

# La vía de señalización Wnt-β-catenina y su relación con cáncer

Alejandra Berenice Ochoa-Hernández,\* Clara Ibet Juárez-Vázquez,\*\*  
Mónica Alejandra Rosales-Reynoso,\*\* Patricio Barros-Núñez\*

## Resumen

La vía de señalización Wnt-β-catenina juega un papel decisivo en los procesos de regulación, diferenciación, proliferación y muerte celular, por lo que es fácil entender que su alteración afecte numerosas anomalías del desarrollo, crecimiento y homeostasis en organismos animales. Las proteínas Wnt forman parte de una numerosa familia de glucoproteínas de secreción que se unen a los receptores Frizzled y a proteínas relacionadas con los receptores de lipoproteínas de baja densidad, proceso que logra estabilizar la β-catenina e iniciar una compleja cascada de señalización relacionada con diferentes mecanismos de regulación génica.

Con la activación o inactivación de oncogenes y genes supresores de tumor se han relacionado diversas alteraciones en diferentes proteínas que participan en la vía canónica de señalización Wnt-β-catenina y en un sinnúmero de proteínas implicadas en un grupo creciente de padecimientos y malformaciones humanas. En esta revisión se describe la relación entre la vía de señalización Wnt-β-catenina con diferentes procesos neoplásicos, y su aplicación en el diagnóstico y pronóstico de cáncer.

**Palabras clave:** Wnt, β-catenina, cáncer, diagnóstico, pronóstico.

## Abstract

The Wnt-β-catenin signalling pathway plays a crucial role in the regulation, differentiation, proliferation and cellular death processes; consequently, alterations in this pathway are involved in numerous abnormalities of development, growth and homeostasis in animal organisms. Wnt proteins include a numerous family of secretion glycoprotein which joint to Frizzled receptors and Low Density Lipoprotein Receptor-related Protein, in order to stabilize the critical β-catenin protein, and to initiate an intricate signaling cascade, which is related to multiple nucleo-cytoplasmatic processes. Alterations in the canonical Wnt-β-catenin signaling pathway have been associated with variations in a number of proteins participating in this route, or with activation / inactivation of oncogenes and tumor suppressor genes, which explain different processes of tumorigenesis, in addition to a number of malformations and human diseases.

This review describes the relations between the Wnt-β-catenin signalling pathway with different neoplastic processes, as well as its application in the diagnosis and prognosis of cancer.

**Key words:** Wnt, β-catenin, cancer, diagnosis, prognosis.

## Introducción

La vía de señalización Wnt-β-catenina juega un papel decisivo en los procesos de regulación, diferenciación, proliferación y muerte celular; como consecuencia está involucrada

en numerosas anomalías del desarrollo embrionario, del crecimiento y la homeostasis. Las proteínas Wnt son glucoproteínas de secreción que actúan como ligandos para estimular vías de transducción de señal mediadas por receptores en organismos vertebrados e invertebrados. Actualmente se conocen cuatro vías de señalización Wnt: 1) vía canónica o Wnt-β-catenina; 2) vía Wnt/Ca<sup>+2</sup> que involucra a la proteína cinasa A; 3) vía de polaridad celular planar, y 4) vía que involucra a la proteína cinasa C e interviene en el proceso de miogénesis. Algunas de las proteínas Wnt activan y modulan la vía canónica, la más importante y mejor estudiada vía de control y regulación citoplasmática relacionada con la proteína β-catenina.<sup>1-4</sup>

La actividad de la vía de señalización Wnt-β-catenina depende de la concentración citoplasmática de β-catenina. Lo normal es que esta proteína se mantenga en bajas concentraciones en el citoplasma, gracias a un proceso de degradación dependiente de ubiquitina-proteosoma. La llegada del ligando Wnt activa la vía e inhibe la fosforilación de β-catenina y, por ende, su degradación por ubiquitina-proteosoma. El incremento de β-catenina citoplasmática permite su entrada al núcleo en donde activa la transcripción

\* División de Genética, Centro de Investigación Biomédica de Occidente. Instituto Mexicano del Seguro Social. Guadalajara, Jalisco. México.

\*\* División de Medicina Molecular, Centro de Investigación Biomédica de Occidente. Instituto Mexicano del Seguro Social. Guadalajara, Jalisco. México.

### Correspondencia:

Dr. en C. Patricio Barros Núñez

División de Genética.

Centro de Investigación Biomédica de Occidente, IMSS. Sierra Mojada 800, colonia Independencia, C.P. 44340, Guadalajara, Jal. México.

Tel.: 33-36683000. Ext.: 31922. Fax. 3336181756  
Correo electrónico: pbarros\_gdl@yahoo.com.mx

Recibido para publicación: 19-05-2011

Aceptado para publicación: 21-10-2011

de un grupo de genes cuyos productos proteicos participan en procesos de división celular, desarrollo embrionario y morfogénesis.

La vía Wnt- $\beta$ -catenina se interrelaciona con un significativo número de vías de señalización celular, entre ellas Notch, Hedgehog, Rac/K-RAS y mTOR, vías que también tienen como objetivo central coordinar el desarrollo de órganos o mantener en homeostasis ciertos tejidos. Así mismo, un grupo importante de moléculas bien conocidas, como el factor de crecimiento fibroblástico (FGF) y el factor de crecimiento transformante beta (TGF- $\beta$ ), también interactúan con Wnt- $\beta$ -catenina, regulando su actividad y el control de procesos celulares específicos. Aunque la activación aberrante de una vía en particular puede resultar en carcinogénesis, estas vías raramente funcionan solas o aisladas. La intercomunicación entre vías de señalización es absolutamente compleja conllevando a diferentes respuestas celulares dependiendo del estímulo externo.<sup>5</sup>

Estas vías juegan papeles preponderantes durante la vida adulta, mantienen la homeostasis de diferentes tejidos como: intestino, mama, piel, sangre, cerebro y regulan los nichos de células madre somáticas. La regulación anormal de la vía Wnt da lugar a proliferación neoplásica en estos mismos tejidos.

Este trabajo intenta revisar el actual estado del conocimiento biológico y molecular de la vía de señalización Wnt- $\beta$ -catenina en relación con el desarrollo de cáncer.

