

doi: 10.30827/ars.v62i4.21740

Artículos de revisión

Secreted Frizzled – Related Protein 4 y el cáncer de mama

Secreted Frizzled – Related Protein 4 and breast cancer

José María Gálvez-Navas^{1,2}  0000-0001-9225-8225

Cristina Pérez-Ramírez^{1,2}  0000-0002-3511-1312

MCarmen Ramírez-Tortosa^{1,2}  0000-0002-7999-0881

¹Universidad de Granada, Facultad de Farmacia, Departamento de Bioquímica y Biología Molecular II, Granada, España.

²Universidad de Granada, Centro de Investigaciones Biomédicas (CIBM), Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos “José Mataix” (INYTA), Armilla, España.

Correspondencia

María del Carmen Ramírez Tortosa.
mramirez@ugr.es

Recibido: 08.07.2021

Aceptado: 03.09.2021

Publicado: 20.09.2021

Financiación

Sin financiación

Conflicto de intereses

Ninguno

Agradecimientos

A Elena Picón Guglieri, ilustradora, por su colaboración en el diseño y realización de las figuras incluidas en este artículo.

Resumen

Introducción: el correcto funcionamiento y la supervivencia de la célula vienen mediados por multitud de procesos clave. El delicado equilibrio que se requiere entre dichos fenómenos hace que un error en los mecanismos de control desencadene el inicio de la carcinogénesis. Dentro de las rutas metabólicas encargadas de su regulación se encuentran las vías de señalización del Wnt. De esta forma, aquellas moléculas que intervengan en dichas vías presentarán un papel clave para el estudio de la patología, entre las que destaca secreted Frizzled – Related Protein 4 (sFRP4).

Método: se ha llevado a cabo una búsqueda bibliográfica en bases de datos de referencia, como es el caso de Medline, Scopus o Web of Science.

Resultados: a sFRP4 se le ha otorgado el papel de modulador negativo de las vías de Wnt debido a su capacidad de competir por los ligandos Wnt y evitar el inicio de dichas rutas. Por lo tanto, sFRP4 será esencial en el control del inicio y desarrollo del cáncer en aquellos tejidos donde se exprese la proteína, dentro de los que se considera el tejido mamario.

Conclusiones: los recientes estudios acerca de la implicación de sFRP4 en el desarrollo de diversas patologías, justifican que la proteína haya captado la atención en los últimos años. De esta forma, se puede afirmar que sFRP4 presenta un interesante potencial como biomarcador en el tratamiento, diagnóstico y pronóstico del cáncer de mama, entre otras enfermedades.

Palabras clave: sFRP4; β – catenina; canónica; no canónica; Frizzled; cáncer de mama.

Abstract

Introduction: cell's correct functionality and surveillance are brokered by a wide range of essential proceedings. The delicate equilibrium required between those phenomenon means that an error in the control mechanisms provoke the carcinogenesis commencement. In those metabolic pathways in charge of controlling the mechanisms are found the Wnt signaling pathways. Therefore, molecules that interact with the pathways mentioned, where secreted Frizzled – Related Protein 4 is located, will play a key role in the pathology knowledge.

Method: a bibliographic research has been done in referral databases, such as Medline and Scopus.

Results: sFRP4 has been identified as a negative modulator of the Wnt signaling pathways. This is due to its capacity of competing for the Wnt ligands and avoiding the commencement of the pathways. Otherwise, sFRP4 is essential for the control of the cancer beginning and development in those tissues where the protein is expressed, being mammary tissues considered into them.

Conclusions: recent studies about the implications of sFRP4 in the development of several pathologies justify that the protein had garnered attention in recent years. Furthermore, it can be affirmed that sFRP4 presents an interesting potential as biomarker in the breast cancer treatment, diagnosis and prognosis, among other pathologies.

Keywords: sFRP4; β – catenin; canonical; non – canonical; Frizzled; breast cancer.

Puntos clave

Secreted Frizzled – Related Protein 4 es un glicoproteína que interviene como modulador negativo en las vías de señalización del Wnt, relacionada con el inicio y progresión del cáncer en aquellos tejidos donde se expresa, entre los que se considera el tejido mamario.

El estudio recoge y actualiza la información disponible acerca de la síntesis, estructura y función de sFRP4, así como su relación con el cáncer de mama.

Secreted Frizzled – Related Protein 4 está implicada en la génesis y progresión del cáncer de mama, aunque los estudios realizados sobre ello no permiten definirla como biomarcador de la enfermedad. Asimismo, nuevas líneas de investigación deben realizarse, dirigidas a elucidar las implicaciones de la glicoproteína en la patología.

Introducción

La familia de proteínas sFRP está compuesta por un total de cinco miembros, dentro de los cuales podemos considerar a secreted Frizzled – Related Protein 4 (sFRP4). Dichas glicoproteínas se expresan en una amplia variedad de tejidos humanos tanto a nivel embrionario como adulto⁽¹⁾.

El crecimiento celular, la proliferación, la migración, la diferenciación y la apoptosis son procesos fundamentales que tienen lugar en el ciclo vital de la célula para su correcto desarrollo natural. De esta forma, la ejecución errática de alguno de estos mecanismos puede desencadenar la carcinogénesis celular^(2,3,4). Es por ello, que las diversas rutas metabólicas implicadas en dichos procesos serán claves, así como las moléculas que intervengan en su control. De esta forma, tanto la cascada de señalización del Wnt como las proteínas de la familia sFRP desempeñarán un papel crítico en la patología del cáncer. Inicialmente, dichas glicoproteínas fueron definidas como “supresores tumorales” debido a su actividad como antagonistas de las vías de señalización mencionadas. Esto se debe a la actuación de las proteínas sFRPs como moduladores de las vías del Wnt, mediante la competición con el receptor Frizzled (FZD) por los ligandos Wnt^(4,5).

Métodos

En el período de marzo-junio de 2021 se hizo una búsqueda en las bases de datos *Medline*, *Scopus* y *Web of Science*, utilizando las palabras clave: “sFRP4”, “breast cancer”, “treatment” y “Wnt pathways”, utilizando el operador booleano “AND”. De la totalidad de los artículos encontrados se seleccionaron aquellos de interés en el tema de revisión, redactados en inglés y en los que se tuvo acceso al texto completo como criterios de exclusión o inclusión.

