía Wnt/β-catenina.

6) DISCUSIÓN

La vía Wnt/β-catenina es una de las vías que está involucrada en la regulación de la autorrenovación y la diferenciación de las CMC (An et al., 2014). Por lo tanto, la creación de estrategias terapéuticas dirigidas contra los componentes de esta vía puede producir mejores resultados en el control del crecimiento tumoral, la prevención de la recurrencia, la metástasis del cáncer y la disminución de la resistencia a los medicamentos.

En ese marco, es importante el desarrollo de experimentaciones que evalúen este tipo especial de células. En uno de los artículos incluidos en esta revisión se desarrolló y validó un modelo celular de células de carcinoma oral enriquecido con CMC en donde se emplearon dos propiedades reconocidas de las CMC, es decir, la resistencia a la quimioterapia y el crecimiento independiente del anclaje (Mallery et al., 2019). Las CMC de COCE creadas presentan importantes diferencias en comparación a las células parentales; como resistencia a fármacos anticancerígenos, una alteración en la expresión génica hacia proteínas de células madre y proteínas pro-tumorigénicas, también, se observó mediante ensayos *in vivo*, una mayor actividad mitótica y una mayor proliferación celular (Mallery et al., 2019).

En esta revisión identificamos 5 estudios que crearon cultivos celulares enriquecidos con CMC tanto de COCE como de CCECC y evaluaron diferentes estrategias terapéuticas dirigidas contra la vía Wnt canónica y todos obtuvieron resultados antitumorales satisfactorios. Los agentes identificados fueron; la

fenretinida (Mallery et al., 2019), el inhibidor de c-Met PF-2341066 (Sun et al., 2014), la NQC (Nayak et al., 2017), el inhibidor de Porcn WNT974 (Rudy et al., 2016) y los inhibidores de FZD; OMP-54F28 y OMP-18R5 (Le et al., 2019). Esto confirma que la vía Wnt/ β -catenina es una estrategia terapéutica eficaz en contra de las CMC.

De la misma forma, identificamos estudios que demostraron la capacidad de inhibir la TEM y la metástasis en células de carcinoma oral y CCECC al inhibir componentes de la vía de señalización Wnt canónica, tales como; la inhibición de la vía Wnt3/ β -catenina con el agente farmacológico crisofanol (Chung et al., 2020), la inhibición de CD200 para impedir la translocación nuclear de β -catenina (Shin et al., 2019) y, bloquear al eje Rspo2-LGR4.(Zhang et al., 2019). Por lo tanto, la inhibición de ciertos componentes de la vía de señalización Wnt/ β -catenina en células de carcinoma oral confiere resultados antitumorales eficaces ya que, además de afectar a las CMC, permite inhibir el proceso de TEM.

Debido a los importantes papeles que desempeña la señalización de Wnt/ β -catenina en el cáncer, se han diseñado inhibidores, antagonistas y agonistas para dirigirse contra esta vía de señalización en diferentes tumores sólidos dependientes de Wnt y algunos de estos se han estudiado en ensayos de experimentación clínica (Zhang & Wang, 2020).

Varios inhibidores que se dirigen contra Porcn previenen la palmitoilación de los ligandos Wnt en el retículo endoplásmico, lo que posteriormente impide su secreción (Krishnamurthy & Kurzrock, 2018). El inhibidor de Porcn; LGK974 ahora renombrado WNT974, ha sido uno de los más estudiados para el tratamiento en tumores sólidos con enfoque terapéutico en la vía Wnt/ β -catenina. En esta revisión identificamos dos estudios que evalúan a WNT974 en CCECC mediante ensayos *in vitro* e *in vivo*, los cuales concluyeron que WNT974 es exitoso en líneas celulares de CCECC, siendo potente, selectivo y biodisponible por vía oral (Liu et al., 2013), también, es capaz de interrumpir eficazmente el crecimiento tumoral de xenoinjerto y la metástasis hepática de varias líneas celulares de CCECC (Rudy et al., 2016).

Otro inhibidor de Porcn llamado IWP-2, que tiene una estructura química diferente de WNT974, fue capaz de reducir los niveles de tres genes diana Wnt/ β -catenina junto con tener la capacidad de inhibir la proliferación celular, inducir apoptosis y afectar la migración celular (Karthi et al., 2018). Por otra parte, el

inhibidor C-59, provocó una significativa disminución de la localización nuclear β -catenina y de la transcripción de genes diana de la vía Wnt/ β -catenina al inhibir a Wnt3a en displasia oral (Reyes et al., 2019). Lo que confirma que dirigirse a Porcn, con cualquiera de sus inhibidores probados, demuestra ser una excelente estrategia terapéutica para inhibir la vía Wnt/ β -catenina tanto en COCE como en displasia oral.

Actualmente se está llevando a cabo un ensayo clínico que se encuentra en fase 1 en donde se evalúa a WNT974 en algunos tumores de cabeza y cuello y otros tumores sólidos dependientes de Wnt (identificador [NCT01351103](#)), cuya fecha estimada de finalización del estudio es en noviembre de 2023. Estos datos demuestran que la estrategia de inhibir a Porcn es el enfoque terapéutico dirigido contra la vía Wnt/ β -catenina más avanzado y con más opciones de convertirse en una terapia farmacológica para la carcinogénesis oral.

Por otra parte, otra estrategia terapéutica que ha mostrado ser eficaz en la inhibición de la vía de señalización Wnt/ β -catenina en células de carcinoma oral consiste en bloquear la interacción nuclear de β -catenina con el coactivador transcripcional CBP. PRI-724, inhibidor de CBP/ β -catenina, también se estudió en ensayos clínicos de fase 1 y 2 en cáncer de páncreas (identificador [NCT01764477](#)) y en tumores sólidos avanzados (identificador [NCT01302405](#)), sin embargo, no se han publicado resultados aún.

ICG-001, otro inhibidor de la interacción de CBP/ β -catenina demostró la capacidad de interferir con el crecimiento de las células de carcinoma oral, la proliferación celular, la supervivencia y la adhesión celular. Mediante ensayos *in vivo* ICG-001 inhibe el crecimiento tumoral y los fenotipos agresivos, todo esto gracias a la regulación a la baja de la vía de señalización Wnt/ β -catenina (Karthä et al., 2018). De manera similar, estudios preclínicos *in vitro* en CCECC, han demostrado que inhibir a Porcn y a la interacción de CBP/ β -catenina son las estrategias más adecuadas para la inhibición de la vía Wnt/ β -catenina (Kleszcz et al., 2019), afirmación que sería confirmada con el avance de estas estrategias terapéuticas en ensayos clínicos de fase 1 y 2.

Además de la estrategia terapéutica enfocada en la inhibición de Porcn y de la interacción de CBP/ β -catenina, los agentes de molécula pequeña dirigidos contra los receptores FZD; OMP-18R5 y OMP-54F28, también han demostrado buenos

resultados en ensayos preclínicos en diferentes tipos de cánceres incluidos los de mama, páncreas, colon y tumores pulmonares (Gurney et al., 2012) y, han avanzado a ensayos clínicos de fase 1 (Zhang & Wang, 2020).