#### Familia de proteínas Wnt

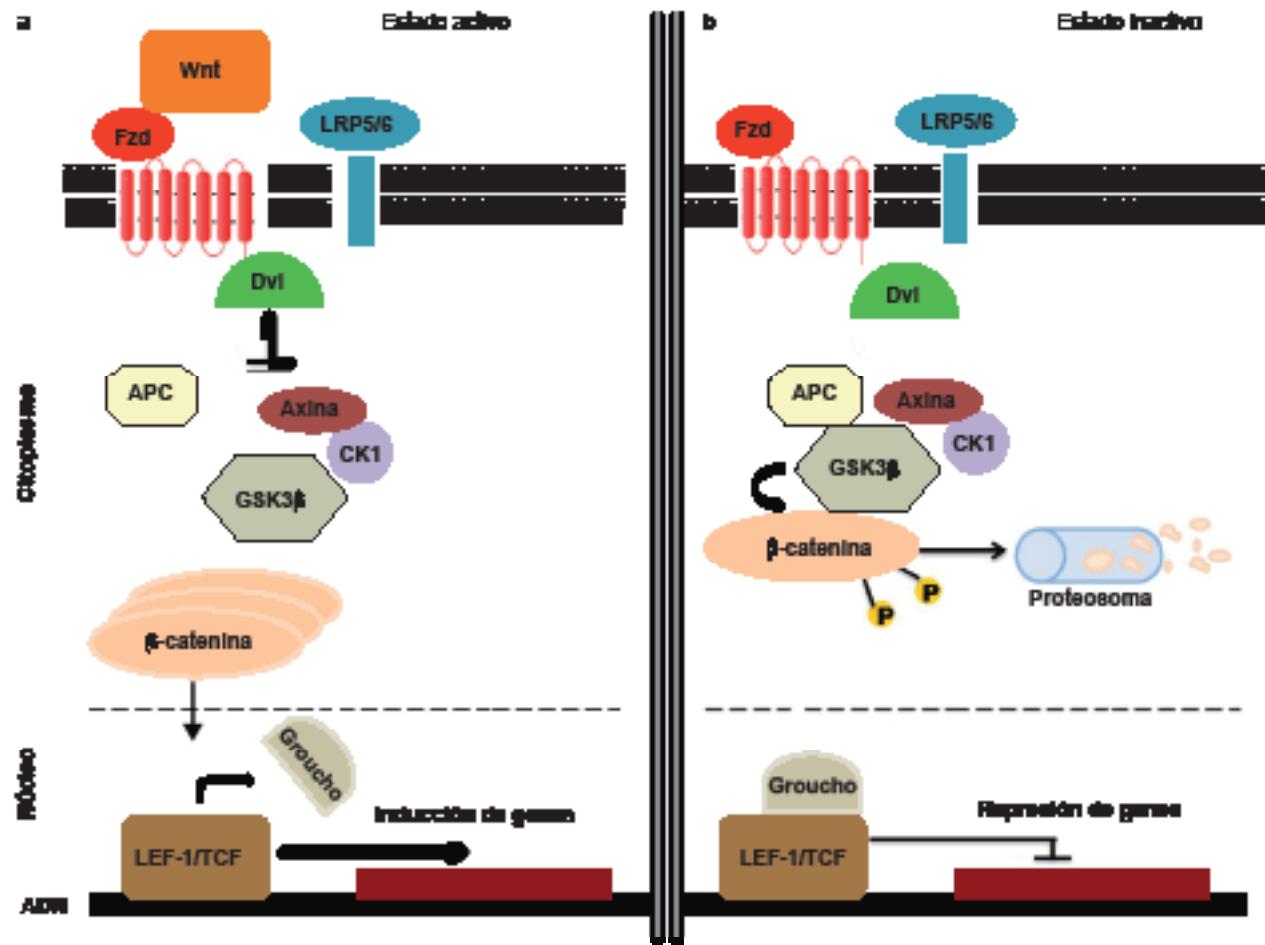
En el ser humano se conocen 19 proteínas codificadas por genes *Wnt* que básicamente se dividen en dos clases: los que realizan su señalización mediante la vía  $\beta$ -catenina y los que utilizan otras vías. El término Wnt fue acuñado para representar al gen del segmento de polaridad Wingless (Wg) en *Drosophila melanogaster* y al proto-oncogen *Int-1* en ratón, que estimula la aparición de tumores de mama cuando se activa por la integración de un virus.<sup>6,7</sup> La vía de señalización Wnt- $\beta$ -catenina se ha vinculado en procesos del desarrollo morfológico y muchos componentes de esta vía se conservan mediante la evolución entre diferentes especies, como *Drosophila*, *Dictyostelium*, *Caenorhabditis*, *Xenopus* y en algunos mamíferos. La señal transmitida por miembros Wnt determina el eje dorsoventral en *Xenopus* y el segmento de polaridad en *Drosophila*, mientras que su función en los mamíferos ha sido menos estudiada. Durante el desarrollo embrionario, la vía de señalización Wnt juega un papel importante en la especificación del destino celular, en los patrones tisulares y en el control de la división celular asimétrica. La expresión de los genes *Wnt* es regulada temporal y espacialmente de forma coordinada.<sup>1,2,8</sup>

#### Mecanismo de señalización de la vía Wnt- $\beta$ -catenina

La activación de la vía se inicia con la secreción de proteínas Wnt y su unión a los receptores de superficie celular Frizzled (Fzd) (Figura 1). Los ligandos Wnt se producen en una amplia variedad de tejidos del organismo que van desde neuronas hasta fibroblastos, y utilizan generalmente un mecanismo de señalización de tipo autocrino. Los receptores Fzd pertenecen a una familia de proteínas con siete regiones transmembranales, son estructuralmente similares a los receptores ligados a proteínas G y tienen un dominio extracelular llamado “dominio rico en cisteína” (CRD), que se acopla a las moléculas Wnt. La activación del receptor Fzd recluta a la proteína Dishevelled (Dvl) que, posteriormente, es fosforilada.<sup>2,9-11</sup> La unión de Wnt con los receptores Fzd requiere, además, la participación de proteínas relacionadas con los receptores de lipoproteínas de baja densidad LRP5 o LRP6.<sup>10,12</sup> La activación de la proteína Dvl bloquea al complejo proteico citoplasmático encargado de la degradación de la proteína  $\beta$ -catenina.