Resultados

Esta parte del artículo se estructuró en los siguientes apartados: familia de Secreted Frizzled – Related Proteins, vías de señalización del Wnt y sFRP4, sFRP4 en el cáncer de mama y sFRP4 y el tratamiento del cáncer de mama

Familia de Secreted Frizzled – Related Proteins

La familia de glicoproteínas sFRP está conformada por un total de cinco miembros (sFRP1 – sFRP5), dentro de la cual se puede realizar una subdivisión atendiendo a la homología entre ellos. Por un lado, se encuentra la subfamilia 1Sarp, constituida por sFRP1, sFRP2 y sFRP5. Por otro lado, son sFRP3 y sFRP4 quienes conforman la subfamilia 2FrzB^(5,6). Con respecto a su actividad, esta familia se ve encuadrada dentro de los “antagonistas de la vía de señalización del Wnt”⁽⁷⁾.

El silenciamiento del gen 8p11.21 en pacientes diagnosticados de cáncer de mama y de colon permitió la determinación del primer miembro de esta familia, sFRP1^(4,5). Dicho gen codifica para una glicoproteína de 314 aminoácidos (aa) capaz de establecer puentes disulfuro con el receptor FZD^(8,9). Comparando con el resto de miembros, ésta presenta una mayor homología con sFRP5^(4,10). El segundo miembro, sFRP2, viene codificado por el gen 4q31.3, que da lugar a una proteína de 300 aa aproximadamente^(5,11). La expresión de esta suele ocurrir a nivel del estroma tumoral en la mayoría de tipos de cáncer, al igual que sucede con su hermana sFRP4^(4,12). Por su parte, sFRP3 viene codificada por el gen 2q32.1⁽⁵⁾. Esta glicoproteína fue uno de los primeros miembros de la familia en determinarse, que inicialmente se denominó FRZB debido a su actividad como antagonista de la vía de señalización del Wnt⁽¹³⁾. sFRP3 actúa regulando la polaridad epitelial, además de presentar un papel fundamental en la homeostasis del hueso y del cartílago^(14,15). El último miembro de la familia, sFRP5, viene codificado por el gen 10q24.2⁽⁵⁾. La inhibición de la expresión de esta glicoproteína se encuentra relacionada con una gran variedad de patologías cancerígenas, como son el cáncer de próstata, el cáncer ovárico epitelial⁽¹⁶⁾ o el cáncer de mama, siendo incierto el papel de ésta en el melanoma⁽¹⁷⁾. La expresión de ésta se ve disminuida en la mayoría de tumores primarios, al igual que ocurre con su hermana sFRP1^(4,18).

Estructura y localización genética y celular de sFRP4

sFRP4 se determinó por primera vez en 1997 de manos de Wolf y su equipo. En la literatura científica se pueden encontrar otras referencias a esta glicoproteína como FRP – 4, frpHE (FRP Human Endometrium), LOC6426, MGC26498 y FRZB2. Esta última denominación se debe a su homología (48,6%) con sFRP3 (FRZB1). Asimismo, sFRP4 es el miembro más conocido de la familia, la cual presenta diferencias fundamentales con el resto basadas en la presencia de seis residuos de cisteína unida mediante puentes disulfuro^(5,19).

Estructuralmente, la proteína se caracteriza por estar conformada por un total de 364 aa y presentar un peso molecular aproximado de 39,9 kDa^(5,19). Los plegamientos conformacionales posteriores a la síntesis de la proteína dan como resultado dos dominios independientes. Por un lado, encontramos el CRD, constituido por 110 – 120 aa y cuya fracción terminal guarda un 30% de homología con el dominio localizado en los receptores FZD. Ello se debe a la presencia de 10 residuos de cisteína en ambos dominios^(5,19,20). Por otro lado, en el dominio NTR o NDL se aprecia una región de elevado contenido en serina y treonina. Este dominio es la diana perfecta para la acción de serina o treonina quinasas, al componerse de varios lugares de fosforilación serina/treonina (9 en el caso de los humanos). Además, los seis residuos de cisteína presentes en el dominio permiten el establecimiento de tres puentes disulfuro^(5,6,21), ver **figura 1**.

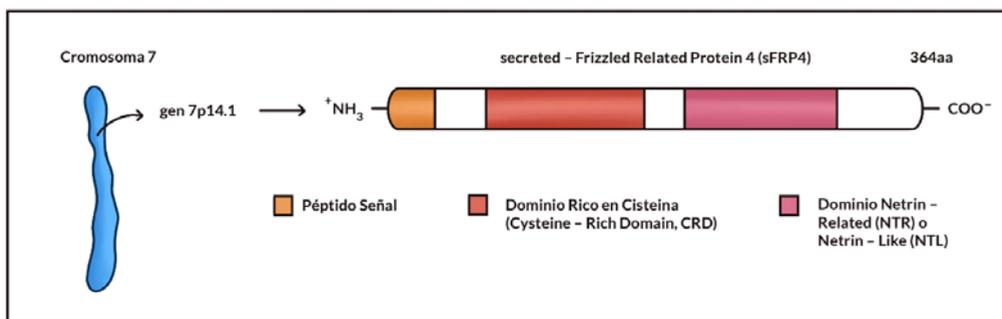


Figura 1. Representación de la localización genética del gen 7p14.1 y la estructura de la proteína sFRP4. En ella se aprecian dos dominios independientes y un péptido señal, que indica que ésta es una proteína secretada.

Este gen codificante para sFRP4 presenta tres transcritos y se asocia con 29 fenotipos^(5,19,22). Además, cuenta con la presencia de seis exones y una longitud de 10,99 kb, siendo dentro del primer exón donde se localiza el codón de iniciación para la traducción. Por otro lado, la transcripción del gen ocurre desde el telómero hacia el centrómero, es decir, en sentido opuesto^(5,19,22,23). Como producto de dicho proceso se obtiene un transcrito primario que cuenta con 2974 pares de bases (pb), de las cuales, 1041 pb conforman la secuencia codificante o mRNA maduro^(5,19,22), ver **figura 1**.