XAV939 es un inhibidor de la tanquirasa, que estimula la degradación de β -catenina al estabilizar el nivel intracelular de Axin (Chen et al., 2009). Si bien XAV939 es un inhibidor reconocido de la vía Wnt/ β -catenina, hasta el momento sólo se ha evaluado en estudios preclínicos (Zhang & Wang, 2020). En esta revisión identificamos un estudio que evaluó el bioconjugado de XAV939 junto con nanopartículas de oro (AuNP) obteniendo resultados satisfactorios al provocar una disminución de la viabilidad celular dependiente de la concentración, mejorar la citotoxicidad celular y los datos de absorción de manera significativa en comparación con la forma libre de XAV939 en células de carcinoma oral (Afifi et al., 2014). Las AuNP tienen propiedades físicas y químicas únicas, como su falta de citotoxicidad inherente, estabilidad biológica y fácil síntesis, ya que pueden unirse fácilmente a una amplia gama de biomateriales como péptidos, enzimas, ADN, genes y fármacos, características que los convierten en excelentes candidatos para la bioconjugación con diferentes agentes (Tiwari et al., 2011). Además, varios grupos han demostrado la capacidad de las AuNP para mejorar la solubilidad, estabilidad y eficacia de los fármacos quimioterapéuticos, aumentando así su potencia y minimizando el efecto tóxico adverso (Dong & Mumper, 2010). Por lo tanto, la estrategia de generar bioconjugados de inhibidores de moléculas pequeñas de la vía de señalización Wnt/ β -catenina junto con AuNP representa una esperanzadora forma de tratamiento farmacológico para la carcinogénesis oral.

Los ARN no codificantes (ncARN) representan aproximadamente el 30% del genoma humano, en la actualidad se sabe que estas transcripciones de ARN tienen un impacto tremendo en diversos procesos fisiológicos y patológicos, sobre todo en cáncer (Anastasiadou et al., 2017). Dentro de estos ncARN se encuentran los ARN largos no codificantes (lncARNs) y los microARN (miARNs), siendo estos últimos recientemente postulados como una estrategia terapéutica en contra de las CMC (Oliveira et al., 2021; Prasad et al., 2020). La evidencia acumulada establece la activación anormal de la vía Wnt/ β -catenina en COCE, sin embargo, no está claro cómo las células de COCE evaden la regulación negativa de esta vía. En este

sentido aclarar el mecanismo regulador potencial de estos ncARN en el desarrollo de tumores puede proporcionar nuevas perspectivas diagnósticas y terapéuticas para este tipo de neoplasias malignas.

En esta revisión, el 35,7% del total de artículos incluidos evaluó a una de estas moléculas y su asociación con COCE y con la vía de señalización Wnt/ β -catenina. Al igual que lo reportado en otros cánceres (Oh-Hohenhorst & Lange, 2021; Weidle & Nopora, 2021), en COCE, los miARNs pueden estar disminuidos o sobreexpresados y actuar como supresores de tumores o como oncogenes respectivamente. Se ha demostrado que varios miARNs afectan la actividad de la vía Wnt/ β -catenina al inhibir o sobreexpresar moléculas de esta vía, convirtiéndose en potenciales objetivos terapéuticos para su tratamiento. Por ejemplo; miR-626 al ser bloqueado disminuye la expresión de FZD1 y de β -catenina (Cui et al., 2021), miR-27b al ser sobreexpresado disminuye la expresión de FZD7 (Liu et al., 2017). miR329 y miR410 regulan negativamente a Wnt7b por interacción directa (Shiah et al., 2014) y miR-22 tiene el mismo efecto con Wnt1 (Zhang et al., 2019), por lo que estos miARNs, son factibles de ser sobreexpresados para disminuir la actividad de la vía Wnt/ β -catenina. Por otro lado, miR-373-3p y miR-21 se encuentran aumentados en COCE y regulan negativamente a los inhibidores de Wnt; Dkk1 y Dkk2 respectivamente (Kawakita et al., 2014; Weng et al., 2017), por lo que al bloquear la expresión de miR-373-3p y miR-21 se mantiene estable la expresión de los inhibidores de Wnt y por consiguiente, se estabiliza también la actividad de la vía Wnt canónica obteniendo resultados favorables al disminuir características de malignidad, como la activación de la TEM, la metástasis de COCE-L y el potencial de invasión de las células de COCE.

Los lncARNs evaluados en COCE y que tienen participación con la actividad de la vía de señalización Wnt/ β -catenina identificados en esta revisión son LINC00941, AC104041.1 y CCAT2 (Ai et al., 2020; Li et al., 2020; Ma et al., 2017). Los 3 se encuentran aumentados en COCE por lo que su bloqueo puede ser una estrategia terapéutica funcional. Al bloquear a LINC00941 se impide la fosforilación del correceptor LRP6. De la misma forma, al ser bloqueado AC104041.1 disminuye la expresión de Wnt2b y el silenciamiento de CCAT2 promueve la expresión de GSK-3 β y suprime a β -catenina.

En conjunto, toda esta reciente evidencia da cuenta del potencial de dirigirse a los miARNs y lncARNs y su gran implicancia con la vía de señalización Wnt/ β -catenina, lo cual aporta valiosa información sobre los procesos implicados en la activación anormal de esta vía de señalización en COCE. Sin embargo, a diferencia de los inhibidores de moléculas pequeñas que van más avanzados en cuanto a investigaciones, los estudios relacionados a los miARNs y los lncARNs aún están en fases preclínicas iniciales y, debido a la gran cantidad de potenciales candidatos que pueden ser objetivos terapéuticos, las investigaciones futuras deben enfocarse en el descubrimiento de algún mecanismo que permita inhibir a varios miARNs o lncARNs a la vez con el fin de atacar o sobreexpresar diferentes componentes de la vía Wnt canónica al mismo tiempo, y así conseguir una estrategia más potente y sólida y, en el caso de los miARNs supresores de tumores que se encuentran disminuidos en COCE, se deben seguir realizando más estudios para evaluar estrategias plausibles que permitan sobreexpresarlos. En esa línea Li et al. (Li et al., 2020), diseñaron un oligonucleótido antisentido (ASO) modificado con ácido nucleico bloqueado (LNA) dirigido contra el lncARN oncogénico, AC104041.1, que se encuentra sobreexpresado en CCECC y favorece la actividad de la vía Wnt/ β -catenina al aumentar la estabilidad del ligando Wnt2b.

Los ASO son análogos sintéticos de ADN monocatenario que se unen a los ARN diana y conducen a su eliminación (Bennett & Swayze, 2010). Gracias a la acción del LNA-ASO en contra de AC104041.1, junto con la acción de la salinomicina; fármaco que se sabe que tiene un efecto clave en las CMC al inhibir a la vía de señalización Wnt/ β -catenina a través del bloqueo del correceptor LRP6 (Lu & Li, 2014) se logró inhibir la tumorigénesis tanto *in vitro* como *in vivo*, lo que indica que el lncARN AC104041.1 podría ser un nuevo objetivo potencial para el tratamiento de CCECC y que el LNA-ASO específico de AC104041.1 puede ser un fármaco anticanceroso novedoso para prevenir el crecimiento tumoral y la metástasis en CCECC. Además, el tratamiento combinado con salinomicina y LNA-ASO de AC104041.1 provocó mejores resultados en la disminución de la tumorigénesis y las señales de β -catenina nuclear fueron significativamente más bajas que al usar cualquiera de los agentes por separado, por lo tanto, investigaciones futuras podrían diseñar y evaluar la acción de diferentes LNA-ASO

dirigidos contra los lncARNs oncogénicos identificados en COCE que han demostrado tener un papel activador de la vía de señalización Wnt/ β -catenina en conjunto con otros fármacos que tienen participación contra esta vía como; la salinomicina, para obtener mejores resultados.