En ausencia del ligando Wnt, las  $\beta$ -cateninas citoplasmáticas son degradadas por un complejo multiproteico que comprende: *a*) la enzima glucógeno sintasa cinasa 3 $\beta$  (GSK-3 $\beta$ ) cuya función es marcar, mediante fosforilación, a las  $\beta$ -cateninas para su ubiquitinación y rápida degradación mediante proteosomas; *b*) una proteína supresora de tumores llamada poliposis coli adenomatosa (APC), que incrementa la afinidad del complejo de degradación hacia las  $\beta$ -cateninas, lo que es necesario para una efectiva fosforilación de  $\beta$ -catenina por GSK-3 $\beta$ ; *c*) una proteína de agregación llamada axina, que es la encargada de mantener unido al complejo de degradación; *d*) la enzima caseína cinasa 1 $\alpha$  (CK1 $\alpha$ ) que, junto con GSK-3 $\beta$ , median la fosforilación de residuos amino terminal de  $\beta$ -catenina, que serán reconocidos por una proteína que contiene repeticiones  $\beta$ -transducina ( $\beta$ -TrCP).<sup>9,10,12</sup>

En el núcleo, en ausencia de la proteína  $\beta$ -catenina, los genes diana de la vía de señalización Wnt son normalmente inhibidos por un complejo proteínico que incluye al factor estimulador linfoides (LEF) y al factor de células T (LEF-1/TCF) unidos a la proteína co-receptora Groucho. La inhibición de la degradación de  $\beta$ -cateninas ocasionada por el ligando Wnt da como resultado la acumulación de dichas proteínas citoplasmáticas y su posterior translocación al núcleo para formar un complejo con LEF-1/TCF, que desplaza a la proteína Groucho y adopta la función de co-activador al inducir la transcripción de los genes diana de la vía Wnt.<sup>12-14</sup> Entre los genes diana activados por esta vía de señalización se encuentran: *c-Myc*, *c-Jun*, *CCND1*, *PPARD*, *FOSL1* y *UTERIN*, relacionados con el crecimiento y la proliferación celular.<sup>9,15-17</sup>



**Figura 1.** Representación esquemática de la vía de señalización Wnt-β-catenina. a) Wnt se une al receptor Fzd y al co-receptor LRP5/6, lo que activa la proteína Dvl que, a su vez, inhibe al complejo APC/Axina/GSK-3 $\beta$ . Como resultado, las β-cateninas no se degradan, se acumulan y migran al núcleo, en donde desplazan la proteína Groucho y forman un complejo con LEF-1/TCF que inicia la transcripción de los genes diana c-MYC, CCND1 y FOSL1, entre otros. b) En ausencia del ligando Wnt, las β-cateninas son reclutadas por el complejo APC/axina/GSK-3 $\beta$  y fosforiladas por GSK-3 $\beta$ . Las β-cateninas fosforiladas son degradadas en los proteosomas.

Debido a la importancia de las diversas funciones biológicas de la vía de señalización Wnt, es fácil imaginar que defectos en la regulación de esta vía lleven al desarrollo de enfermedades humanas.

#### Activación aberrante de la vía Wnt-β-catenina en neoplasias humanas

Los genes Wnt se descubrieron originalmente como una familia de proto-oncogenes. Diversas enfermedades se originan como consecuencia de alteraciones en la vía Wnt; sin embargo, la mayor parte de los estudios se enfocan a su relación con cáncer. De las cuatro vías de señalización Wnt conocidas, la vía Wnt-β-catenina se ha identificado como la

principal responsable de alteraciones celulares que derivan en cáncer.<sup>18</sup> En la actualidad se conocen varios genes reguladores de esta vía que se encuentran alterados en diferentes cánceres humanos. El Cuadro I muestra padecimientos causados o asociados con alteraciones de algunos genes de esta vía. Así mismo, algunos de estos genes en los que se han introducido mutaciones dirigidas, promueven cáncer en roedores u otros modelos animales. En todos estos casos el común denominador es la modificación en la expresión de los genes diana de la vía de señalización Wnt-β-catenina.<sup>19</sup>

Existen también varios reportes en donde la vía Wnt-β-catenina se ha relacionado con enfermedades neurodegenerativas, en la regulación de la densidad ósea, osteoartritis, calcificación de la válvula aórtica y alteración en la proliferación y supervivencia de las células madre.<sup>19,20</sup>

**Cuadro I.** Genes de la vía Wnt-β-catenina y su relación con diferentes tipos de cáncer

Gen	Defecto	Enfermedad o fenotipo asociado	Referencia
APC	Pérdida de función	Poliposis adenomatosa familiar (FAP), cáncer colorrectal esporádico.	20
AXINA1	Pérdida de función	Carcinoma hepatocelular, meduloblastomas esporádicos, cáncer colorrectal esporádico, carcinomas de células escamosas esofágicas.	20
AXINA2	Pérdida de función	Agenesia dental familiar, cáncer colorrectal, carcinoma de células escamosas de esófago, cáncer de colon, meduloblastoma y carcinoma hepatocelular.	2, 9, 20, 24
β-catenina	Mutación oncogénica	Cáncer colorrectal esporádico, carcinoma hepatocelular, melanoma, cáncer endometrial, cáncer de ovario, cáncer gástrico y cáncer de próstata.	9, 20, 36
FRPs	Metilación	Cáncer colorrectal esporádico, cáncer pancreático, carcinoma de células renales.	20
TCF7L2	Actividad alterada	Cáncer de próstata, cáncer de mama y cáncer colorrectal.	12,14,25,26
TCF1	Expresión aumentada	Leucemia linfocítica crónica.	22
WNT16	Expresión aumentada	Leucemia linfocítica crónica.	13, 22
WNT7A	Expresión alterada	Leucemias.	22, 23

#### Wnt-β-catenina en cáncer colorrectal

Aunque la implicación de β-catenina en procesos tumorigénicos fue primeramente establecida en cáncer colorrectal, en el que esta proteína forma un complejo con la proteína APC, la participación en tumorigénesis de APC se descubrió relacionada con el cáncer hereditario poliposis adenomatosa familiar. Se ha reportado que más del 80% de los casos esporádicos de cáncer de colon, así como de las formas hereditarias de poliposis adenomatosa familiar son causadas por mutaciones en el gen APC.<sup>18,21</sup>

Los pacientes con poliposis adenomatosa familiar heredan el alelo defectuoso APC y forman, desde edades tempranas, gran número de pólipos adenomatosos en el colon. Los pólipos individuales resultan del crecimiento clonal de células epiteliales en las que el segundo alelo APC se inactiva.<sup>22</sup> Inevitablemente, los adenomas en pacientes con poliposis adenomatosa familiar dan lugar a la aparición de adenocarcinomas, como consecuencia de la acumulación de mutaciones en oncogenes o genes supresores de tumor, como KRAS, p53 y Smad4. La ausencia de APC provoca una inapropiada estabilización de las β-cateninas, lo que lleva a la transformación de las células epiteliales.<sup>13</sup>

En la proteína APC existen tres sitios de unión a axina; las mutaciones que pierden un fragmento de ADN en estos sitios disminuyen la degradación de β-catenina y ello da lugar a enfermedades que van de leves a severas según el sitio de unión alterado.<sup>18</sup> Las mutaciones en el gen AXINA2 in-

crementan la concentración de β-catenina en varios tipos de cáncer colorrectal asociados con defectos en el sistema de reparación, por mal apareamiento de las hebras de ADN.<sup>10,18</sup> Otros estudios han reportado alteraciones de genes como *TCF7L2*, *c-Myc* y *CCND1* en las células epiteliales intestinales transformadas.