La expresión de sFRP4 viene regulada mediante estrógenos y progesterona, de manera que podría intervenir en la morfología y función uterina⁽²⁴⁾. Por su parte, dicha proteína cuenta con una amplia presencia a nivel de tejidos humanos, destacando principalmente el estroma endometrial (existe una mayor expresión de la misma en la fase proliferativa del ciclo menstrual), ovario, riñón, cerebro, glándulas mamarias, cérvix, páncreas, estómago, colon y pulmón^(5,24). A nivel celular, la síntesis de sFRP4 ocurre en el núcleo, mientras que las modificaciones posteriores y su almacenamiento se suceden en el retículo endoplasmático perinuclear. Con respecto a la secreción de la proteína, ésta tiene lugar mediante vesículas procedentes del retículo y dirigidas hacia la membrana celular. Tanto la localización celular como la secreción de sFRP4 están mediadas por el ligando Wnt3a. La presencia de éste se traduce en la formación de agregados oligoméricos entre sFRP4 y CRD en la región perinuclear y, por ende, se da una redistribución intracelular de la proteína^(19,25).

Vías de señalización del Wnt y sFRP4

Desde el descubrimiento del primer gen codificante para Wnt (Wnt1) hasta hoy, se ha logrado identificar un total de 19 genes que codifican para estas glicoproteínas. La familia de proteínas Wnt presenta un alto grado de conservación a través de la evolución, desde el género *Drosophila*, hasta los vertebrados. Estas proteínas son fundamentales para el correcto desarrollo embrionario y el mantenimiento de la homeostasis en el adulto^(7,26). La familia de ligandos Wnt hace referencia a un conjunto de glicoproteínas solubles que se caracterizan por unirse con receptores FZD, principalmente, y correceptores LRP5/6 (proteínas relacionadas con el receptor de lipoproteínas de baja densidad, LDL)⁽⁷⁾. Su actividad se centra en el inicio de una cascada de señalización donde la β - catenina juega un papel clave, diferenciando entre la vía canónica (dependiente de la β - catenina) y la vía no canónica (independiente de la β - catenina)⁽²⁷⁾.

Por su parte, los receptores FZD se integran dentro de una familia de proteínas constituidas por siete dominios transmembrana (7TM), los cuales se caracterizan por presentar CRDs en su fracción extracelular (N - terminal). Estos dominios son, de hecho, el lugar de unión de los ligandos Wnt a este receptor^(6,28).

Vía Canónica

En la vía canónica, cuando el ligando Wnt no inicia la cascada, la β - catenina es objeto de fosforilación por acción del complejo proteico de destrucción. Este está constituido por la unión de las proteínas de andamiaje APC y Axina; las proteínas quinasas CK1 y GSK3 β , y la E-3 ubiquitina ligasa β - TrCP^(29,30,31). Ello permite actuar a la ubiquitina ligasa β - TrCP sobre la β - catenina, de manera que podrá ser degradada por el proteasoma^(32,33). De esta forma, los factores de transcripción TCF/LEF reprimen los genes diana de la β - catenina mediante el reclutamiento de correceptores Groucho⁽³⁴⁾. Por otro lado, cuando el ligando Wnt se une al FZD y su correceptor LRP5/6, la vía se activa. Así, la proteína citoplasmática de andamiaje Dishevelled (Dvl) recluta a la Axina y permite la fosforilación del extremo citoplasmático del correceptor LRP5/6^(29,35,36,37,38). Como resultado de ello se da la acumulación citoplasmática de la β - catenina y la translocación al núcleo de la misma, uniéndose a TCF/LEF y desplazando a los represores Groucho^(29,34,29). Todo ello, junto con el reclutamiento de coactivadores transcripcionales como BCP y Pygo/Bcl - 9⁽⁴⁰⁾, permite la expresión de genes relacionados con la carcinogénesis como CCND1, MYC, axina2, DKK1 o LEF1^(30,33), ver **figura 2**.

Vía no canónica

La vía no canónica suele iniciarse mediante los ligandos Wnt5a y Wnt11⁽⁷⁾. Dentro de ella, podemos diferenciar entre la vía del Calcio (Ca²⁺) y la vía de la Prioridad Celular Planar (PCP)^(32,40). La primera de ellas se puede activar por unión del Wnt a FZD o bien al receptor ROR2 (*tyrosine kinase – like orphan receptor – 2*)⁽⁴¹⁾. Ello se traduce en una activación de las proteínas G, que actúan sobre la PLC, aumentando los niveles citoplasmáticos de DAGs (diacilglicéridos) e IP3 (inositol trifosfato). Por su parte, el IP3 difunde hasta el retículo endoplasmático liso (*smooth endoplasmic reticulum*, SER), permitiendo la liberación del Ca²⁺ contenido en éste^(42,43,44). Cabe destacar que, el aumento del Ca²⁺ puede darse como resultado de la inhibición de la proteína quinasa G (PKG) mediante la acción de la proteína p38^(33,45). El Ca²⁺ activa a la calcio/calmodulina dependiente de quinasa II (CaMKII) y, por ende, a la calcineurina, la cual interviene en la activación del NFAT (*nuclear factor of activated T cells*)^(44,46). Por su parte, la actuación de los DAGs activa a la proteína quinasa C (PKC) a nivel de la membrana y como resultado de ello, el IκB actúa sobre el factor nuclear κB (NF – κB). Este último migrará al núcleo, de manera que, junto con el NFAT, intervendrán como factores de transcripción^(32,43), ver **figura 2**.

Por otro lado, la vía PCP se inicia cuando la unión de Wnt al FZD activa a las proteínas de unión a GTP RhoA y Rac, así como a sus quinasas efectoras: Rho – quinasa y JNK, promoviendo su translocación al núcleo^(40,47). La vía se ve interrumpida por la acción las proteínas Van Gogh (Vangl) y Prickle (Pk)^(35,48), ver **figura 2**. Esta vía se asocia con la reordenación del citoesqueleto y adhesión celular, regulando los movimientos de la célula y su disposición^(35,40). Es importante mencionar que la cascada no tiene porqué ser estrictamente a nivel epitelial⁽²⁸⁾.