Otro estudio que evaluó a los ncARNs y postuló un agente farmacológico como tratamiento fue el de Zhang et al. (Zhang et al., 2019), quienes identificaron la capacidad de la quercetina como agente anticancerígeno al inducir la expresión de miR-22; el cual actúa como un supresor de tumores en COCE, mediante la regulación negativa de Wnt1 por interacción directa. La quercetina es un flavonoide bioactivo que posee múltiples efectos farmacológicos como antioxidante, antibacteriano, antiinflamatorio y actividades anti-virales (Anand David et al., 2016). Y, en estudios previos, también ha sido documentada como un posible agente antitumoral en varios carcinomas (Rauf et al., 2018). Sin embargo, la base molecular de la quercetina aún no está bien definida en COCE y este estudio aporta valiosa información sobre su mecanismo de acción y su implicancia en la vía de señalización Wnt/ β -catenina. Por lo tanto, estudios futuros que evalúen a los ncARNs en COCE tienen la posibilidad de incorporar la actividad de la quercetina como coadyuvante durante el desarrollo de nuevos agentes dirigidos a los ncARNs con el fin de obtener resultados más potentes gracias a su capacidad de disminuir la actividad de la vía Wnt/ β -catenina al regular negativamente a Wnt1 a través de la sobreexpresión de miR-22.

La estrategia terapéutica dirigida contra la vía de señalización Wnt/ β -catenina en COCE más reciente identificada en esta revisión es el uso de agentes antimitóticos (MTA) los cuales se utilizan ampliamente para la quimioterapia contra el cáncer. Los MTA impiden que los microtúbulos funcionen correctamente, con el objetivo de impedir que las células cancerosas se multipliquen (Jordan & Wilson, 2004). Kumari et al. (Kumari et al., 2021), demostraron que en células COCE-L los MTA inhiben la señalización de Wnt/ β -catenina aumentando los niveles de APC y Axin, y, disminuyendo los niveles Dvl1. Además, se debe destacar que mediante modelos *in vivo*, C12 suprimió el crecimiento de xenoinjertos en ratones sin causar ninguna toxicidad obvia. Por otro lado, β -catenina para ser transportada al núcleo depende de la interacción física con la subunidad de kinesina-2; Kif3a, una proteína

motora que permite el movimiento sobre los microtúbulos, es por esto que tras la interrupción de la organización de los microtúbulos provocada por los MTA, la localización nuclear de β -catenina es reducida de manera significativa (Kumari et al., 2021). Por lo tanto, en carcinomas que presentan actividad anormal de la vía Wnt/ β -catenina, como lo son los CCECC, el uso de estos agentes podría mostrar mejores resultados que en otras neoplasias que no presentan alteración de esta vía.

Además, al evaluar el uso combinado de MTA con el inhibidor de Porcn, IWP-2 y el estabilizador de Axin, IWR-1, se provocó un aumento sobre la muerte celular de un 50% a un 80% aproximadamente. (Kumari et al., 2021). Por lo tanto, el uso de esta estrategia terapéutica promete excelentes resultados en COCE-L. Ahora bien, para evaluar cualquier agente quimiopreventivo el enriquecimiento de CMC de COCE en las experimentaciones es esencial, ya que son las CMC las que finalmente participan en la resistencia farmacológica y en la recidiva de los carcinomas.

Los estudios posteriores que evalúen agentes farmacológicos en contra de la vía de señalización Wnt/ β -catenina en COCE debieran ir enfocados en la realización de experimentación *in vivo*, no obstante, es importante destacar que los estudios expuestos en esta revisión utilizaron niveles quimiopreventivos micromolares, que probablemente no serían alcanzables en el sitio objetivo mediante la administración sistémica del fármaco. Por lo tanto, se debe evaluar una opción más dirigida. Considerando la anatomía de la cavidad oral, es posible realizar la administración farmacológica de manera local sobre las lesiones utilizando, por ejemplo; parches intraorales (Holpuch et al., 2012) obteniendo también el beneficio de evitar efectos sistémicos adversos relacionados con el fármaco.

Por otro lado, aunque la activación aberrante de esta vía es un mecanismo bien estudiado en CCECC y COCE, su relevancia en lesiones orales potencialmente malignas sigue siendo poco conocida. En esta revisión logramos identificar sólo dos estudios que investigaron a la vía Wnt/ β -catenina como posible estrategia terapéutica quimiopreventiva en displasia epitelial oral y, se debe destacar que ambos son de autoría chilena y son de nuestro grupo de investigación.

Reyes et al. (Reyes et al., 2019), demostraron por primera vez que en displasia oral se encuentra activa la vía Wnt/ β -catenina a través de Wnt3a. Además,

es importante mencionar, que estudios previos del mismo grupo mostraron que la expresión de β -catenina nuclear se encuentra en el 100% de muestras de displasia epitelial moderada/severa y que, cuando se analizan muestras de COCE, este porcentaje es menor (Reyes et al., 2015), los autores exponen que una posible explicación de este suceso puede ser que la activación anormal de esta vía de señalización sea necesaria en la displasia epitelial oral moderada/severa, es decir, en las primeras etapas de la carcinogénesis oral, donde se requiere que las células tengan una alta tasa de proliferación, mientras que cuando ya se establece el COCE disminuye la actividad de la vía Wnt canónica y por consiguiente disminuye la presencia de β -catenina nuclear. Este supuesto, que debe ser estudiado, da cuenta de lo increíblemente relevante que es el aumentar las investigaciones enfocadas en alguna estrategia terapéutica en la displasia oral que intervengan en la vía de señalización Wnt/ β -catenina para evitar que las lesiones avancen hasta COCE, ya que sería en la displasia oral que la inhibición de esta vía tendría mayores resultados quimiopreventivos. En este marco, al ser Wnt3a el activador de la vía Wnt/ β -catenina en displasia oral, este ligando podría ser una diana terapéutica para evitar el avance a COCE y, como se ha expuesto en los artículos identificados en esta revisión, se podría regular a la baja a Wnt3a con algún inhibidor de Porcn, como C-59 o como WNT974 que es el más avanzado en estudios clínicos, o también, los inhibidores de FZD; OMP-54F28 y OMP-18R5, que han demostrado disminuir los niveles de Wnt3a en CMC de CCECC *in vivo*. (Le et al., 2019).

Por otra parte, Reyes et al. (Reyes et al., 2020), evaluaron los mecanismos implicados en la translocación nuclear de β -catenina en la displasia oral. Se sabe que el secuestro endosómico de componentes del complejo de destrucción es necesario para la translocación nuclear de β -catenina (Taelman et al., 2010) y, en ese marco, se identificó a Rab5; una proteína endosomal que controla el tráfico endocítico, concluyendo que la acumulación nuclear de β -catenina y la expresión de genes diana en la displasia oral, se debe a un mayor reclutamiento del complejo de destrucción dentro de los endosomas tempranos, que depende de la activación de Rab5, por lo que otra estrategia terapéutica inhibiendo a Rab5 podría disminuir la activación de la vía Wnt/ β -catenina en displasia oral.

7) CONCLUSIONES

Múltiples son las estrategias terapéuticas reportadas en la literatura que se dirigen contra los componentes de la vía de señalización Wnt/ β -catenina en COCE y, en menor medida, en displasia oral.

En esta revisión identificamos tres grandes estrategias terapéuticas, la primera de ellas enfocada en inhibir o sobreexpresar moléculas; donde la terapia dirigida contra miARNs y lncARNs dependientes a la vía Wnt/ β -catenina en COCE es el que ha tenido más publicaciones en los últimos años. Esta reciente evidencia da cuenta del potencial de dirigirse a los miARNs y lncARNs y su gran implicancia con la vía de señalización Wnt/ β -catenina, lo cual aporta valiosa información sobre los procesos implicados en la activación anormal de esta vía de señalización en COCE. También, dentro de este primer grupo se encuentra la estrategia terapéutica de inhibir proteínas de la vía Wnt/ β -catenina como FZD2 y Wnt3a, este último tanto en COCE como en displasia. Por otro lado, otras proteínas relacionadas con la vía Wnt/ β -catenina que se encuentran aumentadas en carcinogénesis oral y que son factibles de inhibir como estrategia terapéutica son: Twist1, CD200, el eje Rspo-LGR4 y c-Met en COCE, mientras que en displasia se encuentra aumentado Rab5, proteína que al ser inhibida disminuye la actividad de la vía Wnt/ β -catenina.

