

WNT / BETA CATENINA

Resumen realizado por Mauricio Lema Medina - 10/2012

I. Características de las células epiteliales: adhesión (célula a célula, célula a sustrato).

Contexto

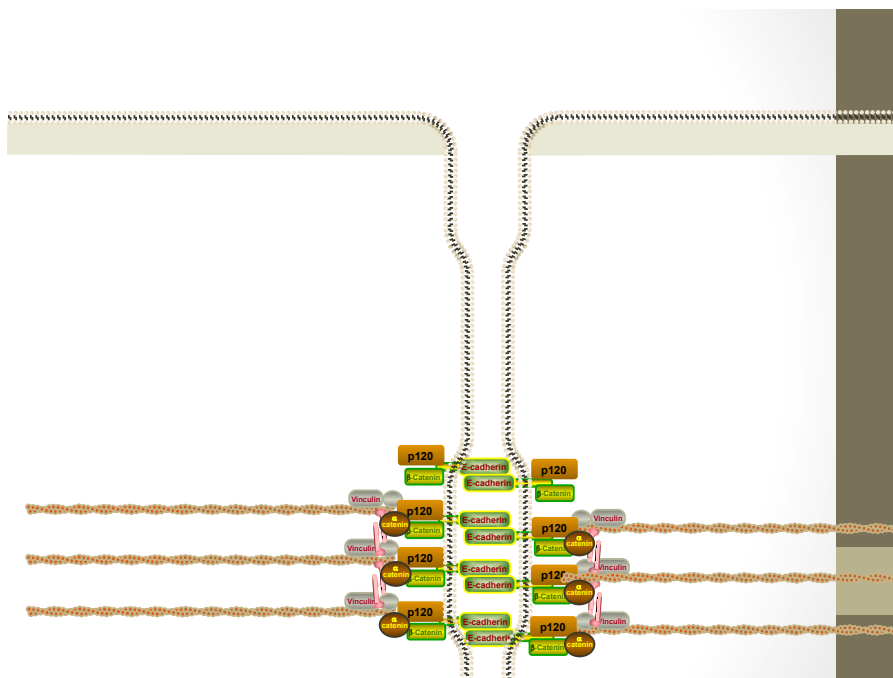
Hipótesis trifásica de Lance Liotta para el proceso oncológico: 1. Pérdida de adhesión intercelular; 2. Degradación de la matriz y 3. Adquisición de la movilidad.

Uniones intercelulares, y su importancia

Estructuras de adhesión en células epiteliales: Uniones estrechas (encargadas de la polaridad celular: apical y basolateral con implicaciones importantes), uniones adherentes, desmosomas, uniones comunicantes (poros). Uniones célula matriz son: hemidesmosomas y uniones focales.

Las más importantes de todas son las uniones adherentes (UA), porque sin éstas no se forman ninguna de las otras. La desaparición de las UA facilitan la pérdida de las otras unidades, y esencial para la transición epitelio mesénquima (TEM), resistencia a la anoikis (apoptosis por la pérdida de contacto con la matriz extracelular), adquieren un fenotipo de célula troncal, así como adquisición de las propiedades migratorias e invasivas.

E-Cadherina (codificada por el gen CDH1) son proteínas transmembrana que forman dímeros y se unen, en presencia de calcio extracelular, a los dímeros de E-Cadherina de las células vecinas. La E-Cadherina es la proteína más importante para las UA.



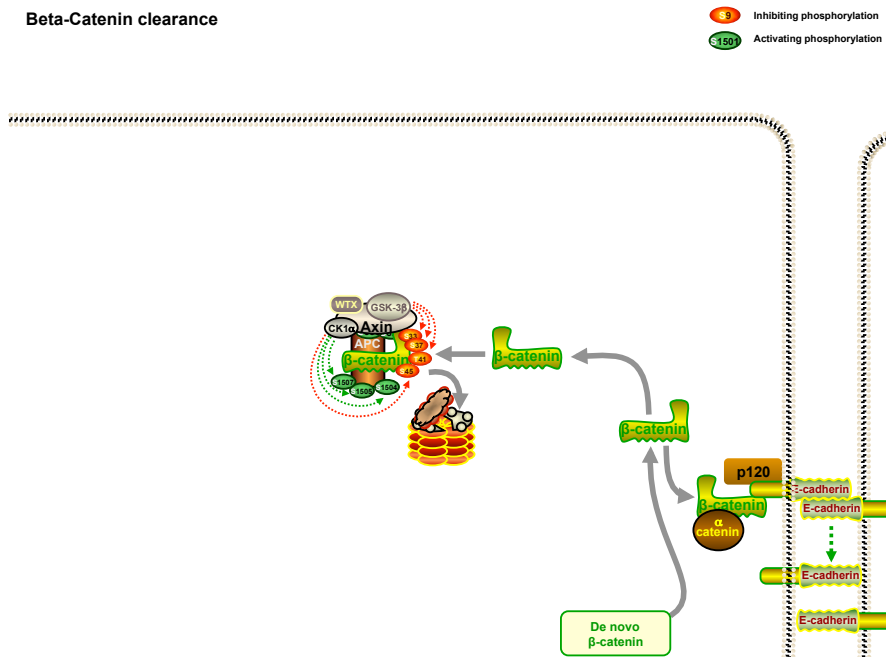
En el dominio intracelular de la E-Cadherina en su extremo carboxiterminal se une la Beta-Catenina que a su vez se une a los citoesqueleto de actina por medio de otras proteínas (que incluyen alfa catenina).