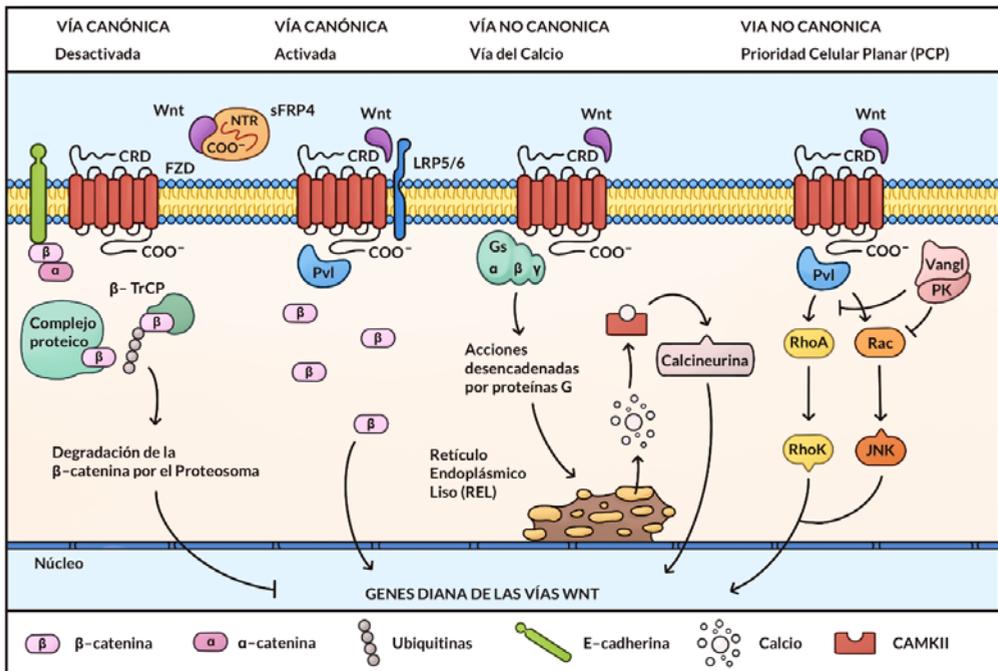


Figura 2. Representación de las vías de señalización del Wnt. Se aprecian la vía canónica (en su estado activo e inactivo) y la vía no canónica (vía del calcio y de la Prioridad Celular Planar, PCP).

Mecanismos de acción de sFRP4

Las modificaciones conformacionales posteriores a la síntesis de sFRP4 dan lugar a una homología del 30% entre los sitios de unión de los receptores FZD para los ligandos Wnt y los CRD de la proteína^(19,20,24). En la actividad de sFRP4 se requieren la presencia tanto del dominio CRD como del NTR. Con respecto al papel del primero, es el lugar por el cual se establece la unión entre los ligandos Wnt y la glicoproteína mediante la formación de puentes disulfuro. Por otro lado, la importancia del dominio NTR radica en que éste es el encargado de conferir estabilidad a la estructura proteica, permitiendo así una unión eficaz^(5,6).

La homología existente entre el CRD de los receptores FZD y sFRP4 permite a los ligandos Wnt la capacidad de unirse tanto al receptor como a la proteína. De esta forma, en caso de que se establezca la unión con ésta última, no se desencadenará el inicio de la cascada de señalización del Wnt. Todo ello hace que se le atribuya a sFRP4 la función de inhibidor o modulador negativo de la vía, principalmente^(5,37,49,50,51). Así mismo, se afirma que sFRP4 interviene como regulador competitivo en la vía de señalización del Wnt⁽⁵²⁾. Por otro lado, existen estudios que sugieren que sFRP4 se puede comportar como un complejo proteico⁽⁴⁾. Atendiendo a dicha afirmación, se apunta que la actividad de la proteína va más allá de la inhibición de dicha vía, pudiendo actuar del mismo modo como transportador de proteínas o de ligandos Wnt de amplio rango. Es decir, llevando los ligandos de zonas con menor densidad de receptores, a aquellas donde existe una mayor concentración de los mismos^(4,5).

Según los trabajos de Pawar & Rao y Claudel *et al.*, se pueden resumir los diversos mecanismos de acción de sFRP4 como modulador de la vía de señalización del Wnt en los siguientes puntos.

- a. La interacción de sFRP4 con el ligando Wnt a través de cualquiera de los dos dominios se conoce como antagonismo clásico.
- b. A bajas concentraciones de sFRP4 se ha apreciado un aumento de la actividad de la cascada de señalización del Wnt. Dicho fenómeno tiene lugar mediante un mecanismo todavía desconocido.
- c. La inhibición del inicio de la cascada de señalización del Wnt se puede llevar a cabo por la formación de complejos inactivos entre los receptores FZD y sFRP4.
- d. La unión simultánea del ligando Wnt a sFRP4 y el receptor FZD favorece la señal de transducción.

De esta forma, se puede apreciar que sFRP4 interviene en la regulación de tres vías metabólicas relacionadas con el Wnt, como son la vía canónica, la vía no canónica del calcio y la vía no canónica PCP. Por otro lado, se ha observado que las proteínas sFRP son capaces de interactuar con otras moléculas diferentes a las que intervienen en las vías del Wnt, como es el caso de la BMP (*bone morphogenetic protein*)⁽⁵⁾.

sFRP4 en el cáncer de mama

La génesis tumoral requiere de multitud de procesos celulares como son el desarrollo, la proliferación, la migración y la apoptosis; en los cuales las vías de señalización del Wnt presentan un papel clave^(2,3,7). Por ello, se puede afirmar la existencia de una correlación entre la cascada de señalización del Wnt y el cáncer de mama en humanos^(7,53). Además, se ha descrito que sFRP4 es una pieza clave para el inicio de la apoptosis en el cáncer de mama a través de la inhibición de la vía de señalización Akt/PKB, la cual bloquea la apoptosis^(2,3).

El medio condicionante tumoral (*tumour conditioned medium*, TCM) que conforma el microambiente es necesario para que se den los cambios adecuados en la morfología y la función de aquellos componentes celulares no cancerígenos que rodean al tumor, como es el caso de las células madre mesenquimales, macrófagos, células endoteliales, células epiteliales y fibroblastos. Como resultado de la presencia de este TCM, se originan fibroblastos asociados al tumor (*tumour – associated fibroblasts*, TAFs), los cuales contribuyen a la progresión y metástasis tumoral⁽⁵⁴⁾. Debido a las diversas propiedades que presenta sFRP4 (antitumorales, antiangiogénicas y propoapoptóticas) se ha demostrado que la proteína juega diferentes papeles en el desarrollo del cáncer de mama⁽⁵⁵⁾. Como ejemplo de dicha

intervención, se ha observado que sFRP4 interfiere en la diferenciación de las células madre adiposas derivadas del tejido mesenquimal (*adipose derived mesenchymal stem cells*, ADMSCs), evitando que éstas muestren un fenotipo carcinogénico y favoreciendo la respuesta al tratamiento^(54,55).