La segunda estrategia terapéutica identificada es el uso de fármacos que se dirigen contra componentes de la vía Wnt/ β -catenina como los MTA, el crisofanol, la quercetina, la fenretinida, la NQC y los oligonucleótidos antisentido en combinación con la salinomicina, todos investigados en COCE o en CCECC.

La tercera estrategia terapéutica identificada, consiste en el uso de inhibidores de moléculas pequeñas relacionadas con Wnt, donde la estrategia de inhibir a Porcn es el enfoque terapéutico dirigido contra la vía Wnt/ β -catenina más avanzado y con más opciones de convertirse en una terapia farmacológica para COCE. Otras estrategias dentro de este tercer grupo son la inhibición de CBP/ β -catenina con PRI-724 o ICG-001, además de otros enfoques como inhibir la transcripción mediada por β -catenina con ICRT-3, inhibir los receptores FZD con OMP-54F28 y OMP-18R5 e inhibir la enzima tanquirasa con XAV939 bioconjugado con AuNP.

En esta revisión identificamos que la amplia mayoría de las investigaciones relacionadas con el tema se centran en el carcinoma oral, y sólo un 7,2% (2 estudios) investigaron posibles estrategias terapéuticas relacionadas con la vía Wnt/ β -catenina en displasia oral. Resulta importante que las futuras investigaciones avancen en la búsqueda de enfoques terapéuticos que inhiban la vía Wnt/ β -catenina en displasia oral ya que gracias a lo que se ha reportado en la literatura se puede inferir que es en esta etapa temprana de la carcinogénesis oral en donde la vía Wnt/ β -catenina cumple un rol fundamental en la proliferación celular. Por lo tanto, la intervención en la etapa de displasia oral tendría mayores resultados quimiopreventivos.

8) REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Afifi, M. M., Austin, L. A., Mackey, M. A., & El-Sayed, M. A. (2014). XAV939: From a small inhibitor to a potent drug bioconjugate when delivered by gold nanoparticles. *Bioconjugate Chemistry*, 25(2), 207. <https://doi.org/10.1021/BC400271X>
- Ai, Y., Wu, S., Zou, C., & Wei, H. (2020). LINC00941 promotes oral squamous cell carcinoma progression via activating CAPRN2 and canonical WNT/ β -catenin signaling pathway. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, 24(18), 10512–10524. <https://doi.org/10.1111/jcmm.15667>
- An, S. M., Ding, Q., Zhang, J., Xie, J., & Li, L. (2014). Targeting stem cell signaling pathways for drug discovery: advances in the Notch and Wnt pathways. *Science China Life Sciences* 2014 57:6, 57(6), 575–580. <https://doi.org/10.1007/S11427-014-4665-7>
- Anand David, A. V., Arulmoli, R., & Parasuraman, S. (2016). Overviews of biological importance of quercetin: A bioactive flavonoid. *Pharmacognosy Reviews*, 10(20), 84–89. <https://doi.org/10.4103/0973-7847.194044>
- Anastasiadou, E., Jacob, L. S., & Slack, F. J. (2017). Non-coding RNA networks in cancer. *Nature Reviews Cancer* 2017 18:1, 18(1), 5–18. <https://doi.org/10.1038/NRC.2017.99>
- Barrott, J. J., Cash, G. M., Smith, A. P., Barrow, J. R., & Murtaugh, L. C. (2011). Deletion of mouse Porcn blocks Wnt ligand secretion and reveals an ectodermal etiology of human focal dermal hypoplasia/Goltz syndrome. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 108(31), 12752–12757. <https://doi.org/10.1073/PNAS.1006437108>
- Bennett, C. F., & Swayze, E. E. (2010). RNA Targeting Therapeutics: Molecular Mechanisms of Antisense Oligonucleotides as a Therapeutic Platform. <http://Dx.Doi.Org/10.1146/Annurev.Pharmtox.010909.105654>, 50, 259–293. <https://doi.org/10.1146/ANNUREV.PHARMTOX.010909.105654>
- Biechele, S., Cox, B. J., & Rossant, J. (2011). Porcupine homolog is required for

- canonical Wnt signaling and gastrulation in mouse embryos. *Developmental Biology*, 355(2), 275–285. <https://doi.org/10.1016/J.YDBIO.2011.04.029>
- Bray, F., Ferlay, J., Soerjomataram, I., Siegel, R. L., Torre, L. A., & Jemal, A. (2018). Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 68(6), 394–424. <https://doi.org/10.3322/caac.21492>
- Castilho, R. M., & Gutkind, J. S. (2014). The Wnt/ β -catenin Signaling Circuitry in Head and Neck Cancer. *Molecular Determinants of Head and Neck Cancer*, 199–214. https://doi.org/10.1007/978-1-4614-8815-6_10
- Chang, Y.-W., Su, Y.-J., Hsiao, M., Wei, K.-C., Lin, W.-H., Liang, C.-J., Chen, S.-C., & Lee, J.-L. (2015). Diverse Targets of β -Catenin during the Epithelial–Mesenchymal Transition Define Cancer Stem Cells and Predict Disease Relapse. *Cancer Research*, 75(16), 3398–3410. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-14-3265>
- Chen, B., Dodge, M. E., Tang, W., Lu, J., Ma, Z., Fan, C.-W., Wei, S., Hao, W., Kilgore, J., Williams, N. S., Roth, M. G., Amatruda, J. F., Chen, C., & Lum, L. (2009). Small molecule-mediated disruption of Wnt-dependent signaling in tissue regeneration and cancer. *Nature Chemical Biology*, 5(2), 100. <https://doi.org/10.1038/NCHEMBIO.137>
- Chung, P.-C. C., Hsieh, P.-C. C., Lan, C.-C. C., Hsu, P.-C. C., Sung, M.-Y. Y., Lin, Y.-H. H., Tzeng, I.-S. S., Chiu, V., Cheng, C.-F. F., & Kuo, C.-Y. Y. (2020). Role of Chrysophanol in Epithelial-Mesenchymal Transition in Oral Cancer Cell Lines via a Wnt-3-Dependent Pathway. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2020, 1–9. <https://doi.org/10.1155/2020/8373715>
- Cui, S.-H., Hu, X.-D., & Yan, Y. (2021). Wnt/ β -catenin signaling pathway participates in the effect of miR-626 on oral squamous cell carcinoma by targeting RASSF4. *Journal of Oral Pathology & Medicine*. <https://doi.org/10.1111/JOP.13216>
- Curtin, J. C., Lorenzi, M. V., Curtin, J. C., & Lorenzi, M. V. (2010). Drug Discovery Approaches to Target Wnt Signaling in Cancer Stem Cells. *Oncotarget*, 1(7), 563–577. <https://doi.org/10.18632/ONCOTARGET.191>