La beta catenina (codificada por el gen CTNNB1) tiene varias repeticiones del dominio arm (de Armadillo) que sirven para interacción con otros aminoácidos que le permiten unirse a la alfa catenina, APC, E-Cadherina. E su extremo carboxiterminal tiene un dominio de transactivación.

La funcionalidad de la Beta Catenina depende de su estado de fosforilación. La sobre-expresión de EGFR y HER2 disminuye la actividad de Beta Catenina por fosforilación del Tyr-654. El MET y otros tirosina kinasas disminuyen la afinidad por la alfa catenina.

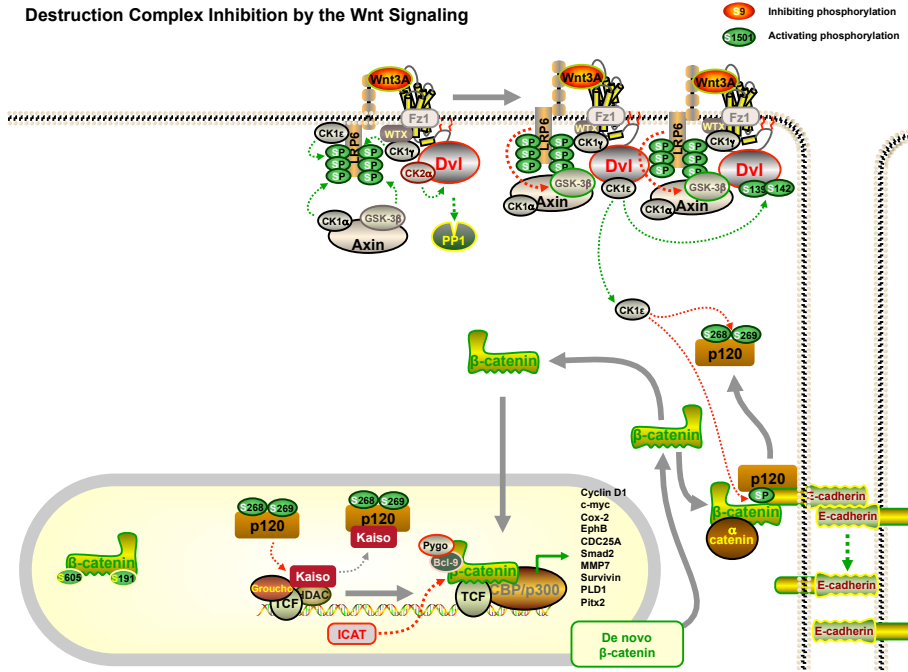
Ruta de señalización Wnt/BetaCatenina

En condiciones normales la BetaCatenina está ubicada en la región subcortical de la membrana. El exceso de BetaCatenina citosólico se unen a APC y Axina, y es fosforilada BSK3B y Caseina Kinasa I, marcándola para la destrucción proteosómica.

