



FACULTAD DE MEDICINA
UNIVERSIDAD DE CANTABRIA

GRADO EN MEDICINA

TRABAJO FIN DE GRADO

Factores de transcripción oncogénicos
¿posibles dianas terapéuticas en cáncer?

Oncogenic transcription factors
possible therapeutic targets in cancer?

Autor/a: María González Román

Director/es: M.Dolores Delgado Villar

Vanessa Junco Ruisánchez

Santander, 26 mayo 2023

ÍNDICE

RESUMEN.....	ii
ABREVIATURAS	iii
1. INTRODUCCIÓN	1
2. REGULACIÓN DE LA EXPRESIÓN GÉNICA	2
2.1. REGULACIÓN DE LA TRANSCRIPCIÓN	2
2.1.1. FACTORES DE TRANSCRIPCIÓN	2
2.1.2. REGULACIÓN DEL INICIO DE LA TRANSCRIPCIÓN.....	2
2.1.3. PAUSA TRANSCRIPCIONAL.....	3
2.1.4. ELEMENTOS REGULADORES DE LA EXPRESIÓN GÉNICA	4
2.2. ORGANIZACIÓN DE LA CROMATINA Y EPIGENÉTICA.....	5
3. REGULADORES DE LA TRANSCRIPCIÓN IMPLICADOS EN CÁNCER.....	6
3.1. MECANISMOS DE DESREGULACIÓN	6
4. PRINCIPALES REGULADORES DE TRANSCRIPCIÓN ONCOGENICOS Y TERAPIAS DIRIGIDAS	9
4.1. REGULADOR TRANSCRIPCIONAL P53	9
4.1.1. ESTRUCTURA DE P53	9
4.1.2. FUNCIÓN Y REGULACIÓN DE P53	11
4.1.3. P53 Y CÁNCER.....	12
4.1.4. TERAPIAS DIRIGIDAS CONTRA P53	14
4.2. REGULADOR TRANSCRIPCIONAL MYC.....	19
4.2.1. ESTRUCTURA DE MYC.....	20
4.2.2. FUNCIÓN Y REGULACIÓN DE MYC.....	22
4.2.3. MYC Y CÁNCER.....	23
4.2.4. TERAPIAS DIRIGIDAS CONTRA MYC.....	26
4.3. REGULADOR TRANSCRIPCIONAL RUNX1	30
4.3.1. ESTRUCTURA Y FUNCION DE RUNX1	30
4.3.2. RUNX1 Y CÁNCER.....	32
4.3.3. TERAPIAS DIRIGIDAS CONTRA RUNX1	36
4.4. REGULADOR TRANSCRIPCIONAL MLL.....	38
4.4.1. ESTRUCTURA Y FUNCIÓN DE MLL	38
4.4.2. MLL Y CÁNCER	40
4.4.3. TERAPIAS DIRIGIDAS CONTRA MLL	41
5. CONCLUSIONES	46
6. AGRADECIMIENTOS.....	46
7. BIBLIOGRAFÍA	47

RESUMEN

El cáncer es una enfermedad heterogénea de base genética y epigenética cuyo estudio ha crecido exponencialmente en las últimas décadas dada la alta prevalencia poblacional. Los reguladores transcripcionales oncogénicos son numerosos y controlan procesos celulares fundamentales como la proliferación, diferenciación, respuesta al daño genotóxico, entre otros. Las alteraciones en estos factores en cáncer incluyen mutaciones, reordenamientos cromosómicos y expresión desregulada. Este trabajo de revisión comienza con una visión general sobre la regulación de la expresión génica y el papel de los factores de transcripción en cáncer y, a continuación, se centra en cuatro de los principales factores, alterados por diferentes mecanismos en prácticamente todos los tipos de cáncer humano: p53, MYC, RUNX y MLL. Se describe su estructura y función, su papel en el desarrollo de la enfermedad, y las nuevas terapias dirigidas. El conocimiento de las alteraciones que sufren los factores de transcripción oncogénicos está impulsando nuevas dianas terapéuticas consiguiendo el desarrollo de una medicina más personalizada, con tratamientos más efectivos y menos tóxicos, que aumentan tanto la supervivencia como la calidad de vida de los pacientes.