- Daniels, D. L., & Weis, W. I. (2002). ICAT Inhibits β -Catenin Binding to Tcf/Lef-Family Transcription Factors and the General Coactivator p300 Using Independent Structural Modules. *Molecular Cell*, 10(3), 573–584. [https://doi.org/10.1016/S1097-2765\(02\)00631-7](https://doi.org/10.1016/S1097-2765(02)00631-7)
- Dickson, E. J. (2017). RASSF4: Regulator of plasma membrane PI(4,5)P2. *The Journal of Cell Biology*, 216(7), 1879. <https://doi.org/10.1083/JCB.201706042>
- Ding, Y., Xi, Y., Chen, T., Wang, J., Tao, D., Wu, Z.-L., Li, Y., Li, C., Zeng, R., & Li, L. (2008). Caprin-2 enhances canonical Wnt signaling through regulating LRP5/6 phosphorylation. *The Journal of Cell Biology*, 182(5), 865. <https://doi.org/10.1083/JCB.200803147>
- Dong, X., & Mumper, R. J. (2010). Nanomedicinal strategies to treat multidrug-resistant tumors: current progress. *Nanomedicine (London, England)*, 5(4), 597. <https://doi.org/10.2217/NNM.10.35>
- Entz-Werle, N., Lavaux, T., Metzger, N., Stoetzel, C., Lasthaus, C., Marec, P., Kalifa, C., Brugieres, L., Pacquement, H., Schmitt, C., Tabone, M.-D., Gentet, J.-C., Lutz, P., Babin, A., Oudet, P., Gaub, M. P., & Perrin-Schmitt, F. (2007). Involvement of MET/TWIST/APC Combination or the Potential Role of Ossification Factors in Pediatric High-Grade Osteosarcoma Oncogenesis. *Neoplasia (New York, N.Y.)*, 9(8), 678. <https://doi.org/10.1593/NEO.07367>
- 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)
- García-Martín, J. M., Varela-Centelles, P., González, M., Seoane-Romero, J. M., Seoane, J., & García-Pola, M. J. (2019). Epidemiology of oral cancer. In *Oral Cancer Detection: Novel Strategies and Clinical Impact* (pp. 81–93). Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-319-61255-3_3
- Gentile, A., Trusolino, L., & Comoglio, P. M. (2008). The Met tyrosine kinase receptor in development and cancer. *Cancer and Metastasis Reviews* 27:1, 27(1), 85–94. <https://doi.org/10.1007/S10555-007-9107-6>

- Giles, R. H., Van Es, J. H., & Clevers, H. (2003). Caught up in a Wnt storm: Wnt signaling in cancer. In *Biochimica et Biophysica Acta - Reviews on Cancer* (Vol. 1653, Issue 1, pp. 1–24). Elsevier. [https://doi.org/10.1016/S0304-419X\(03\)00005-2](https://doi.org/10.1016/S0304-419X(03)00005-2)
- Gonsalves, F. C., Klein, K., Carson, B. B., Katz, S., Ekas, L. A., Evans, S., Nagourney, R., Cardozo, T., Brown, A. M. C., & Das Gupta, R. (2011). An RNAi-based chemical genetic screen identifies three small-molecule inhibitors of the Wnt/wingless signaling pathway. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 108(15), 5954–5963. <https://doi.org/10.1073/PNAS.1017496108/-/DCSUPPLEMENTAL/PNAS.201017496SI.PDF>
- Graham, T. A., Clements, W. K., Kimelman, D., & Xu, W. (2002). The Crystal Structure of the β -Catenin/ICAT Complex Reveals the Inhibitory Mechanism of ICAT. *Molecular Cell*, 10(3), 563–571. [https://doi.org/10.1016/S1097-2765\(02\)00637-8](https://doi.org/10.1016/S1097-2765(02)00637-8)
- Gundersen, G. G., & Cook, T. A. (1999). Microtubules and signal transduction. *Current Opinion in Cell Biology*, 11(1), 81–94. [https://doi.org/10.1016/S0955-0674\(99\)80010-6](https://doi.org/10.1016/S0955-0674(99)80010-6)
- Gurney, A., Axelrod, F., Bond, C. J., Cain, J., Chartier, C., Donigan, L., Fischer, M., Chaudhari, A., Ji, M., Kapoun, A. M., Lam, A., Lazetic, S., Ma, S., Mitra, S., Park, I.-K., Pickell, K., Sato, A., Satyal, S., Stroud, M., ... Hoey, T. (2012). Wnt pathway inhibition via the targeting of Frizzled receptors results in decreased growth and tumorigenicity of human tumors. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 109(29), 11717. <https://doi.org/10.1073/PNAS.1120068109>
- Holpuch, A. S., Phelps, M. P., Desai, K.-G. H., Chen, W., Koutras, G. M., Han, B. B., Warner, B. M., Pei, P., Seghi, G. A., Tong, M., Border, M. B., Fields, H. W., Stoner, G. D., Larsen, P. E., Liu, Z., Schwendeman, S. P., & Mallery, S. R. (2012). Evaluation of a mucoadhesive fenretinide patch for local intraoral delivery: a strategy to reintroduce fenretinide for oral cancer chemoprevention.

Carcinogenesis, 33(5), 1098. <https://doi.org/10.1093/CARCIN/BGS122>

- Huang, L., Luo, E.-L., Xie, J., Gan, R.-H., Ding, L.-C., Su, B.-H., Zhao, Y., Lin, L.-S., Zheng, D.-L., & Lu, Y.-G. (2019). FZD2 regulates cell proliferation and invasion in tongue squamous cell carcinoma. *International Journal of Biological Sciences*, 15(11), 2330. <https://doi.org/10.7150/IJBS.33881>
- Huang, S.-M. A., Mishina, Y. M., Liu, S., Cheung, A., Stegmeier, F., Michaud, G. A., Charlat, O., Willellette, E., Zhang, Y., Wiessner, S., Hild, M., Shi, X., Wilson, C. J., Mickanin, C., Myer, V., Fazal, A., Tomlinson, R., Serluca, F., Shao, W., ... Cong, F. (2009). Tankyrase inhibition stabilizes axin and antagonizes Wnt signalling. *Nature* 2009 461:7264, 461(7264), 614–620. <https://doi.org/10.1038/nature08356>
- Jordan, M. A., & Wilson, L. (2004). Microtubules as a target for anticancer drugs. *Nature Reviews Cancer* 2004 4:4, 4(4), 253–265. <https://doi.org/10.1038/NRC1317>
- Kartha, V. K., Alamoud, K. A., Sadykov, K., Nguyen, B. C., Laroche, F., Feng, H., Lee, J., Pai, S. I., Varelas, X., Egloff, A. M., Snyder-Cappione, J. E., Belkina, A. C., Bais, M. V., Monti, S., & Kukuruzinska, M. A. (2018). Functional and genomic analyses reveal therapeutic potential of targeting β -catenin/CBP activity in head and neck cancer. *Genome Medicine*, 10(1). <https://doi.org/10.1186/s13073-018-0569-7>
- Kawakita, A., Yanamoto, S., Yamada, S. I., Naruse, T., Takahashi, H., Kawasaki, G., & Umeda, M. (2014). MicroRNA-21 promotes oral cancer invasion via the wnt/ β -catenin pathway by targeting DKK2. *Pathology and Oncology Research*, 20(2), 253–261. <https://doi.org/10.1007/s12253-013-9689-y>
- 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*, 42(4), 505–520. <https://doi.org/10.1007/s13402-019-00440-4>
- Krishnamurthy, N., & Kurzrock, R. (2018). Targeting the Wnt/beta-catenin Pathway in Cancer: Update on Effectors and Inhibitors. *Cancer Treatment Reviews*, 62,