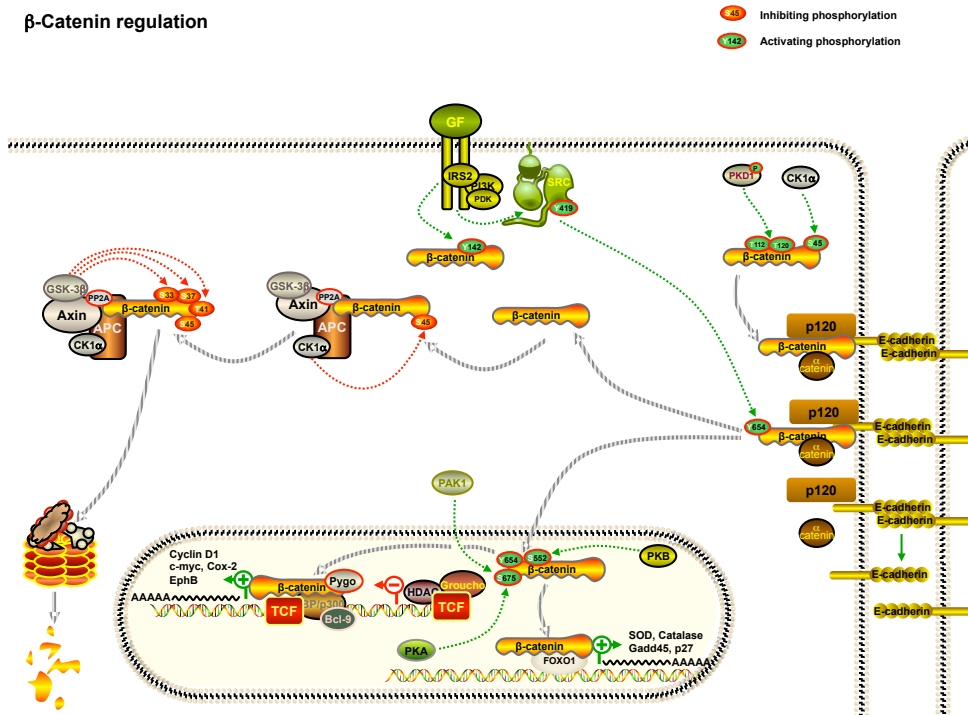


Durante la embriogénesis las diversas proteínas Wnt interaccionan con Frizzled y LRP, cambiando la conformación de la LRP favoreciendo su fosforilación por CKI y GSK3Beta, atrayendo la axina a la LRP. Además, se activa el Dvl. Tanto la pérdida de la axina al unirse con la LRP como la Dvl inhiben el complejo que depura la BetaCatenina. Como resultado, la BetaCatenina libre se acumula. Parte de la BetaCatenina pasa al núcleo donde funciona como un coactivador transcripcional (regula la transcripción de los genes sin unirse al DNA), y lo hace uniéndose a los TCF que es un represor transcripcional, inhibiéndolo. La resultante final es la activación transcripcional. Esto es fisiológico en el desarrollo embrionario.

Destruction Complex Inhibition by the Wnt Signaling



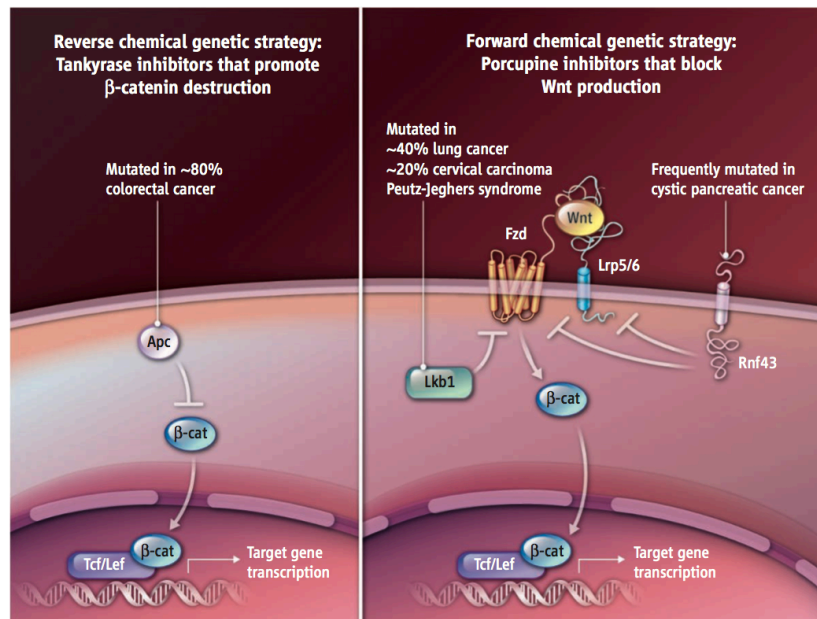
β-Catenin regulation



Cómo se activa la Beta Catenina en forma anormal!