#### Vías de señalización en el microambiente tumoral del cáncer de colon

La vía de señalización Wnt-β-catenina juega también un papel decisivo en la regulación de la regeneración de células madre en diferentes tejidos, entre ellos el intestino; por eso las mutaciones que activan esta vía de señalización se encuentran en la mayor parte de los cánceres de colon.<sup>23</sup> Una pequeña proporción de células de cáncer de colon, con mutaciones que activan la vía Wnt, poseen propiedades similares a las de las células madre. Los estudios realizados por Vermeulen et al., encontraron que sólo las células cancerosas de colon con aumento en la actividad Wnt exhibían propiedades de células madre, incluida la capacidad de formar tumores cuando se inyectaron a modelos murinos. Este aumento en la actividad de la señalización Wnt estaba regulado por factores secretados por los miofibroblastos en el estroma circundante de los tumores colorrectales. Entre los factores más secretados por estas células, y que funcionan como señales co-estimuladoras, se reconoció el factor

de crecimiento hepático (HGF), que activa a la proteína c-Met expresada por las células tumorales y que permite la fosforilación de AKT y de GSK-3β. También fue evidente el incremento en la fosforilación de la proteína β-catenina, proceso que estabiliza e incrementa su concentración citoplasmática, permitiendo su ingreso al núcleo para posteriormente activar la transcripción de los genes diana de esta vía. Estos datos evidencian que los miofibroblastos pueden establecerse y mantener las propiedades de células madre en las células de cáncer de colon mediante la regulación de la vía de señalización Wnt.<sup>23-25</sup>

Esos estudios demuestran que las células madre cancerosas tienen características invasivas y metastásicas y explican porqué células como CD44, CD133, CD24 y CD166 frecuentemente se encuentran en los carcinomas humanos. El mecanismo propuesto por los autores señala que el epitelio de transición mesenquimal posee propiedades de célula madre, y que HGF tiene la capacidad de inducir al epitelio de transición mesenquimal en células tumorales. Del mismo modo, se observó que, *in vitro*, HGF induce rápidamente la acumulación de β-catenina, lo que resulta en incremento de la formación de clonas.<sup>23,24</sup>

Existen otros factores de crecimiento que relacionan y potencian las acciones de la proteína β-catenina. Por ejemplo, algunos cánceres de colon de tipo esporádico tienen mutaciones que activan la GTPasa KRAS (40%). El factor de crecimiento epidermal (EGF) y el factor de crecimiento vascular endotelial (VEGF) activan la vía de señalización Rac/KRAS, que potencia la vía Wnt-β-catenina incrementando el tiempo de permanencia y concentración de la proteína β-catenina en el núcleo. Los adenomas de modelos murinos con cáncer intestinal tienen concentraciones incrementadas del receptor del factor de crecimiento epidermal (EGFR) en los tumores; sin embargo, la inhibición de la señalización del receptor del factor de crecimiento epidermal en humanos mediante el bloqueo con anticuerpos ha provisto una intervención terapéutica efectiva en pacientes con la mutación silvestre KRAS. También es importante señalar los efectos del factor de crecimiento hepático (HGF), que mantiene estable a la proteína β-catenina acumulada en el núcleo.<sup>5,23,24</sup>

### Vía Wnt y leucemias

La influencia de los componentes de la vía de señalización Wnt en procesos donde las células madre hematopoyéticas pierden su pluripotencialidad y adquieren especificidad celular, sugiere que esta vía podría estar alterada en procesos neoplásicos de la médula ósea. Esta posibilidad se demostró recientemente en ensayos experimentales en los que se evidencia que el crecimiento oncogénico en las leucemias mieloideas y linfoides es dependiente de la vía Wnt.<sup>3</sup> La acu-

mulación de β-catenina en las leucemias mieloideas agudas y crónicas demuestra que la vía Wnt regula el crecimiento celular de ambos subtipos. Además, la inhibición de β-catenina a través de la expresión ectópica de axina disminuye la capacidad de remplazar las células leucémicas *in vitro*, lo que sugiere que los precursores de la leucemia mieloide crónica son dependientes de la vía Wnt-β-catenina para su crecimiento y regeneración.<sup>14</sup> Los estudios recientes demuestran que las neoplasias linfoides, sobre todo la leucemia linfocítica crónica (LLC) también son influidas por esta vía de señalización. Las evidencias reportadas al respecto son: *a)* sobre-expresión de TCF1 y CCND1; *b)* el inhibidor farmacológico de la GSK-3 β, SB-216763, activa la transcripción mediada por β-catenina y potencia la supervivencia de los linfocitos; *c)* la señalización Wnt-β-catenina es disminuida por R-etodolaco, en concentraciones que aumentan la apoptosis.<sup>26</sup>

En líneas celulares leucémicas pre-B, con la translocación E2A-PbX, el gen WNT16 está sobre-expresado por lo que podría contribuir a la leucemogénesis. Esta misma situación se ha propuesto para la regulación del crecimiento del mieloma múltiple.<sup>14</sup> WNT7A se ha observado moderadamente expresado en líneas celulares leucémicas (HL-60, K562, MOLT-4, Raji y Daudi), en comparación con líneas celulares de cáncer colorrectal (SW480).<sup>26,27</sup> En modelos murinos la formación de linfomas está relacionada con una posible fosforilación de Dvl a través de la caseína cinasa II.<sup>16</sup>

### Wnt-β-catenina y otros tipos de cáncer

Está demostrado que la vía de señalización Wnt-β-catenina también participa en otros tipos de cáncer como el de páncreas, ovario, próstata, mama y hepatocelular.<sup>19</sup>

Algunos polimorfismos del gen *TCF7L2* se asocian con cáncer de próstata, mama y colorrectal.<sup>15,28-29</sup> Las mutaciones con pérdida de expresión en el gen *AXINA2* se han visto implicadas en el carcinoma de células escamosas de esófago, cáncer de colon, meduloblastoma y carcinoma hepatocelular.<sup>2,19,21</sup> La sobreexpresión del gen Dvl se ha vinculado con lesiones líticas en pacientes con mieloma múltiple.<sup>2</sup> La proteína β-catenina contiene una región rica en residuos serina-treonina que se fosforilan para su posterior degradación en proteosomas. Las mutaciones en estos residuos estabilizan la β-catenina e inducen activación constitutiva de la vía Wnt-β-catenina, que podría contribuir a la patogénesis de todos estos tipos de cáncer.<sup>10</sup>