Palabras clave: cáncer, factores de transcripción, dianas terapéuticas, p53, MYC, RUNX, MLL.

Cancer is a genetic and epigenetic heterogeneous disease that has exponentially grown in research interest over the last decades due to its high population prevalence. Oncogenic transcriptional regulators are numerous and control fundamental cellular processes such as proliferation, differentiation, and response to genotoxic damage, among others. Alterations in these factors in cancer include mutations, chromosomal rearrangements, and dysregulated expression. This review work begins with an overview of gene expression regulation and the role of transcription factors in cancer. It then focuses on four major factors, altered by different mechanisms in virtually all types of human cancer: p53, MYC, RUNX, and MLL. It covers their structure and function, their role in disease development, and novel targeted therapies. Understanding the alterations that oncogenic transcription factors undergo is driving the identification of new therapeutic targets, leading to the development of more personalized medicine with more effective and less toxic treatments, ultimately improving both survival and quality of life for patients.

Key words: cancer, transcription factors, therapeutic targets, p53, MYC, RUNX, MLL.

ABREVIATURAS

ATH: motivos AT-*hook* de unión al ADN

ATRA: ácido retinoico todo trans

BET: *bromodomain and extra terminal domain*

BRD: proteínas con bromodominio

COMPASS: complejo de proteínas asociado a la proteína Set1 de S

CpG: dinucleótido de citosina y guanina

CTD: dominio C-terminal

CTPS1: inhibidores de la CTP sintasa 1

DBD: dominio de unión al ADN de p53

DDR: DNA Damage Response

DRB: 5,6-dicloro-1- β -D - ribofuranosilbencimidazol

EMT: transición epitelio mesénquima

FDA: Administración de Alimentos y Medicamentos de EEUU

FT: factores de transcripción

GOF: ganancia de función

HDACs: histona-deacetilasas

HDM: histona-demetilasas

HLH-LZ: domino de dimerización hélice-bucle-hélice- cremallera de leucinas

IC50: del inglés *half maximal inhibitory concentration*

LBD: domino de unión al ligando

LLA: leucemia linfoblástica aguda

LLC: leucemia linfoblástica crónica

LMA: leucemia mieloide aguda

LOF: pérdida de función

MLL-R: leucemias con reordenamiento de MLL

P-TEFb: factor de elongación positivo de la transcripción

P53Abs: anticuerpos anti-p53

PAFc: complejo factor asociado a la polimerasa

PARP: poli ADP ribosa polimerasa

PHD- finger: homeodominio presente en plantas

PP: región de la poliprolina

PRD: estructura rica en prolina

RE: elemento respuesta

RHD: dominio de homología runt

RNAPII: ARN polimerasa II

SE: superpotenciadores

SiARN: ARN interferentes

SMD: síndromes mielodisplásicos

SNL: señal de localización nuclear

TAD: dominios de transactivación

TAF: factores asociados a TBP

TATA: estructura de 8 pares de bases AT

TBP: proteína de unión a TATA

TD: dominio de tetramerización

TE: potenciadores típicos

1. INTRODUCCIÓN

Los factores de transcripción son un conjunto de proteínas esenciales en la regulación de la expresión génica. A través de diferentes tipos de dominios, se unen a secuencias específicas del ADN como *enhancers*, *insulators* y silenciadores y regulan la transcripción de sus genes diana. También son importantes los reguladores epigenéticos que modulan la estructura de la cromatina y, por tanto, la expresión génica. Se ha demostrado que las alteraciones de estos factores producen trastornos en los genes diana, siendo así la base oncogénica de muchos tipos de cáncer.

Los reguladores transcripcionales implicados en cáncer regulan procesos celulares tales como la proliferación, diferenciación, respuesta a daño genotóxico, capacidad de invasión y metástasis, etc. Es decir, están implicados en muchos de los “Hallmarks” del cáncer descritos por Hanahan & Weinberg (2011). Es por ello que, desde hace años, se están investigando estos factores como posibles dianas terapéuticas. Sin embargo, se trata de proteínas consideradas históricamente como “undruggable”, difíciles de revertir su anomalía por carecer muchas de ellas de actividad enzimática con sitios activos que se pueden inhibir (como las quinasas), además de estar localizadas en el núcleo celular y no ser tan accesibles como las proteínas de superficie (como receptores). Este paradigma está cambiando y se están desarrollando multitud de estrategias terapéuticas dirigidas contra estos factores de transcripción.