El desencadenamiento de la carcinogénesis se asocia con eventos erráticos ocurridos a nivel genético y epigenético^(24,56). El mecanismo por el que los niveles de sFRP4 se ven disminuidos en el cáncer de mama es la hipermetilación del promotor, debido a un fallo en la actividad del enzima DNA metiltransferasa 1 (DNMT1). Como consecuencia de ello, la pérdida de las funciones contribuye a la activación de la vía del Wnt en la génesis tumoral mamaria^(1,24,57). En resumen, se afirma que **la metilación del promotor conlleva una disminución en la expresión de sFRP4**.

Por su parte, la complejidad etiológica que presenta el cáncer de mama, donde intervienen multitud de procesos, hace que sFRP4 presente varios frentes de actuación en los que su papel puede ser clave^(6,58). Atendiendo a diversos estudios *in vitro* realizados sobre tejidos cancerígenos de diverso tipo, entre ellos el tejido mamario; existe una disminución en la expresión de sFRP4 en dicha enfermedad. De esta forma, un aumento en los niveles de la proteína se tradujo en una reversión de la patología^(6,7,55). Sin embargo, se ha podido determinar que, en ciertos casos, un aumento en la expresión no se corresponde necesariamente con la apoptosis celular o con una disminución de los mecanismos anteriores. Esto puede deberse a la implicación de sFRP4 en otras vías de señalización⁽⁵⁵⁾. Todo ello lleva a pensar que **una disminución en la expresión de sFRP4 se asocia con la aparición del cáncer de mama**.

Finalmente, se ha observado que en concentraciones crecientes de glucosa sFRP4 interviene de forma negativa tanto en la adhesión, como en la capacidad de renovación de las células madre cancerosas (CSCs). Esto indica que la acción antiproliferativa de sFRP4 es independiente de aquellos nutrientes exógenos que son clave para el microambiente. Por otro lado, la acción de la proteína disminuye el ratio NAD⁺/NADH, haciendo a las CSCs más susceptibles al estrés inducido por las especies reactivas de oxígenos (EROs). Así mismo, sFRP4 es capaz de intervenir en el metabolismo de la glutamina, disminuyendo por tanto la secreción de glutamato⁽⁵⁵⁾. Todos estos mecanismos permiten afirmar que sFRP4 altera el metabolismo de las células madre cancerosas.

sFRP4 y el tratamiento del cáncer de mama

En el tratamiento del cáncer de mama se pueden seguir diversas estrategias. La principal de ellas es la cirugía, la cual se suele combinar con quimioterapia, radioterapia u hormonoterapia. Sin embargo, los numerosos efectos adversos y la posibilidad de desarrollar resistencia al tratamiento, hacen que los esfuerzos científicos se dirijan a buscar tratamientos que aborden la patología de una forma más específica^(44,59,60).

Desde el descubrimiento de sFRP4, esta proteína se ha asociado con el inicio y el desarrollo del cáncer⁽⁵⁵⁾. De acuerdo con dicha afirmación, existen estudios que se han focalizado en dicha proteína y el tratamiento del cáncer de mama. Siguiendo esta línea, se ha descrito un aumento de la apoptosis como resultado de la intervención de sFRP4 en el ciclo celular de las células cancerosas^(2,3,61). Dicha actividad se ve incrementada cuando la proteína se asocia con tratamiento quimioterápico. Ello se debe a un aumento en la actividad de la caspasa3, de manera que se aprecia un deterioro importante en las membranas mitocondriales de las CSCs. Todo ello indica que las células se encuentran próximas a la muerte. Además, sFRP4 actúa promoviendo la expresión de genes proapoptóticos (Bax) y disminuyendo la de genes antiapoptóticos (Bcl - x1), así como la de genes procarcinogénicos (ABCG2, CNDD1)⁽⁶¹⁾.

Por su parte, el uso de los ligandos Wnt y sus receptores como diana terapéutica demostró eficacia en modelos humanos y animales, aunque sus efectos en la metástasis del cáncer de mama no son contundentes⁽⁷⁾. Así mismo, se ha llegado a establecer una correlación entre el papel que desempeñan las CSCs en el inicio y desarrollo de la enfermedad con la vía de señalización del Wnt^(44,61,62). Las CSCs se caracterizan por encontrarse formando agregados, que dan lugar a estructuras esféricas. De esta forma, se ha visto que el tratamiento de sFRP4 en combinación con los quimioterápicos doxorubicina y cis - platino da como resultado la segregación de dichas estructuras y una disminución en el número

de receptores en la membrana. Por lo tanto, se puede afirmar que sFRP4 permite a los agentes quimioterápicos que actúen inhibiendo la proliferación⁽⁶¹⁾.

Anteriormente se ha apuntado que la disminución de la expresión de sFRP4 se debe a la hipermetilación del promotor por acción errática de la DNMT1^(1,24,57). De este modo, se ha obtenido una disminución de la supervivencia de las CSCs tumorales y una menor progresión de la enfermedad a través del aumento de la expresión de sFRP4 mediante el uso de agentes desmetilantes, como la 5 – azacitidina⁽¹⁾.

Finalmente, la diosgenina (DG) es una saponina esteroídica que se encuentra de forma natural en plantas como el ñame o el fenogreco y que se caracteriza por presentar propiedades antitumorales en determinados tipos de cáncer. Este fenómeno tiene su explicación en la activación de la proteína p53 y la vía de las caspasas. Por su parte, el tratamiento de CSCs procedentes de tumores mamarios, mediante la combinación de sFRP4 y DG como agentes terapéuticos, se tradujo en una disminución de la supervivencia de las células y una menor progresión de la enfermedad⁽⁶³⁾.