50. <https://doi.org/10.1016/J.CTRV.2017.11.002>

- Kumari, A., Shriwas, O., Sisodiya, S., Santra, M. K., Guchhait, S. K., Dash, R., & Panda, D. (2021). Microtubule-targeting agents impair kinesin-2-dependent nuclear transport of β -catenin: Evidence of inhibition of Wnt/ β -catenin signaling as an important antitumor mechanism of microtubule-targeting agents. *FASEB Journal*, 35(4). <https://doi.org/10.1096/FJ.202002594R>
- Le, P., McDermott, J. D., & Jimeno, A. (2015). Targeting the Wnt pathway in human cancers: therapeutic targeting with a focus on OMP-54F28. *Pharmacology & Therapeutics*, 0, 1. <https://doi.org/10.1016/J.PHARMTHERA.2014.08.005>
- Le, P., Keysar, S. B., Miller, B., Eagles, J. R., Chimed, T.-S., Reisinger, J., Gomez, K. E., Nieto, C., Jackson, B. C., Somerset, H. L., Morton, J. J., Wang, X.-J., & Jimeno, A. (2019). Wnt signaling dynamics in head and neck squamous cell cancer tumor-stroma interactions. *Molecular Carcinogenesis*, 58(3), 398. <https://doi.org/10.1002/MC.22937>
- Li, M., Ding, X., Zhang, Y., Li, X., Zhou, H., Yang, L., Li, Y., Yang, P., Zhang, X., Hu, J., Nice, E., Wu, H., & Xu, H. (2020). Antisense oligonucleotides targeting lncRNA AC104041.1 induces antitumor activity through Wnt2B/ β -catenin pathway in head and neck squamous cell carcinomas. *Cell Death & Disease*, 11(8). <https://doi.org/10.1038/S41419-020-02820-3>
- Liu, B., Chen, W., Cao, G., Dong, Z., Xu, J., Luo, T., & Zhang, S. (2017). MicroRNA-27b inhibits cell proliferation in oral squamous cell carcinoma by targeting FZD7 and Wnt signaling pathway. *Archives of Oral Biology*, 83, 92–96. <https://doi.org/10.1016/J.ARCHORALBIO.2017.07.009>
- Liu, J., Pan, S., Hsieh, M. H., Ng, N., Sun, F., Wang, T., Kasibhatla, S., Schuller, A. G., Li, A. G., Cheng, D., Li, J., Tompkins, C., Pferdekamper, A. M., Steffy, A., Cheng, J., Kowal, C., Phung, V., Guo, G., Wang, Y., ... Harris, J. L. (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). [/pmc/articles/PMC3864356/](https://doi.org/10.1073/pnas.1215111110)
- Logan, C. Y., & Nusse, R. (2004). The Wnt signaling pathway in development and

- disease. In *Annual Review of Cell and Developmental Biology* (Vol. 20, pp. 781–810). Annu Rev Cell Dev Biol. <https://doi.org/10.1146/annurev.cellbio.20.010403.113126>
- Lu, W., & Li, Y. (2014). Salinomycin suppresses LRP6 expression and inhibits both Wnt/ β -catenin and mTORC1 signaling in breast and prostate cancer cells. *Journal of Cellular Biochemistry*, 115(10), 1799. <https://doi.org/10.1002/JCB.24850>
- Ma, Y., Hu, X., Shang, C., Zhong, M., & Guo, Y. (2017). Silencing of long non-coding RNA CCAT2 depressed malignancy of oral squamous cell carcinoma via Wnt/ β -catenin pathway. *Tumor Biology*, 39(7), 1–9. <https://doi.org/10.1177/1010428317717670>
- Mallery, S. R., Wang, D., Santiago, B., Pei, P., Bissonnette, C., Jayawardena, J. A., Schwendeman, S. P., Spinney, R., & Lang, J. (2019). Fenretinide, tocilizumab, and reparixin provide multifaceted disruption of oral squamous cell carcinoma stem cell properties: Implications for tertiary chemoprevention. *Molecular Cancer Therapeutics*, 18(12), 2308–2320. <https://doi.org/10.1158/1535-7163.MCT-19-0361>
- 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>
- Moher, D., Liberati, A., Tetzlaff, J., Altman, D. G., Altman, D., Antes, G., Atkins, D., Barbour, V., Barrowman, N., Berlin, J. A., Clark, J., Clarke, M., Cook, D., D'Amico, R., Deeks, J. J., Devereaux, P. J., Dickersin, K., Egger, M., Ernst, E., ... Tugwell, P. (2009). Preferred reporting items for systematic reviews and meta-analyses: The PRISMA statement. In *PLoS Medicine* (Vol. 6, Issue 7). Public Library of Science. <https://doi.org/10.1371/journal.pmed.1000097>
- Nassar, D., & Blanpain, C. (2016). Cancer Stem Cells: Basic Concepts and Therapeutic Implications. <http://Dx.Doi.Org/10.1146/Annurev-Pathol-012615-044438>, 11, 47–76. <https://doi.org/10.1146/ANNUREV-PATHOL-012615->

044438

- Nayak, A., Siddharth, S., Das, S., Nayak, D., Sethy, C., & Kundu, C. N. (2017). Nanoquinacrine caused apoptosis in oral cancer stem cells by disrupting the interaction between GLI1 and β catenin through activation of GSK3 β . *Toxicology and Applied Pharmacology*, 330, 53–64. <https://doi.org/10.1016/j.taap.2017.07.008>
- Network, T. C. G. A. (2015). Comprehensive genomic characterization of head and neck squamous cell carcinomas. *Nature*, 517(7536), 576. <https://doi.org/10.1038/NATURE14129>
- Nusse, R., & Clevers, H. (2017). Wnt/ β -Catenin Signaling, Disease, and Emerging Therapeutic Modalities. *Cell*, 169(6), 985–999. <https://doi.org/10.1016/J.CELL.2017.05.016>
- Oh-Hohenhorst, S. J., & Lange, T. (2021). Role of Metastasis-Related microRNAs in Prostate Cancer Progression and Treatment. *Cancers*, 13(17), 4492. <https://doi.org/10.3390/CANCERS13174492>
- Oliveira, B. S. A. de, de Assis, A. C. C., Souza, N. M., Ferreira, L. F. R., Soriano, R. N., Bilal, M., & Iqbal, H. M. N. (2021). Nanotherapeutic approach to tackle chemotherapeutic resistance of cancer stem cells. *Life Sciences*, 279, 119667. <https://doi.org/10.1016/J.LFS.2021.119667>
- Prasad, S., Ramachandran, S., Gupta, N., Kaushik, I., & Srivastava, S. K. (2020). Cancer cells stemness: A doorstep to targeted therapy. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease*, 1866(4), 165424. <https://doi.org/10.1016/J.BBADIS.2019.02.019>
- Preet, R., Mohapatra, P., Mohanty, S., Sahu, S. K., Choudhuri, T., Wyatt, M. D., & Kundu, C. N. (2012). Quinacrine has anticancer activity in breast cancer cells through inhibition of topoisomerase activity. *International Journal of Cancer*, 130(7), 1660–1670. <https://doi.org/10.1002/IJC.26158>
- Rauf, A., Imran, M., Khan, I. A., ur-Rehman, M., Gilani, S. A., Mehmood, Z., & Mubarak, M. S. (2018). Anticancer potential of quercetin: A comprehensive

review. *Phytotherapy Research*, 32(11), 2109–2130.
<https://doi.org/10.1002/PTR.6155>

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 [Article]. *Oral Oncology*, 94, 58–67.
<https://doi.org/10.1016/j.oraloncology.2019.05.010>

Reyes, M., Peña-Oyarzún, D., Silva, P., Venegas, S., Criollo, A., & Torres, V. (2020). Nuclear accumulation of beta-catenin is associated with endosomal sequestration of the destruction complex and increased activation of Rab5 in oral dysplasia [Unknown]. *FASEB Journal*, 34(3), 4009–4025.
<https://doi.org/10.1096/fj.201902345RR>

Reyes, M., Rojas-Alcayaga, G., Maturana, A., Aitken, J. P., Rojas, C., & Ortega, A. V. (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>