### Modificaciones epigenéticas y antagonistas de la vía de señalización Wnt asociadas con cáncer

Si bien una amplia variedad de cánceres humanos muestra concentraciones elevadas de la proteína β-catenina nu-

clear como consecuencia de las mutaciones en genes como APC o AXINA,<sup>30</sup> o de los ligandos Wnt (WNT1, WNT2, WNT2B2 y WNT3A),<sup>31</sup> o de los receptores Frizzled (Fzd7 y Fzd10)<sup>32</sup> y de la familia de proteínas Dishevelled,<sup>33</sup> en muchos procesos neoplásicos, alternativamente ocurre la pérdida funcional de reguladores negativos Wnt por metilación del ADN en promotores génicos o por modificaciones en las histonas que causan silenciamiento epigenético, que provoca la activación o amplificación de una señalización Wnt aberrante.<sup>30</sup>

Los antagonistas o inhibidores extracelulares de la vía Wnt actúan en la membrana celular evitando las interacciones ligando-receptor. Se clasifican en dos grupos funcionales: el primero incluye la familia de proteínas secretadas relacionadas con Frizzled (SFRP1-5), el factor inhibidor 1 de Wnt (WIF-1) y la proteína cerberus (CER1), que se unen directamente a los ligandos Wnt. El segundo grupo incluye la familia de proteínas Dickkopf (DKK1-4) que inhiben la señalización uniéndose a los receptores LRP5/6. Hace poco, ambas familias (SFRP y DKK) se relacionaron con la oncogénesis.<sup>34</sup>

El silenciamiento de esta clase de proteínas sobreexpresa a los componentes de la vía Wnt en la membrana celular, permitiendo el incremento de concentraciones celulares de la proteína β-catenina.<sup>35,36</sup>

La sub-expresión de antagonistas extracelulares Wnt, como SFRP1, SFRP2, SFRP4, SFRP5, WIF1, DKK1, DKK2 y DKK3 (Cuadro II), debido a metilación del promotor, correlaciona con activación constitutiva de la vía de señalización Wnt-β-catenina en varios tipos de tumores.<sup>37</sup>

Entre los antagonistas Wnt citosólicos se incluye el “complejo de destrucción” para β-catenina (APC, AXINA 2 y miembros de la familia de genes DACT (Dpr/Frodo), por ejemplo DACT3, que antagonizan a Dvl, un componente central de la vía Wnt.<sup>30</sup>

El silenciamiento epigenético de APC y AXINA 2, mediante metilación de su promotor, genera un mecanismo alternativo que origina la pérdida de función de estos genes en el cáncer colorrectal, mediante la activación constitutiva de los factores de transcripción TCF dependientes de β-catenina.<sup>35,36</sup> La interacción de DACT3 con miembros Dvl, como Dvl2, resulta en degradación de Dvl2 y disminución de β-catenina activada, que funciona como un modulador negativo de la vía de señalización Wnt-β-catenina.<sup>38</sup>

Ciertas proteínas nucleares, similares a las producidas por genes que contienen las cajas SRY (SOX) como SOX7 y SOX17, interactúan directamente con el complejo de transcripción nuclear TCF/LEF y otras proteínas aún no identificadas; por lo tanto, inhiben la transcripción de los

**Cuadro II.** Alteraciones epigenéticas y antagonistas de la vía Wnt/β-catenina en cáncer

Clasificación	Antagonistas de la vía Wnt	Alteraciones epigenéticas	Cánceres
Inhibidores extracelulares de la vía Wnt	Familia de proteínas SFRP (SFRP1, 2, 4, 5)	Metilación del promotor	Pulmón, mesotelioma, leucemias, gástrico, mama, colorrectal, cervical, renal y hepatocelular.
	WIF1	Metilación del promotor	Mama, mesotelioma, pulmón, vejiga, gástrico, nasofaríngeo y leucemias.
	Familia de proteínas DKK (DKK1, 2 y 3)	Metilación del promotor	Colorrectal, leucemias, gástrico, próstata, mama, vejiga.
Inhibidores citosólicos de la vía Wnt	Familia de proteínas DACT (DACT1, 2 y 3)	Metilación del promotor. Modificación de histonas.	Colorrectal
	AXINA 2	Metilación del promotor	Colorrectal
Wnt	APC	Metilación del promotor	Colorrectal, mama y leucemias
Factores nucleares	Familia de proteínas SOX (SOX7, 17)	Metilación del promotor	Colorrectal, mama, próstata
Ligandos no transformantes de la vía Wnt	WNT5A, WNT7A, WNT9A	Metilación del promotor	Colorrectal, nasofaríngeo, pancreático, malignidades hematológicas
Moléculas de adhesión epitelial	E-caderina (CDH1)	Metilación del promotor	Mama, colorrectal, gástrico.

**SFRP:** proteína secretada y relacionada con Frizzled 1, **WIF1:** factor inhibitorio de Wnt 1, **DKK:** proteínas Dickkopf (reguladores negativos de la vía Wnt), **DACT:** aka Dapper/ Frodo. Antagonista Dapper de la proteína β-catenina.

genes diana de la vía Wnt.<sup>39</sup> El silenciamiento epigenético del gen SOX17 en la región promotora es un evento frecuente que contribuye a la activación aberrante de la señalización Wnt-β-catenina en cáncer de mama y colon.<sup>39</sup> En el cáncer de colon y próstata se detecta una subexpresión del gen SOX7 causada por metilación aberrante.<sup>30</sup>

Algunos miembros de la familia de genes Wnt, como Wnt5a y Wnt7a, pueden antagonizar con la vía Wnt a través de la proteína GSK-3β.<sup>30</sup> La desregulación de las proteínas Wnt se relaciona estrechamente con la patogénesis tumoral, a pesar de su papel fisiológico en los diversos contextos tumorales. Por ejemplo, algunas proteínas Wnt como Wnt1, Wnt2, Wnt3a y Wnt5a se sobreexpresan en cánceres de estómago (Wnt1 y Wnt5a), de mama (Wnt1), de colon (Wnt2), de pulmón (Wnt5a) y de próstata (Wnt3a) en donde actúan como activadores oncogénicos para la vía de señalización Wnt canónica.<sup>30,31</sup> Por el contrario, en algunos otros carcinomas y neoplasias hematopoyéticas, Wnt5a actúa como supresor de tumor inhibiendo la proliferación mediante la antagonización de la señalización Wnt-β-catenina y el silenciamiento frecuente por metilación tumor específica. Al mismo tiempo, la inactivación epigenética de WNT7A y WNT9A mediante metilación de sus promotores recientemente se reportó en tumores pancreáticos y en carcinomas colorrectales (WNT7A) y en leucemias linfoblásticas agudas (WNT9A).<sup>30</sup>