En este trabajo se revisará la bibliografía más reciente de los últimos años sobre los principales factores de transcripción oncogénicos, su importancia en la tumorigénesis y su papel como nuevas dianas terapéuticas. Comenzaremos describiendo a grandes rasgos las fases de la transcripción, así como los principales reguladores de la expresión génica y la influencia de la epigenética en la misma. También hablaremos sobre los factores de transcripción, y su papel fisiológico en el control y regulación de estos procesos. A continuación, pasaremos a explicar los principales mecanismos de desregulación que tienen relevancia en el desarrollo y/o mantenimiento del cáncer. Estos mecanismos moleculares incluyen mutaciones puntuales, reordenamientos cromosómicos, amplificación génica y expresión desregulada, entre otros.

Existen numerosos factores de transcripción desregulados, tanto en tumores sólidos como hematológicos. De entre todos ellos hemos profundizado en cuatro: p53, MYC, RUNX y MLL. P53 es un oncosupresor cuya función se ve afectada, sobre todo por mutación, en la mayoría de los tumores. MYC es un oncogén que aparece desregulado en aproximadamente el 70% de los tumores. RUNX1 se está evidenciando recientemente como un regulador maestro de genes de diferenciación, alterando numerosos *hallmarks* en tumores sólidos y hematológicos. Finalmente, MLL es un importante regulador epigenético cuyos reordenamientos confieren mal pronóstico en tumores hematológicos. En este trabajo se realiza una completa revisión de los mismos, explicando para cada uno de ellos su estructura y función fisiológicas, su implicación y principales alteraciones en cáncer y, por último y objetivo de este trabajo, todo el conjunto de terapias dirigidas contra estos factores muchos de los cuales ya se encuentran en ensayos clínicos como nuevos tratamientos antitumorales.

2. REGULACIÓN DE LA EXPRESIÓN GÉNICA

La regulación de la expresión génica es necesaria para mantener tanto la estructura como la función celular. De todo el conjunto de genes de nuestro genoma, solamente se expresa una pequeña fracción de los mismos en un momento determinado, dependiendo del tipo celular, estadio de la diferenciación o del ciclo celular, etc. influenciado, además, por estímulos tanto externos como intracelulares. Esta expresión génica se encuentra regulada en diferentes puntos, siendo el más importante el inicio de la transcripción. En esta etapa, la regulación es llevada a cabo por los factores de transcripción, proteínas que se unen específicamente al ADN para estimular o reprimir la expresión de los genes, y por otros grupos de proteínas coactivadoras y correpressoras. Existe también una regulación epigenética, que se encarga de modular la estructura de la cromatina. Las alteraciones en el conjunto de procesos implicados en la regulación de la expresión génica, forman la base de enfermedades importantes como el cáncer.

2.1. REGULACIÓN DE LA TRANSCRIPCIÓN

La regulación de la transcripción es uno de los procesos clave del control de la expresión génica. En este proceso intervienen, entre otras muchas proteínas, los factores de transcripción que reconocen secuencias específicas en el ADN de sus genes diana. A continuación, se resumen las principales proteínas y elementos reguladores en el ADN responsables de la expresión diferencial de los genes.

2.1.1. FACTORES DE TRANSCRIPCIÓN

Para comenzar con la transcripción génica, son esenciales los factores de transcripción, grupo de proteínas que se unen a secuencias específicas de ADN, controlando la transcripción de sus genes diana. Estos factores son necesarios para asegurar la expresión específica de los genes en los diferentes células y tejidos (Lambert et al., 2018; Li et al., 2022).

Un factor de transcripción debe tener dos características: afinidad de su dominio de unión al ADN y capacidad para regular la transcripción. Según su dominio de unión al ADN, podemos establecer una clasificación en diferentes familias, siendo las mayoritarias: dedos de zinc, homeodominio y hélice-giro-hélice. Encontramos también, dominios de transactivación, sobre los que se unen diferentes proteínas correguladoras de la transcripción, y dominios de dimerización como hélice-lazo-hélice y cremallera de leucinas, en los que dos dímeros se unen para reconocer secuencias específicas del ADN y unirse a las mismas (Lambert et al., 2018; Li et al., 2022).