Conclusión

La etiología del cáncer de mama es muy compleja debido a su perfil multifactorial, en el que convergen multitud de procesos. Todo ello, junto con los diversos efectos adversos que presenta el tratamiento de la enfermedad; justifica que los esfuerzos científicos se dirijan en el avance hacia una medicina cada vez más personalizada y menos invasiva. Dichos avances se basan en el conocimiento de las bases moleculares de las distintas patologías. En relación al cáncer, uno de los mecanismos celulares que desempeña un papel fundamental en el inicio y desarrollo de la patología es la cascada de señalización del Wnt. Dentro de los inhibidores de dicha vía se localiza la glicoproteína sFRP4, aunque el mecanismo de acción de ésta no está definido por completo. De esta forma, apreciamos que un mayor estudio de las bases moleculares del cáncer de mama y la vía del Wnt, así como del mecanismo de acción de sFRP4; supondrá un gran avance en aras de alcanzar un tratamiento médico más personalizado.

Con objeto de conocer las bases moléculas de las enfermedades y las posibles alternativas para su tratamiento, tanto la genética como la epigenética están adquiriendo una relevancia destacable en la actualidad. Se ha observado que la disminución en la expresión de sFRP4 se debe a la hipermetilación del promotor como resultado de la actividad errónea de la DNMT1. Así mismo, se ha observado que sFRP4 es un elemento crítico para el inicio y la progresión de la enfermedad a nivel del tejido mamario. De igual forma, la asociación de la proteína con los agentes quimioterápicos destinados al tratamiento del cáncer de mama ha supuesto una sinergia en los efectos, obteniendo resultados notables. Sin embargo, el número de investigaciones en las que se relaciona a sFRP4 con el cáncer de mama no son suficientes para considerar a dicha proteína como biomarcador de la enfermedad. Debido al gran potencial de sFRP4, futuras líneas de investigación dirigidas hacia la determinación de sFRP4 como biomarcador, realizadas en tejidos humanos, cultivos celulares o líneas celulares humanas; así como la modificación epigenética de su expresión, serán de gran aporte científico para el avance en el tratamiento, diagnóstico y pronóstico del cáncer de mama.

Bibliografía

1. Deshmukh A, Arfuso F, Newsholme P, Dharmarajan A. *Epigenetic demethylation of sFRPs, with emphasis on sFRP4 activation, leading to Wnt signaling suppression and histone modifications in breast, prostate, and ovary cancer stem cells.* Int J Biochem Cell Biol. 2019; 109:23–32. doi: 10.1016/j.biocel.2019.01.016
2. Granados-Principal S, Quiles JL, Ramírez-Tortosa C, et al. *Hydroxytyrosol inhibits growth and cell proliferation and promotes high expression of sfrp4 in rat mammary tumours.* Mol Nutr Food Res. 2011; 55(1):117–126. doi: 10.1002/mnfr.201000220
3. Pohl S, Scott R, Arfuso F, Perumal V, Dharmarajan A. *Secreted frizzled – related protein 4 and its implications in cancer and apoptosis.* Tumor Biol. 2014; 36(1):143–152. doi: 10.1007/s13277-014-2956-z

4. Vincent KM, Postovit L M. *A pan – cancer analysis of secreted Frizzled – related proteins: re – examining their proposed tumour suppressive function.* Sci Rep. 2017; 7:42719. doi: 10.1038/srep42719
5. Pawar NM, Rao P. *Secreted frizzled – related protein 4 (sFRP4) update: A brief review.* Cell Signal. 2018; 45:63–70. doi: 10.1016/j.cellsig.2018.01.019
6. Vincent KM, Postovit LM. *Matricellular proteins in cancer: a focus on secreted Frizzled – related proteins.* J Cell Commun. 2018; 12(1):103–112. doi: 10.1007/s12079-017-0398-2
7. Yin P, Wang W, Zhang Z, Bai Y, Gao J, Zhao C. *Wnt signaling in human and mouse breast cancer: Focusing on Wnt ligands, receptors and antagonists.* Cancer Sci. 2018; 109(11):3368–3375. doi: 10.1111/cas.13771
8. Wu K, Li Z H, Yi W, et al. *Restoration of secreted frizzled-related protein 1 suppresses growth and increases cisplatin sensitivity in laryngeal carcinoma cells by downregulating NHE 1.* Int J Clin Exp Pathol. 2017; 10(8):8334–8343.
9. Baharudin R, Yew Fu Tieng F, Lee LH, Saykima Ab Mutalib N. *Epigenetics of SFRP1: The Dual Roles in Human Cancers.* Cancers. 2020; 12 (445):1–20. doi: 10.3390/cancers12020445
10. Yu J, Xie Y, Li M, et al. *Association between SFRP promoter hypermethylation and different types of cancer: A systematic review and meta-analysis.* Oncol Lett. 2019; 18(4):3481–3492. doi: 10.3892/ol.2019.10709
11. Liu Y, Zhou Q, Zhou D, Huang C, Meng X, Li J. *Secreted frizzled-related protein 2-mediated cancer events: Friend or foe?* Pharmacol Rep. 2017; 69(3):403–408. doi: 10.1016/j.pharep.2017.01.001
12. Huang C, Ye Z, Wan J, et al. *Secreted Frizzled – Related Protein 2 Is Associated with Disease Progression and Poor Prognosis in Breast Cancer.* Dis Markers. 2019:1– 8. doi: 10.1155/2019/6149381
13. Bernascone I, González T, Barea MD, et al. *Sfrp3 modulates stromal-epithelial crosstalk during mammary gland development by regulating Wnt levels.* Nat Commun. 2019; 10(1):1–17. doi: 10.1038/s41467-019-10509-1
14. Bravo D, Salduz A, Shogren KL, et al. *Decreased local and systemic levels of sFRP3 protein in osteosarcoma patients.* Gene. 2018; 674:1–7. doi: 10.1016/j.gene.2018.06.059
15. Claudel M, Jouzeau JY, Cailotto F. *Secreted Frizzled – related proteins (sFRPs) in osteoarticular diseases: much more than simple antagonists of Wnt signaling?* The FEBS J. 2019; 286(24):4832–4851. doi: 10.1111/febs.15119
16. Chen Y, Zou D, Wang N, et al. *SFRP5 inhibits the migration and invasion of melanoma cells through Wnt signaling pathway.* Onco Targets Ther. 2018; 11:8761–8772. doi: 10.2147/OTT.S181146
17. Xu Q, Lü Z, Wang X, Zhu Q, Wu H. *Secreted frizzled – related protein 5 suppresses aggressive phenotype and reverses docetaxel resistance in prostate cancer.* J Investig Med. 2019; 67(6):1009–1017. doi: 10.1136/jim-2018-000849
18. Lin HW, Fu C-F, Chang MC, et al. *CDH1, DLEC1 and SFRP5 methylation panel as a prognostic marker for advanced epithelial ovarian cancer.* Epigenomics. 2018; 10(11):1397–1413. doi: 10.2217/epi-2018-0035
19. Bukhari SA, Yasmin A, Zahoor MA, Mustafa G, Sarfraz I, Rasul A. *Secreted frizzled – related protein 4 and its implication in obesity and type – 2 diabetes.* Life. 2019; 71(11):1701–1710. doi: 10.1002/iub.2123
20. Azuma K, Zhou Q, Kubo K. *Morphological and molecular characterization of the senile osteoporosis in senescence – accelerated mouse prone 6 (SAMP6).* Med Mol Morphol. 2018; 51:139–146. doi: 10.1007/s00795-018-0188-9.
21. Bergmann K, Sypniewska G. *Secreted frizzled – related protein 4 (SFRP4) and fractalkine (CX3CL1) – Potential new biomarkers for β – cell dysfunction and diabetes.* Clin Biochem. 2014; 47(7–8):529–532. doi: 10.1016/j.clinbiochem.2014.03.007