La molécula de adhesión epitelial E-caderina (CDH1) también actúa como regulador negativo de la vía de señalización Wnt-β-catenina afectando la localización intracellular de la β-catenina. La E-caderina se une a β-catenina impidiendo su ingreso al núcleo. En múltiples cánceres también se ha observado silenciamiento epigenético de CDH1 por metilación de su promotor, lo que origina una activación aberrante de la vía Wnt.<sup>40-42</sup>

### Biomarcadores: implicaciones clínicas y terapéuticas

Las investigaciones recientes han permitido detectar los cambios epigenéticos que contribuyen a la activación anormal de las vías oncogénicas, ofreciendo herramientas para la detección temprana del cáncer y sirviendo como excelentes marcadores de tumor para el diagnóstico y pronóstico de diversos procesos oncogénicos.<sup>43</sup>

En 70% de los cánceres gástricos se ha observado una desregulación de la vía canónica Wnt/β-catenina. La metilación del promotor Dickkopf-3 (DKK-3), antagonista de Wnt, correlaciona de manera muy estrecha con mal pronóstico en pacientes con cáncer gástrico primario.<sup>44</sup> Al igual que en el cáncer gástrico, la molécula DKK-3 se ha reconocido como un marcador pronóstico potencialmente exitoso en el tratamiento clínico del cáncer de mama; la metilación

de esa molécula es un factor indicativo de pobre supervivencia en pacientes con este tipo de cáncer.<sup>45</sup>

Veeck et al., encontraron que la metilación aberrante del promotor del gen SFRP1 se asocia con supervivencia corta en pacientes con cáncer de mama. La metilación de SFRP2 se mostró como un biomarcador tumoral específico para cáncer de mama temprano, mientras que la metilación del gen WIF1 se relaciona con mal pronóstico en leucemias promielocíticas agudas.<sup>30,45-47</sup>

También se ha observado que los miembros de la familia de genes DACT (Dpr/Frodo) inhiben la señalización de Wnt mediante su interacción con Dvl en cáncer colorrectal y que, específicamente, la molécula DACT3 puede ser un regulador epigenético clave en la vía de señalización Wnt-β-catenina, impulsando así los esfuerzos para desarrollar estrategias pronósticas y terapéuticas dirigidas a esta vía.<sup>48</sup>

En la actualidad, los cambios epigenéticos, como la metilación de promotores o la metilación-acetilación de histonas son farmacológicamente reversibles cuando se usan inhibidores de las ADN-metiltransferasas (5-aza-2'-deoxicitidina, Zebularin)<sup>44</sup> e inhibidores de histonas como TSA, SAHA y PXD101.<sup>49</sup> La restauración de la expresión de los reguladores negativos Wnt en células tumorales silenciadas mediante mecanismos de desmetilación o remodelamiento de histonas o incluso mediante expresión ectópica, resultan en el bloqueo de los factores de transcripción TCF dependientes de β-catenina, en la inhibición de la proliferación celular tumoral y en la inducción de la célula tumoral a apoptosis en múltiples cánceres.<sup>30</sup>

La desmetilación farmacológica con 5-aza-2'-deoxicitidina resulta en la reexpresión de los genes WNT5A, SFRPs y WIF1 en líneas celulares tumorales silenciadas y una futura reducción de CCND1.<sup>28</sup> El silenciamiento de DACT3 mediante modificaciones histónicas pudiera efectivamente revertirse mediante el tratamiento combinado de S-adenosil-homocisteína hidrolasa y el inhibidor 3-Deazaneplanocina A (DZNep) para reducir la trimetilación de H3K27. Juntos con TSA permiten la inhibición de la señalización de la vía Wnt/β-catenina, disminuyen la activación (no fosforilación) del nivel de β-catenina y, por ende, disminuye la activación de los genes diana dependientes de TCF/β-catenina, lo que lleva a la apoptosis de las células cancerosas. Así, la modulación epigenética de la señalización Wnt-β-catenina es una atractiva estrategia terapéutica para cánceres relacionados con esta vía de señalización.<sup>30</sup>

### Terapia génica a través de la vía de señalización Wnt-β-catenina

Un aspecto importante de la vía de señalización Wnt es su participación en la regulación y mantenimiento de las

células madre. Su entendimiento y tratamiento permitiría generar blancos terapéuticos a través de ésta, dando la posibilidad de modificar el curso de un sinnúmero de procesos malignos. Las células madre cancerosas también juegan un papel importante en la resistencia a fármacos y en la formación de metástasis.

En la actualidad, los blancos terapéuticos descritos para la vía de señalización Wnt se han agrupado en tres áreas: 1. Interacciones receptor-ligando; 2. Componentes de señalización citosólica y 3. Componentes de señalización nuclear.<sup>50</sup>

Como ejemplos de blancos terapéuticos relacionados con *interacciones receptor-ligando* están los correceptores LRP5/6 y los miembros de la familia Fzd. Los estudios recientes sugieren que la inhibición endógena de algunos miembros de la familia de proteínas Dkk, que se unen a LRP5/6, logran bloquear la vía de señalización Wnt. En consecuencia, la inhibición de la vía Wnt podría lograrse generando un anticuerpo dirigido a LRP5/6. Así mismo, los miembros de la familia Fzd, que se caracterizan por poseer dominios ricos en cisteína (CRD), pueden proveer una estrategia terapéutica atractiva para bloquear la señalización Wnt en el receptor.

Entre los blancos terapéuticos relacionados con los *componentes de señalización* están los miembros de la familia CK1, que juegan un papel positivo en la fosforilación y activación de Dvl, y en la fosforilación de β-catenina; por lo tanto, proveen una oportunidad de intervención terapéutica. GSK-3β y Axina son otros blancos terapéuticos utilizados porque juegan un papel crítico en el complejo de destrucción proteica.

Entre los blancos que son *componentes de señalización nuclear* están los miembros TCF/LEF, que forman parte de una familia de factores de transcripción. En ausencia de β-catenina, los factores TCF/LEF están unidos a correpresores como Groucho y HDACs. La interacción de β-catenina con los miembros TCF/LEF desplaza a estos correpresores y recluta una variedad de coactivadores como CBP, p300, BCL9, Pygopus y Brg1. Estos coactivadores juegan un papel crítico en direccionar a la proteína β-catenina para mediar la transcripción, por eso también representan potenciales blancos terapéuticos.<sup>50</sup>