La alteración de los factores de transcripción causará trastornos en la transcripción de sus genes diana y por lo tanto en las células. Los factores de transcripción desregulados son la base patológica de muchas enfermedades humanas, entre ellas, el cáncer (Lambert et al., 2018; Li et al., 2022).

2.1.2. REGULACIÓN DEL INICIO DE LA TRANSCRIPCIÓN

Para el inicio de la transcripción se necesitan los denominados factores generales, que consiguen la activación de la ARN polimerasa II (Figura 1). El factor de transcripción II D

(TFIID) está compuesto por la proteína de unión a TATA (TBP) y por factores asociados a TBP (TAF) (Cooper, 2021; Cramer, 2019; Delgado & Leon J., 2006). Como consecuencia de la unión de TFIID al promotor se reclutan otros factores generales que permiten la unión de la ARN polimerasa al promotor, formando el denominado complejo de pre-iniciación. Finalmente, se necesitan TFIIH que recluta a TFIIH al complejo de iniciación. TFIIH está formado por 7 subunidades que forman el complejo central y 3 subunidades que forman el subcomplejo quinasa (CDK7, MAT1 y ciclina H). Esta estructura es importante porque dos de las subunidades del complejo central (ERCC2/XDP y ERCC3/XPB) tienen actividades helicasa y ATPasa, respectivamente. Por otra parte, CDK7 fosforila el dominio C-terminal (CTD) de la ARN polimerasa II, facilitando el inicio de la transcripción (Vervoort et al., 2022). Además, para que, tanto el reclutamiento del TFIIH como la fosforilación de CDK7, sean posibles, es necesario el complejo Mediador (Vervoort et al., 2022) formado por más de 20 subunidades proteicas diferentes, que regulan la transcripción facilitando la interacción de los *enhancers* con los promotores (Cooper, 2021; Cramer, 2019).

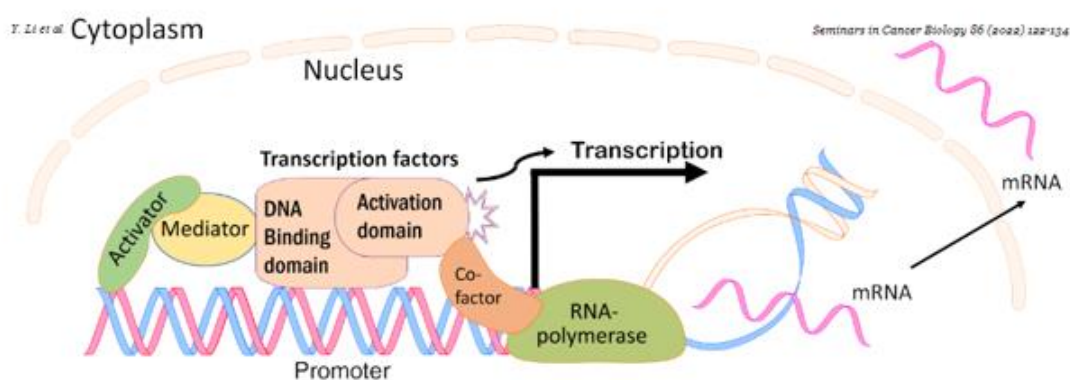


Figura 1. Esquema del proceso de inicio de la transcripción. Los factores de transcripción se unen a secuencias reguladoras de promotor del gen para iniciar la transcripción, con la cooperación de complejos proteicos coactivadores, complejo Mediador, y la ARN Pol II (Y. Li et al., 2022).

2.1.3. PAUSA TRANSCRIPCIONAL

Casi inmediatamente después del inicio de la transcripción tiene lugar un fenómeno que se conoce como pausa transcripcional, en el que la transcripción se detiene en regiones proximales al lugar de inicio. Esta pausa está mediada por la acción conjunta del factor de elongación negativo (NELF), el factor de inductor de sensibilidad DRB (DSIF, formado a su vez por SPT4 y SPT5) y por los cambios conformacionales del complejo ARN polimerasa II, que impiden la elongación del ARN (Vervoort et al., 2022).