22. Gene: SFRP4 (ENSG00000106483) – Marked – up Sequence – Homo sapiens – Ensembl Genome Browser 91. [monografía en Internet]. Granada: Ensembl.org.; 2021 [acceso 30 de marzo de 2021]. Disponible en: https://www.ensembl.org/Homo_sapiens/Gene/Summary?db=core;g=ENSG00000106483;r=7:37905932-38025695.
23. Kitazawa S, Haraguchi R, Kitazawa R. *Morphology – oriented epigenetic research*. *Histochem Cell Biol*. 2018; 150(1):3–12. doi: 10.1007/s00418-018-1675-8
24. Carmon KS, Loose DS. *SFRP4 (Secreted Frizzled – Related Protein 4)*. *Atlas Genet Cytogenet Oncol Hematol*. 2010; 14 (3): 296 – 300.
25. Perumal V, Krishnan K, Gratton E, Dharmarajan AM, Fox SA. *Number and brightness analysis of sFRP4 domains in live cells demonstrates vesicle association signal of the NLD domain and dynamic intracellular responses to Wnt3a*. *Int J Biochem Cell Biol*. 2015; 64:91–96. doi: 10.1016/j.biocel.2015.03.010
26. Wilson DH, Jarman EJ, Mellin RP, et al. *Non – canonical Wnt signaling regulates scarring in biliary disease via the planar cell polarity receptors*. *Nat Commun*. 2020; 11(1):11–13. doi: 10.1038/s41467-020-14283-3
27. Cassuto J, Folestad A, Göthlin J, Malchau H, Kärrholm J. *The key role of proinflammatory cytokines, matrix proteins, RANKL/OPG and Wnt/ β – catenin in bone healing of hip arthroplasty patients*. *Bone*. 2017; 107:66–77. doi: 10.1016/j.bone.2017.11.004
28. Yang S, Wu Y, Xu TH, et al. *Crystal structure of the Frizzled 4 receptor in a ligand-free state*. *Nature*. 2018; 560(7720):666–670. doi: 10.1038/s41586-018-0447-x
29. Nusse R, Clevers H. *Wnt/ β – Catenin Signaling, Disease, and Emerging Therapeutic Modalities*. *Cell*. 2017; 169(6):985–999. doi: 10.1016/j.cell.2017.05.016
30. Steinhart Z, Angers S. *Wnt signaling in development and tissue homeostasis*. *Development*. 2018; 145(11):1–8. doi: 10.1242/dev.146589
31. Galluzzi L, Spranger S, Fuchs E, López – Soto A. *WNT Signaling in Cancer Immunosurveillance*. *Trends Cell Biol*. 2019; 29 (1): 44 – 65. doi: 10.1016/j.critrevonc.2015.12.005
32. Chae W-J, Bothwell ALM. *Canonical and Non-Canonical Wnt Signaling in Immune Cells*. *Trends Immunol*. 2018; 39(10):830–847. doi: 10.1016/j.it.2018.08.006
33. van Schie EH, van Amerongen R. *Aberrant Wnt/CTNNB1 Signaling as a Therapeutic Target in Human Breast Cancer: Weighing the Evidence*. *Front Cell Dev Biol*. 2020; 8: 25. doi: 10.3389/fcell.2020.00025
34. Zhang S, Lin H, Kong S, et al. *Physiological and molecular determinations of embryo implantation*. *Mol Asp Med*. 2013; 34(5):939–980. doi: 10.1016/j.mam.2012.12.011
35. Gao C, Chen YG. *Dishevelled: The hub of Wnt signaling*. *Cell Signal*. 2010; 22(5):717–727. doi: 10.1016/j.cellsig.2009.11.021
36. Taciak B, Puszynska I, Kiraga L, Bialasek M, Krol M. *Wnt signaling pathway in development and cancer*. *J Physiol Pharmacol*. 2018; 96(2):185–196. doi: 10.26402/jpp.2018.2.07
37. van Andel H, Kocemba KA, Spaargaren M, Pals ST. *Aberrant Wnt signaling in multiple myeloma: molecular mechanism and targeting options*. *Leukemia*. 2019; 33(5):1063–1075. doi: 10.1038/s41375-019-0404-1
38. Zhong Z, Virshup DM. *Wnt Signaling and Drug Resistance in Cancer*. *Mol Pharmacol*. 2020; 97(2):72–89. doi: 10.1124/mol.119.117978
39. Duchartre Y, Kim Y M, Kahn M. *The Wnt signaling pathway in cancer*. *Crit Rev Oncol Hematol*. 2016; 99:141–149.
40. Katoh M. *Canonical and non-canonical WNT signaling in cancer stem cells and their niches: Cellular heterogeneity, omics reprogramming, targeted therapy and tumor plasticity (Review)*. *Int J Oncol*. 2017; 51(5):1357–1369. doi: 10.3892/ijo.2017.4129