Rudy, S. F., Brenner, J. C., Harris, J. L., Liu, J., Che, J., Scott, M. V., Owen, J. H., Komarck, C. M., Graham, M. P., Bellile, E. L., Bradford, C. R., Prince, M. E., & Carey, T. E. (2016). In vivo Wnt pathway inhibition of human squamous cell carcinoma growth and metastasis in the chick chorioallantoic model. *Journal of Otolaryngology - Head & Neck Surgery*, 45(1). <https://doi.org/10.1186/S40463-016-0140-8>

Santelices Ch., M. J., Cárcamo I., M., Brenner A., C., & Montes F., R. (2016). Cáncer oral en Chile. Revisión de la literatura. In *Revista Médica de Chile* (Vol. 144, Issue 6, pp. 766–770). Sociedad Médica de Santiago.
<https://doi.org/10.4067/S0034-98872016000600011>

Scheel, C., Eaton, E. N., Li, S. H.-J., Chaffer, C. L., Reinhardt, F., Kah, K.-J., Bell, G., Guo, W., Rubin, J., Richardson, A. L., & Weinberg, R. A. (2011). Paracrine and Autocrine Signals Induce and Maintain Mesenchymal and Stem Cell States in the Breast. *Cell*, 145(6), 926–940.
<https://doi.org/10.1016/J.CELL.2011.04.029>

- Shiah, S. G., Hsiao, J. R., Chang, W. M., Chen, Y. W., Jin, Y. T., Wong, T. Y., Huang, J. S., Tsai, S. T., Hsu, Y. M., Chou, S. T., Yen, Y. C., Jiang, S. S., Shieh, Y. S., Chang, I. S., Hsiao, M., & Chang, J. Y. (2014). Downregulated miR329 and miR410 promote the proliferation and invasion of oral squamous cell carcinoma by targeting Wnt-7b. *Cancer Research*, *74*(24), 7560–7572. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-14-0978>
- Shin, S. P., Goh, A. R., Kang, H. G., Kim, S. J., Kim, J. K., Kim, K. T., Lee, J. H., Bae, Y. S., Jung, Y. S., & Lee, S. J. (2019). CD200 induces epithelial-to-mesenchymal transition in head and neck squamous cell carcinoma via B-catenin-mediated nuclear translocation. *Cancers*, *11*(10). <https://doi.org/10.3390/cancers11101583>
- Sogutlu, F., Kayabasi, C., Ozmen Yelken, B., Asik, A., Gasimli, R., Dogan, F., Yilmaz Süslüer, S., Biray Avci, C., & Gunduz, C. (2019). The effect of ICRT-3 on Wnt signaling pathway in head and neck cancer. *Journal of Cellular Biochemistry*, *120*(1), 380–395. <https://doi.org/10.1002/jcb.27393>
- Stenmark, H. (2009). Rab GTPases as coordinators of vesicle traffic. *Nature Reviews Molecular Cell Biology* *2009* *10*:8, *10*(8), 513–525. <https://doi.org/10.1038/nrm2728>
- Sun, S., Liu, S., Duan, S. Z., Zhang, L., Zhou, H., Hu, Y., Zhou, X., Shi, C., Zhou, R., & Zhang, Z. (2014). Targeting the c-Met/FZD8 Signaling Axis Eliminates Patient-Derived Cancer Stem-like Cells in Head and Neck Squamous Carcinomas. *Cancer Research*, *74*(24), 7546–7559. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-14-0826>
- Sun, S., & Wang, Z. (2011). Head neck squamous cell carcinoma c-Met+ cells display cancer stem cell properties and are responsible for cisplatin-resistance and metastasis. *International Journal of Cancer*, *129*(10), 2337–2348. <https://doi.org/10.1002/IJC.25927>
- Taelman, V. F., Dobrowolski, R., Plouhinec, J. L., Fuentealba, L. C., Vorwald, P. P., Gumper, I., Sabatini, D. D., & De Robertis, E. M. (2010). Wnt Signaling Requires Sequestration of Glycogen Synthase Kinase 3 inside Multivesicular

Endosomes. *Cell*, 143(7), 1136–1148.
<https://doi.org/10.1016/J.CELL.2010.11.034>

- Tago, K., Nakamura, T., Nishita, M., Hyodo, J., Nagai, S., Murata, Y., Adachi, S., Ohwada, S., Morishita, Y., Shibuya, H., & Akiyama, T. (2000). Inhibition of Wnt signaling by ICAT, a novel β -catenin-interacting protein. *Genes & Development*, 14(14), 1741. /pmc/articles/PMC316784/
- Takebe, N., Harris, P. J., Warren, R. Q., & Ivy, S. P. (2010). Targeting cancer stem cells by inhibiting Wnt, Notch, and Hedgehog pathways. *Nature Reviews Clinical Oncology* 2011 8:2, 8(2), 97–106. <https://doi.org/10.1038/nrclinonc.2010.196>
- Takemaru, K.-I., Yamaguchi, S., Lee, Y. S., Zhang, Y., Carthew, R. W., & Moon, R. T. (2003). Chibby, a nuclear β -catenin-associated antagonist of the Wnt/Wingless pathway. *Nature* 2003 422:6934, 422(6934), 905–909. <https://doi.org/10.1038/nature01570>
- Thiery, J. P., & Sleeman, J. P. (2006). Complex networks orchestrate epithelial–mesenchymal transitions. *Nature Reviews Molecular Cell Biology* 2006 7:2, 7(2), 131–142. <https://doi.org/10.1038/nrm1835>
- Tilakaratne, W. M., Jayasooriya, P. R., Jayasuriya, N. S., & De Silva, R. K. (2019). Oral epithelial dysplasia: Causes, quantification, prognosis, and management challenges. In *Periodontology 2000* (Vol. 80, Issue 1, pp. 126–147). Blackwell Munksgaard. <https://doi.org/10.1111/prd.12259>
- Tiwari, P. M., Vig, K., Dennis, V. A., & Singh, S. R. (2011). Functionalized Gold Nanoparticles and Their Biomedical Applications. *Nanomaterials*, 1(1), 31. <https://doi.org/10.3390/NANO1010031>
- Warnakulasuriya, S., Johnson, N. W., & Van Der Waal, I. (2007). Nomenclature and classification of potentially malignant disorders of the oral mucosa. In *Journal of Oral Pathology and Medicine* (Vol. 36, Issue 10, pp. 575–580). J Oral Pathol Med. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0714.2007.00582.x>
- Warnakulasuriya, S., & Greenspan, J. S. (2020). *Epidemiology of Oral and Oropharyngeal Cancers* (pp. 5–21). Springer, Cham.