En Colon Cáncer la mutación inicial es APC (75%), axina o beta catenina (7-8%). La mayor parte de las mutaciones del APC generan proteínas mutadas (con un stop codon). Cuando se mutan Axina,

tampoco se puede producir el complejo destructor de BetaCatenina. La mutación de la BetaCatenina ocurre en los sitios de serina/threonina donde es fosforilada por la GSK3B, CKI.



Blocking Wnt signaling. Two chemical genetic strategies have identified small molecules that inhibit Wnt signaling. Certain cancers have mutations in constituents of the pathway. Apc, adenomatous polyposis coli; Tcf, T cell factor; Lef, lymphoid enhancer binding factor; Fzd, Frizzled; Lkb1, liver kinase B1; Rnf43, ring finger protein 43; Lrp5/6, LDL-related proteins 5/6; β -cat, β -catenin.

Lum and Hans Clevers Science 337, 922 (2012)

Los genes activados por acción de la BetaCatenina intracelular incluyen: otros co-activadores transcripcionales, complejos que modifican o remodelan histonas y proteínas implicadas en la iniciación y la elongación de la transcripción por la RNA polimerasa II, incluyendo la telomerasa. Otros genes identificados incluyen el c-myc, ciclina D1, CD44, c-Jun, matrilisina, PPAR-Delta, COX-2, uPAR, fibronectina que son estimulados, inhibición de otros como ZO-1. En total son más de 400 genes implicados en cáncer de colon y recto que se encuentran en el siguiente URL:

<http://www.stanford.edu/group/nusselab/cgi-bin/wnt/main>

La vía de señalización de Wnt/B-Catenina está constitutivamente en la mayoría de los adenomas colorrectales y, por lo tanto, se convierte en un evento inicial y crucial en el cáncer colorrectal humano. Puede ocurrir represión transcripcional de los inhibidores de esta ruta (como Dkk1, sFRP) o exceso de producción de Wnt que pueden explicar algunos cánceres de mama (y esófago) en donde se ha observado sobreactivación de la ruta Wnt/BetaCatenina sin mutaciones discernibles.

En las células troncales basales, la proteína codificada por la proteína LGR5 es un receptor de membrana que responde a la R-spondina que interactúa que incrementa la actividad de LRP/Frizzled estimulando la vía Wnt

Inhibidores fisiológicos de la Ruta Wnt

I. Que se unen a Wnt: Cerberus, SFRPs, WIF, sFRP (secreted Frizzled Related Proteins)

2. Se unen al receptor de membrana: DKK-1 (KICKKOPF) se unen a LRP impidiendo la unión LRP con Frizzled, aumentando la desaparición de LRP5/6. Se ha visto silenciamiento epigenético de DKK1 en 25% de los cánceres colorrectales.

No todos los cánceres colorrectales tienen BetaCatenina en el núcleo. La mayor parte de las células tienen expresión de la BetaCatenina en la membrana lateral. Se observa la BetaCatenina nuclear en las regiones basales (lo mismo que en las metástasis).

La mutación de KRAS y/o BRAF favorece la BetaCatenina nuclear. La estimulación autocrina de Wnt promueven la BetaCatenina nuclear. Factores estromales también pueden estimular la BetaCatenina nuclear, especialmente con el MET.

Exp

Los miofibroblastos peritumorales secretan HGF, estimulando el MET en células tumorales, incrementando la translocación de BetaCatenina nuclear. El mecanismo el HGF-MET activa la PI3K y Akt que fosforila e inactiva la GSK3B y fosforila la BetaCatenina promoviendo al núcleo de la BetaCatenina.

El modelo actual de cáncer colorrectal: los factores Wnt son producidos por los fibroblastos pericriptas y en forma autocrina de las células troncales en las criptas (junto con la Bone Morphogenetic Factors, Hh). Las hijas van progresando al subir hacia el lumen, con menos exposición a la vía Wnt, se diferencian y forman los enterocitos diferenciados. En el cáncer de colon, la fase inicial es idéntica, pero como hay mutación activadora de la ruta (APC, o BetaCatenina o Axina) se mantiene la capacidad proliferativa que da origen a adenomas o carcinomas.

En otros tejidos, la BetaCatenina es importante en el desarrollo de axones.

La ruta Wnt/BetaCatenina es importante en otros procesos como melanoma, y cánceres de próstata, endometrio, estómago, hepatoelular, ovario, pilomatricomas, meduloblastomas.