41. Nishita M, Saji T, Minami Y. [Non – canonical Wnt signaling and celular responses]. *Clin Calcium*. 2019; 29(3):291–297. doi: 10.20837/4201903291
42. Flores-Hernández E, Velázquez DM, Castañeda-Patlán MC, Fuentes-García G, Fonseca-Camarillo G, et al. *Canonical and non-canonical Wnt signaling are simultaneously activated by Wnts in colon cancer cells*. *Cell Signal*. 2020; 72: 109636.
43. Amal H, Gong G, Gjonjeska E, Lewis S M, Wishnok JS, et al. *S-nitrosylation of E3 ubiquitin-protein ligase RNF213 alters non-canonical Wnt/Ca²⁺ signaling in the P301S mouse model of tauopathy*. *Transl Psychiatry*. 2019; 9(1):44. doi: 10.1038/s41398-019-0388-7
44. Li X, Ortiz M A, Kotula L. *The physiological role of Wnt pathway in normal development and cancer*. *Exp Biol Med*. 2020; 245(5):411–426. doi: 10.1177/1535370220901683
45. Uehara S, Udagawa N, Kobayashi Y. *Non-canonical Wnt signals regulate cytoskeletal remodeling in osteoclasts*. *Cell Mol Life Sci*. 2018; 75(20):3683–3692. doi: 10.1007/s00018-018-2881-1
46. Corda G, Sala A. *Non-canonical WNT/PCP signalling in cancer: Fzd6 takes centre stage*. *Oncogenesis*. 2017;6(7):e364. doi: 10.1038/oncsis.2017.69
47. López-Escobar B, Caro-Vega JM, Vijayraghavan D S, et al. *The non – canonical Wnt – PCP pathway shapes the mouse caudal neural plate*. *Development*. 2018; 145(9):1–15. doi: 10.1242/dev.157487
48. Wang M, Marco P, Capra V, Kibar Z. *Update on the Role of the Non-Canonical Wnt/Planar Cell Polarity Pathway in Neural Tube Defects*. *Cells*. 2019; 8(10):1198. doi: 10.3390/cells8101198
49. Zhan T, Rindtorff N, Boutrons M. *Wnt signaling in cancer*. *Oncogene*. 2017; 36(11):1461–1473. doi: 10.1038/onc.2016.304
50. Mäkitie RE, Constantini A, Kämpe A, Alm JJ, Mäkitie O. *New Insights Into Monogenic Causes of Osteoporosis*. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2019; 10: 70. doi: 10.3389/fendo.2019.00070
51. Mandal S, Gamit N, Varier L, Dharmarajan A, Warriar S. *Inhibition of breast cancer stem – like cells by a triterpenoid, ursolic acid, via activation of Wnt antagonist, sFRP4 and suppression of miRNA – 499a – 5p*. *Life Sci*. 2021; 265: 118854. doi: 10.1016/j.lfs.2020.118854
52. Awasthi A, Hande MH, Rao P, Srinivas T, Hanumaiah G. *Association of Secreted Frizzled Related Protein 4 with Type 2 Diabetes Mellitus and its complications: A South Indian hospital based case control study*. *Clin Epidemiology Glob Health*. 2021; 9:171–174. doi:10.1016/j.cegh.2020.08.009
53. Tharmapalan P, Mahendrahingam M, Berman H K, Khokha R. *Mammary stem cells and progenitors: targeting the roots of breast cancer for prevention*. *EMBO J*. 2019; 38(14):1–19. doi: 10.15252/embj.2018100852
54. Visweswaran M, Keane KN, Arfuso F, Dilley RJ, Newsholme P, Dharmarajan A. *The Influence of Breast Tumor – Derived Factors and Wnt Antagonism on the transformation of Adipose – Derived Mesenchymal Stem Cells Into Tumour – Associated Fibroblasts*. *Cancer Microenv*. 2018; 11(1):71–84. doi: 10.1007/s12307-018-0210-8
55. Deshmukh A, Arfuso F, Newsholme P, Dharmarajan A. *Regulation of Cancer Stem Cells Metabolism by Secreted Frizzled – Related Protein 4 (sFRP4)*. *Cancers*. 2018; 10(2):40. doi: 10.3390/cancers10020040
56. Mashhadikhan M, Kheiri H, Dehghanifard A. *DNA methylation and gene expression of sFRP2, sFRP4, Dkk1, and Wif1 during osteoblastic differentiation of bone marrow derived mesenchymal stem cells*. *J Oral Biosci*. 2020; 62(4):394–356. doi: 10.1016/j.job.2020.08.001
57. Li A, Schleicher SM, Andre F, Mitri ZI. *Genomic Alteration in Metastatic Breast Cancer and Its Treatment*. *Am Soc Clin Oncol Educ Book*. 2020; 40:1–14. doi: 10.1200/EDBK_280463
58. Testa V, Castelli G, Pelosi E. *Breast Cancer: A Molecularly Heterogeneous Disease Needing Subtype – Specific Treatment*. *Med Sci*. 2020; 8(1):18. doi: 10.3390/medsci8010018
59. Ayala de la Peña F, Andrés R, García-Sáenz JA, Manso L, Margelí M, et al. *SEOM clinical guidelines in early stage breast cancer*. *Clin Transl Oncol*. 2018; 21(1):18–30. doi: 10.1007/s12094-018-1973-6

- 60.** Chacón López-Muñiz JI, de la Cruz Merino L, Gavilá Gregori J, et al. *SEOM clinical guidelines in advanced and recurrent breast cancer*. Clin Transl Oncol. 2018; 21(1):31–45. doi: 10.1007/s12094-018-02010-w
- 61.** Deshmukh A, Kumar S, Arfuso F, Newsholme P, Dharmarajan A. *Secreted Frizzled – Related Protein 4 (sFRP4) chemo – sensitizes cancer stem cells derived from human breast, prostate, and ovary human cell lines*. Sci Rep. 2017; 7(1):2256. doi: 10.1038/s41598-017-02256-4
- 62.** Cook D J, Kallus J, Jörnsten R, Nielsen J. *Molecular natural history of breast cancer: Leveraging transcriptomics to predict breast cancer progression and aggressiveness*. Cancer Med. 2020; 9(10):3551–3562. doi: 10.1002/cam4.2996
- 63.** Bhuvanalakshmi G, Basappa, Rangappa KS, et al. *Breast Cancer Stem – Like Cells Are Inhibited by Diosgenin, a Steroida Saponin, by the Attenuation of Wnt β – catenin Signaling via the Wnt Antagonist Secreted Frizzled Related Protein – 4*. Front Pharmacol. 2017; 8:124. doi: 10.3389/fphar.2017.00124