https://doi.org/10.1007/978-3-030-32316-5_2

- Wei, Z., Wang, Y. Y., Jiang, L., Ji, N., Wang, Y. Y., Chen, F., Li, T., Li, J., Xu, H., Zeng, X., & Chen, Q. (2020). miR-223 regulates oral squamous cell carcinoma metastasis through the Wnt/ β -catenin signaling pathway. *Oral Oncology*, *109*, 104941. <https://doi.org/10.1016/J.ORALONCOLOGY.2020.104941>
- Weidle, U. H., & Nopora, A. (2021). MicroRNAs Involved in Small-cell Lung Cancer as Possible Agents for Treatment and Identification of New Targets. *Cancer Genomics & Proteomics*, *18*(5), 591–603. <https://doi.org/10.21873/CGP.20283>
- Weng, J., Zhang, H., Wang, C., Liang, J., Chen, G., Li, W., Tang, H., & Hou, J. (2017). miR-373-3p Targets DKK1 to Promote EMT-Induced Metastasis via the Wnt/ β -Catenin Pathway in Tongue Squamous Cell Carcinoma. *BioMed Research International*, *2017*. <https://doi.org/10.1155/2017/6010926>
- Willert, K., & Nusse, R. (2012). Wnt proteins. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, *4*(9). <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a007864>
- Zhang, C., Hao, Y., Sun, Y., & Liu, P. (2019). Quercetin suppresses the tumorigenesis of oral squamous cell carcinoma by regulating microRNA-22/WNT1/ β -catenin axis. *Journal of Pharmacological Sciences*, *140*(2), 128–136. <https://doi.org/10.1016/j.jphs.2019.03.005>
- Zhang, L., Song, Y., Ling, Z., Li, Y., Ren, X., Yang, J., Wang, Z., Xia, J., Zhang, W., & Cheng, B. (2019). R-spondin 2-LGR4 system regulates growth, migration and invasion, epithelial-mesenchymal transition and stem-like properties of tongue squamous cell carcinoma via Wnt/ β -catenin signaling. *EBioMedicine*, *44*, 275–288. <https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2019.03.076>
- Zhang, Y., & Wang, X. (2020). Targeting the Wnt/ β -catenin signaling pathway in cancer. *Journal of Hematology & Oncology*, *13*(1), 165. <https://doi.org/10.1186/S13045-020-00990-3>
- Zheng, L., Li, N., Guo, F., Jian, X. C., Jiang, C. H., Yin, P., Min, A. J., & Huang, L. (2015). Twist-related protein 1 enhances oral tongue squamous cell carcinoma cell invasion through β -catenin signalling. *Molecular Medicine Reports*, *11*(3),

2255–2261. <https://doi.org/10.3892/mmr.2014.2904>

Zheng, X., Dai, F., Feng, L., Zou, H., Feng, L., & Xu, M. (2021). Communication Between Epithelial–Mesenchymal Plasticity and Cancer Stem Cells: New Insights Into Cancer Progression. *Frontiers in Oncology*, 11, 617597. <https://doi.org/10.3389/FONC.2021.617597>

9) ANEXOS Y APENDICES

Anexo 1. Lista de verificación de elementos a incluir al informar una revisión sistemática o metanálisis. Pauta protocolo PRISMA.

Sección/ Tema	#	Elemento de lista de comprobación	Reporta do en la página #
TITULO			
Titulo	1	Identifique el informe como una revisión sistemática, un metanálisis o ambos.	Portada
ABSTRACT			
Resumen estructurado	2	Proporcionar un resumen estructurado que incluya, según corresponda: antecedentes; objetivos; fuentes de datos; criterios de elegibilidad del estudio, participantes e intervenciones; estudiar métodos de evaluación y síntesis; resultados; limitaciones; conclusiones e implicaciones de los hallazgos clave; número de registro de revisión sistemática.	1
INTRODUCCIÓN			
Razón Fundamental	3	Describa la justificación de la revisión en el contexto de lo que ya se conoce.	9,10
Objetivos	4	Proporciona una declaración explícita de las preguntas que se abordan con referencia a los participantes, las intervenciones, las comparaciones, los resultados y el diseño del estudio (PICOS).	10
METODOS			
Protocolo y registro	5	Indique si existe un protocolo de revisión, si se puede acceder a él y dónde (por ejemplo, dirección web) y, si está disponible, proporcione información de registro, incluido el número de registro.	N/A
Criterios de admisibilidad	6	Especifique las características del estudio (por ejemplo, PICOS, duración del seguimiento) y las características del informe (por ejemplo, años considerados, idioma, estado de publicación) utilizadas como criterios de elegibilidad, dando la justificación.	11
Fuentes de información	7	Describir todas las fuentes de información (por ejemplo, bases de datos con fechas de cobertura, contacto con los autores de los estudios para identificar estudios adicionales) en la búsqueda y la fecha de la última búsqueda	12
Búsqueda	8	Presentar una estrategia de búsqueda electrónica completa para al menos una base de datos, incluidos los límites utilizados, de modo que pueda repetirse.	12
Selección de estudios	9	Indique el proceso para seleccionar los estudios (es decir, la selección, la elegibilidad, incluida en la revisión sistemática y, si corresponde, incluida en el metaanálisis).	13
Proceso de recopilación de datos	10	Describir el método de extracción de datos de los informes (por ejemplo, formularios piloto, independientemente, por duplicado) y cualquier proceso para obtener y confirmar los datos de los investigadores.	N/A
Elementos de datos	11	Enumere y defina todas las variables para las que se buscaron datos (por ejemplo, PICOS, fuentes de financiación) y cualquier suposición y simplificación realizada.	N/A
Riesgo de sesgo en estudios individuales	12	Describir los métodos utilizados para evaluar el riesgo de sesgo de estudios individuales (incluida la especificación de si esto se hizo a nivel de estudio o de resultado), y cómo se utilizará esta información en cualquier síntesis de datos.	N/A
Medidas de resumen	13	Indique las principales medidas de resumen (por ejemplo, cociente de riesgos, diferencia de medias).	N/A

Síntesis de resultados	14	Describa los métodos de manejo de datos y combinación de resultados de estudios, si se realiza, incluidas las medidas de consistencia (por ejemplo, I ²) para cada metanálisis.	N/A
Riesgo de sesgo entre los estudios	15	Especifique cualquier evaluación del riesgo de sesgo que pueda afectar la evidencia acumulativa (por ejemplo, sesgo de publicación, informe selectivo dentro de los estudios).	N/A
Análisis adicionales	16	Describir métodos de análisis adicionales (por ejemplo, análisis de sensibilidad o de subgrupos, metarregresión), si se realiza, indicando cuáles fueron especificados previamente.	N/A
RESULTADOS			
Selección de los estudios	17	Dar números de estudios examinados, evaluados para la elegibilidad e incluidos en la revisión, con razones para las exclusiones en cada etapa, idealmente con un diagrama de flujo.	14
Características de los estudios	18	Para cada estudio, presente las características para las que se extrajeron los datos (por ejemplo, tamaño del estudio, PICOS, período de seguimiento) y proporcione las citas.	14,15,16
Riesgo de sesgo dentro de los estudios	19	Presentar datos sobre el riesgo de sesgo de cada estudio y, si está disponible, cualquier evaluación a nivel de resultado (ver Ítem 12).	N/A
Resultados de estudios individuales	20	Para todos los resultados considerados (beneficios o daños), presente, para cada estudio: (a) datos resumidos simples para cada grupo de intervención y (b) estimaciones del efecto e intervalos de confianza, idealmente con forest plot.	N/A
Síntesis de los resultados	21	Presentar los resultados de cada metanálisis realizado, incluidos los intervalos de confianza y las medidas de consistencia.	N/A
Riesgo de sesgo entre todos los estudios	22	Presentar los resultados de cualquier evaluación del riesgo de sesgo en todos los estudios (ver ítem 15).	N/A
Análisis adicionales	23	Dar resultados de análisis adicionales, si se realizan (por ejemplo, análisis de sensibilidad o de subgrupos, metarregresión [ver Ítem 16]).	N/A
DISCUSION			
Resumen de la evidencia	24	Resuma los hallazgos principales, incluida la solidez de la evidencia para cada resultado principal; considere su relevancia para los grupos clave (por ejemplo, proveedores de atención médica, usuarios y responsables de la formulación de políticas).	30-40
Limitaciones	25	Discuta las limitaciones a nivel de estudio y resultado (por ejemplo, riesgo de sesgo) y a nivel de revisión (por ejemplo, recuperación incompleta de la investigación identificada, sesgo de notificación).	30-40
Conclusiones	26	Proporcionar una interpretación general de los resultados en el contexto de otras pruebas, e implicaciones para futuras investigaciones.	30-40
FONDOS			
Fondos	27	Describir las fuentes de financiación para el examen sistemático y otro tipo de apoyo (por ejemplo, el suministro de datos); papel de los financiadores para la revisión sistemática.	N/A