La re-expresión de E-Cadherina reversa todo este proceso,

Unas palabras sobre las proteínas Wnt

Proteínas Wnt son glicoproteínas secretadas (19 en el hombre) con 22 cisteínas conservadas que generan enlaces disulfuro, son grandes, tienen ácidos grasos unidos. Son insolubles y no se mueven mucho después de ser secretadas. La progesterona estimula el tejido mamario por la vía Wnt4.

Exp

Massagué propone que la WNT/TCF estimula HOXB9/LEF1 que incrementan las metástasis cerebrales y óseas del cáncer de pulmón

La APC, Axina se consideran TSG, la E-cadherina se considera gen supresor de invasividad y la BetaCatenina es considerada un proto-oncogén.

Rutas no canónicas de Wnt

Wnt favorecen la salida de Ca del Retículo Endoplásmico, incrementando el Ca en el citosol. Los Wnt estimulan RhoA, Rac que sirve para ciertos movimientos celulares. Algunas vías no canónicas pueden tener impacto con cáncer, pero no parece.

Algunas Wnt 4, 5^a y 11 activan las vías no canónicas.

Frizzled (hay varios en los humanos). Algunos prefieren activar la ruta no canónica.

Hay otros receptores para Wnt. En las neuronas los receptores son RYK/Derailed, de importancia en axones.

En colon hay un receptor Ror2 que no sabemos cómo funcionan (será que su activación bloquea la vía Wnt/BetaCatenina).

Modelos genéticos de tumorigénesis de cáncer colorrectal

1. Vía supresora y 2. Vía mutadora (no reparación del DNA).

En la vía supresora hay mutación: KRAS, BRAF, APC/BetaCatenina/Axin, p53, SMAD, TGFβ, etc.

APC

Gen supresor; mutado en 100% de FAP (mayor de 80% de los cánceres esporádico). Proteína APC forma complejos con GSK3B, BetaCatenina y axina

La unión de BetaCatenina a E-Cadherina y a APC son excluyentes.

La proteína APC es muy grande con muchos módulos. Tiene un mutation cluster region a nivel central, que casi siempre producen un stop-codon. Tienen otros dominio de unión a microtúbulos en su extremo carboxiterminal, un dominio le permite entrar y salir del núcleo.

Los modelos murinos con Ratones Apc min que no son idóneos. Los tumores que se generan no son de colon, sino de intestino delgado.

Just right model

Se requiere alguna unión residual del APC mutado para que la BetaCatenina ejerza su actividad proliferativa. Donde hay microtúbulos hay APC (necesario para el huso mitótico. De hecho, eso explica la aneuploidía en cáncer de colon). Parece ser que el APC sirve para favorecer la salida de la BetaCatenina y su actividad nuclear. Por eso el Just-Right model.

Modelo de los 3 golpes

Interacción del KRAS-BRAF con la vía Wnt en cánceres de colon y melanoma

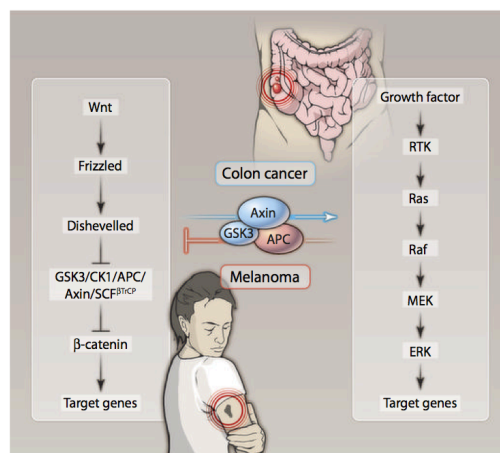


Fig. 1. Crosstalk between Wnt/β-catenin and MAPK signaling in cancer. In colon cancer, stimulation of Wnt/β-catenin signaling (**left**) inhibits the activity of the destruction complex, indicated by the scaffold proteins Axin and APC and the kinase GSK3, leading to Ras stabilization and consequent activation of the downstream MAPK signaling cascade (**right**). In melanoma, increased MAPK signaling stabilizes Axin, which inhibits Wnt signaling. RTK, receptor tyrosine kinase.

Cáncer de colon

La vía Wnt/BetaCatenina/Axina estimulada causa estabilización del Ras, incrementando su actividad proliferativa

Melanoma

En melanoma, la activación del BRAF causa supresión de la vía Wnt al estabilizar la Axina.

Ruta canónica Wnt/Beta Catenina

<http://stke.sciencemag.org/cgi/cm/stkecm:CMP 5533>