Existe un sinnúmero de agentes experimentales que se han evaluado en su capacidad para inhibir la vía de señalización Wnt. Chen et al., identificaron dos nuevos tipos de moléculas pequeñas que inhiben la vía Wnt.<sup>51</sup> La primera molécula es una acetil transferasa unida a la membrana que inhibe la actividad de porcupine, molécula decisiva para la síntesis de Wnt. La segunda molécula inhibe la destrucción de axina, molécula que funciona como un supresor natural de la señalización Wnt. Otra molécula, ICG-001, selectivamente inhibe la vía de señalización Wnt bloqueando la

unión de β-catenina a la proteína de unión del elemento de respuesta al AMP cíclico. El tratamiento mediante el ICG-001 en líneas celulares de cáncer de colon resultó en apoptosis. También se ha observado que los antiinflamatorios no esteroides, como la aspirina y el sulindaco, inhiben la actividad de la ciclooxygenasa, por lo que algunos experimentos y estudios epidemiológicos sugieren que la aspirina y otros antiinflamatorios no esteroides tienen efectos quimioprotectores contra el cáncer de colon. En estudios preclínicos se han probado otros compuestos, usando como blanco el dominio PZD de la proteína Dishevelled; entre ellos están las moléculas NSC668036 y FJ9. Dishevelled es una proteína clave en la vía de señalización Wnt porque conduce señales extracelulares corriente abajo de la vía. Además, tiene la capacidad de inhibir la vía de señalización Wnt canónica y la no canónica. Otros mecanismos utilizados son los anticuerpos monoclonales dirigidos contra las moléculas Wnt y contra los receptores Fzd.<sup>5,50-52</sup>

## Conclusiones

El conocimiento de la vía de señalización Wnt-β-catenina ha progresado enormemente en los últimos años. En la actualidad se sabe que la vía Wnt participa en una serie de funciones importantes en el desarrollo, crecimiento y mantenimiento de las células, tejidos y organismos. Por lo tanto, un proceso de señalización aberrante de esta vía contribuye o desencadena la fisiopatología de muchas enfermedades, y de un número creciente de defectos genéticos.

En la actualidad existen múltiples reportes en los que el silenciamiento epigenético de reguladores negativos de Wnt ha contribuido a la activación aberrante de esta vía de señalización en los cánceres humanos. La identificación de reguladores epigenéticos silenciados de esta vía enriquece el repertorio de genes supresores de tumor. De ahí que los miembros de esta vía de señalización Wnt y sus inhibidores, en la actualidad se consideren biomarcadores que apoyan el diagnóstico, pronóstico y tratamiento del cáncer y otras enfermedades.

## Referencias

- Døsen G, Tenstad E, Nygren MK, Stubberud H, Funderud S, Rian E. Wnt expression and canonical Wnt signaling in human bone marrow B lymphopoiesis. *BMC Immunology* 2006;7:13.
- Adamson C, Dennis C, Delaney S, Christiansen J, Monkley S, Kozak C, et al. Isolation and Genetic Mapping of Two Novel Members of the Murine WntGene Family, Wnt11 and Wnt12, and the Mapping of Wnt5a y Wnt7a. *Genomics* 1994;24(1):9-13.
- Nusse R, Varmus HE. Wnt Genes. *Cell* 1992;69:1073-1087.
- Luu HH, Zhang R, Haydon RC, Rayburn E, Kang Q, Si W, et al. Wnt/β-Catenin Signaling Pathway as Novel Cancer Drug Targets. *Curr Cancer Drug Tar* 2004;4(8):653-671.

5. Takebe N, Harris PJ, Warren RQ, Ivy SP. Targeting cancer stem cells by inhibiting Wnt, Notch, and Hedgehog pathways. *Nat Rev Clin Oncol* 2011;8:97-106.
6. Mlodzik M. Planar cell polarization: do the same mechanisms regulate drosophila tissue polarity and vertebrate gastrulation? *Trends Genet* 2002;18:564-571.
7. Miller J. The Wnts. *Genome Biology* 2001;3:3001.1-3001.15.
8. Bui TD, Lako M, Lejeune S, Curtis AR, Strachan T, Lindsay S, et al. Isolation of a full-length human WNT7A gene implicated in limb development and cell transformation, and mapping to chromosome 3p25. *Gene* 1997;189(1):25-29.
9. Alberts B, Johnson A, Lewis J, Raff M, Roberts K, Walter P. Signaling Pathways That Depend on Regulated Proteolysis. En: Molecular Biology of the Cell. (Eds) Garland Science 4th. Edición. New York: Garland Science, 2005 p. 893-899.
10. Takahashi-Yanaga F, Sasaguri T. The Wnt/ β-Catenin Signaling Pathway as a Target in Drug Discovery. *J Pharmacol Sci* 2007;104(4):293-302.
11. Hendrickx M, Leyns L. Non-conventional Frizzled ligands and Wnt receptors. *Dev Growth Differ* 2008;50(4):229-243.
12. Winn RA, Scoky MV, Hammond M, Rodriguez K, Crossno JT, Heasley LE, et al. Antitumorigenic Effect of Wnt 7a and Fzd 9 in Non-small Cell Lung Cancer Cells Is Mediated through ERK-5-dependent Activation of Peroxisome Proliferator-activated Receptor γ. *J Biol Chem* 2006;281:26943-26950.
13. Kühl M, Sheldahl LC, Park M, Miller JR, Moon RT. The Wnt/Ca<sup>2+</sup> pathway: a new vertebrate Wnt signaling pathway takes shape. *Trends Genet* 2000;16(7):279-283.
14. Reya T, Clevers H. Wnt signalling in stem cells and cancer. *Nature* 2005;434:843-850.
15. Willert K, Jones KA. Wnt signalling: is the party in the nucleus? *Genes Dev* 2006;20:1394-1404.
16. Polakis P. Wnt signaling and cancer. *Genes Dev* 2000;14:1837-1851.
17. Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes. KEGG PATHWAY Database. 2006. URL <http://www.genome.jp/kegg/>. 18. C he n AE, Ginty DD, Fan CM. Protein kinase A signalling via CREB controls myogenesis induced by Wnt proteins. *Nature* 2005;433:317-322.
18. Johnson ML, Rajamannan N. Diseases of Wnt signaling. *Rev Endocr Metab Disord* 2006;7(1-2):41-49.
19. Logan CY, Nusse R. The Wnt signaling pathway in development and disease. *Annu Rev Cell Dev Biol* 2004;20:781-810.
20. Luo J, Chen J, Deng ZL, Luo X, Song WX, Sharff KA, et al. Wnt signaling and human diseases: what are the therapeutic implications? *Lab Invest* 2007;87:97-103.
21. Clément G, Braunschweig R, Pasquier N, Bosman FT, Benhantar J. Alterations of the Wnt signaling pathway during the neoplastic progression of Barrett's esophagus. *Oncogene* 2006;25:3084-3092.
22. Vermeulen L, De Sousa E Melo F, van der Heijden M, Cameron K, de Jong JH, Borovski T, et al. Wnt activity defines colon cancer stem cells and is regulated by the microenvironment. *Nat Cell Biol* 2010;12:468-476.
23. Korkaya H, Wicha MS. Cancer stem cells: nature versus nurture. *Nat Cell Biol* 2010;12:419-421.
24. Villanueva T. Cancer stem cells: Wnt-looking outside in. *Nat Rev Cancer* 2010;10:386-387.
25. Kirikoshi H, Katoh M. Expression of WNT7A in human normal tissues and cancer, and regulation of WNT7A and WNT7B in human cancer. *Int J Oncol* 2002;21(4):895-900.
26. Lu D, Zhao Y, Tawatao R, Cottam HB, Sen M, Leoni LM, et al. Activation of the Wnt signaling pathway in chronic lymphocytic leukemia. *PNAS* 2004;101(9):3118-3123.
27. Jönsson M, Dejmek J, Bendahl PO, Andersson T. Loss of Wnt-5a Protein Is Associated with Early Relapse in Invasive Ductal Breast Carcinomas. *Cancer Res* 2002;62:409-416.
28. Liang H, Chen Q, Coles AH, Anderson SJ, Pihan G, Bradley A, et al. Wnt5a inhibits B cell proliferation and functions as a tumor suppressor in hematopoietic tissue. *Cancer Cell* 2003;4(5):349-360.
29. Ying Y, Tao Q. Epigenetic disruption of the WNT/β-catenin signaling pathway in human cancers. *Epigenetics* 2009;4(5):307-312.
30. Moon RT, Kohn AD, De Ferrari GV, Kaykas A. WNT and β-catenin signalling: diseases and therapies. *Nat Rev Genet* 2004;5:691-701.
31. Clevers H. Wnt/ β Catenin Signaling in Development and Disease. *Cell* 2006;127(3):469-480.
32. Jones PA, Baylin SB. The fundamental role of epigenetic events in cancer. *Nat Rev Genet* 2002;3:415-428.
33. He B, Lee AY, Dadfarmay S, You L, Xu Z, Reguart N, et al. Secreted Frizzled-Related Protein 4 Is Silenced by Hypermethylation and Induces Apoptosis in β-Catenin-Deficient Human Mesothelioma Cells. *Cancer Res* 2005;65:743-748.
34. Baylin SB, Ohm JE. Epigenetics gene silencing in cancer - a mechanism for early oncogenic pathway addiction? *Nat Rev Cancer* 2006;6:107-116.
35. Suzuki H, Watkins DN, Jair KW, Schuebel KE, Markowitz SD, Chen WD, et al. Epigenetic inactivation of SFRP genes allows constitutive WNT signaling in colorectal cancer. *Nat Genet* 2004;36:417-422.
36. Zhang W, Glöckner SC, Guo M, Machida EO, Wang DH, Easwaran H, et al. Epigenetic Inactivation of the Canonical Wnt Antagonist SRY-Box Containing Gene 17 in Colorectal Cancer. *Cancer Res* 2008;68:2764-2772.
37. Fu DY, Wang ZM, Li-Chen, Wang BL, Shen ZZ, Huang W, et al. Sox17, the canonical Wnt antagonist, is epigenetically inactivated by promoter methylation in human breast cancer. *Cancer Res treat* 2010;119(3):601-612.
38. Topol L, Jiang X, Choi H, Garret-Beal L, Carolan PJ, Yang Y. Wnt-5a inhibits the canonical Wnt pathway by promoting GSK-3-independent β-catenin degradation. *J Cell Biol* 2003;162(5):899-908.
39. Saitoh T, Mine T, Katoh M. Frequent up-regulation of WNT5A mRNA in primary gastric cancer. *Int J Mol Med* 2002;9(5):515-519.
40. Leris ACA, Roberts TR, Jiang WG, Newbold RF, Mokbel K. WNT5A Expression in Human Breast Cancer. *Anticancer Res* 2005;25(2A):731-734.
41. Ying J, Li H, Yu J, Ng KM, Poon FF, Wong SCC, et al. WNT5A Exhibits Tumor-Suppressive Activity through Antagonizing the Wnt/β-Catenin Signaling, and Is Frequently Methylated in Colorectal Cancer. *Clin Cancer Res* 2008;14:55-61.
42. Urakami S, Shiina H, Enokida H, Hirata H, Kawamoto K, Kawakami T, et al. Wnt Antagonist Family Genes as Biomarkers for Diagnosis, Staging, and Prognosis of Renal Cell Carcinoma Using Tumor and Serum DNA. *Clin Cancer Res* 2006;12:6989-6997.
43. Yu J, Tao Q, Cheng YY, Lee KY, Ng SSM, Cheung KF, et al. Promoter methylation of the Wnt/β-catenin signaling antagonist Dkk-3 is associated with poor survival in gastric cancer. *Cancer* 2009;115(1):49-60.
44. Veeck J, Wild PJ, Fuchs T, Schüffler PJ, Hartmann A, Knüchel R, et al. Prognostic relevance of Wnt-inhibitory factor-1 (WIF1) and Dickkopf-3 (DKK3) promoter methylation in human breast cancer. *BMC Cancer* 2009;9:217.
45. Veeck J, Niederacher D, An H, Klopocki E, Wiesmann F, Betz B, et al. Aberrant methylation of the Wnt antagonist SFRP1 in breast cancer is associated with unfavorable prognosis. *Oncogene* 2006;25:3479-3488.
46. Chim CS, Chan WWL, Pang A, Kwong YL. Preferential methylation of Wnt inhibitory factor-1 in acute promyelocytic leukemia: an independent poor prognostic factor. *Leukemia* 2006;20:907-909.

48. Jiang X, Tan J, Li J, Kivimäe S, Yang X, Zhuang L, et al. DACT3 Is an Epigenetic Regulator of Wnt/β-Catenin Signaling in Colorectal Cancer and Is a Therapeutic Target of Histone Modifications. *Cancer Cell* 2008;13(6):529-541.
49. Cheng JC, Yoo CB, Weisenberg DJ, Chuang J, Wozniak C, Liang G, et al. Preferential response of cancer cells to zebularine. *Cancer Cell* 2004;6(2):151-158.
50. Curtin JC, Lorenzi MV. Drug Discovery Approaches to Target Wnt Signaling in Cancer Stem Cells. *Oncotarget* 2010;1(7):552-566.
51. Chen B, Dodge ME, Tang W, Lu J, Ma Z, Fan CW, et al. Small molecule-mediated disruption of Wnt-dependent signaling in tissue regeneration and cancer. *Nat Chem Biol* 2009;5:100-107.
52. Takahashi-Yanaga F, Kahn M. Targeting Wnt Signaling: Can We Safely Eradicate Cancer Stem Cells? *Clin Cancer Res* 2010;16:3153-3162.