Para finalizar esta pausa y entrar en la fase de elongación, es necesario que la ARN polimerasa II reclute el Factor positivo de elongación de la transcripción (P-TEFb), un complejo formado por CDK9 y ciclina T1. El P-TEFb fosforila el CTD del SPT5, las subunidades de NELF y residuos de la subunidad RPB1 de la ARN polimerasa II. También fosforila subunidades del PAFc (complejo del factor asociado a la polimerasa), que se une a Pol II una vez que NELF quede desplazado. Así, termina la pausa transcripcional y se inicia la elongación (Vervoort et al., 2022).

2.1.4. ELEMENTOS REGULADORES DE LA EXPRESIÓN GÉNICA

Se denominan elementos reguladores a secuencias de ADN de longitud variable que son reconocidas por los factores de transcripción, para regular la expresión génica durante procesos como la diferenciación celular o la exposición de la célula a factores de crecimiento u hormonales.

Los principales elementos reguladores son:

- **Enhancers:** los denominados *enhancers* o potenciadores suelen abarcar unas 200 a 1000 pb a los que se unen distintos factores de transcripción específicos. Su función es aumentar los niveles de transcripción de un gen. Su mecanismo de acción radica en que los potenciadores se acercan a los promotores a través de bucles de cromatina, con los que consiguen reclutar la maquinaria transcripcional. Además, actúan indiferentemente de la orientación y posición que ocupen respecto al sitio de inicio de la transcripción. Tienen la capacidad de actuar a distancia, pudiendo encontrarse incluso a decenas de Kb de distancia del gen que regulan. Existen enfermedades relacionadas con los potenciadores, el cáncer entre otras, y pueden surgir por alteración de las regiones potenciadoras o por mutaciones en los factores de transcripción que los reconocen (Delgado & Leon J., 2006).

Además de los potenciadores típicos (TE), existen otros llamados superpotenciadores (SE). Al igual que los TE, también regulan la transcripción a distancia y actúan de forma selectiva sobre los promotores de los genes. A diferencia de los TE, los SE regulan regiones de unos 20 kb de bases. Los SE se asocian a los dominios de asociación topológica (TAD), secuencias entre 200 kb y 1 Mb que dividen el genoma en grandes fragmentos de ADN. Están delimitados por una proteína, CTCF, que aísla a los SE de otras regiones dentro del genoma, limitando las interacciones entre promotores y otros elementos reguladores. Gracias a su gran capacidad de transcripción, los SE están implicados en la desregulación de muchos oncogenes (Dębek & Juszczynski, 2022).

- **Silenciadores:** por otro lado, los silenciadores, también actúan en *cis*, pero disminuyen la transcripción, ya que unen complejos represores e inhiben a los activadores. Son, en proporción, menos frecuentes y mucho menos estudiados. Se han propuesto diferentes mecanismos mediante los cuales los silenciadores regulan la transcripción: i) interrumpen la relación *enhancer*-promotor para disminuir la expresión génica, ii) compiten con los *enhancers* por ciertos sitios de unión a factores de transcripción, de forma que la unión del silenciador a este sitio, interrumpe la inducción a la transcripción, iv) pueden actuar a distancia, uniendo proteínas que añaden marcas represivas a las histonas o proteínas que facilitan la compactación, como complejos represores Polycomb (Segert et al., 2021). Mutaciones en silenciadores transcripcionales pueden estar implicados en enfermedades humanas, entre ellas el cáncer (Segert et al., 2021).

- **Insulators:** por último, tenemos los aislantes o *insulators*. Son secuencias de ADN que marcan límites entre los genes. Tienen dos funciones principales con las que logran proteger los genes que delimitan de influencias reguladoras inapropiadas: i) bloquean la unión entre potenciador y promotor (actividad de bloquear el potenciador) y ii)

impiden que la heterocromatina o cromatina condensada se extienda hacia la región de eucromatina activa (actividad barrera) (Delgado & Leon J., 2006).

2.2. ORGANIZACIÓN DE LA CROMATINA Y EPIGENÉTICA

Las células eucariotas contienen su ADN organizado y ordenado en cromosomas. La cromatina se define como el conjunto del ADN y sus proteínas relacionadas, principalmente las histonas, proteínas básicas alrededor de las cuales se enrolla el ADN formando el nucleosoma, que es la unidad estructural de la cromatina. La cromatina y sus modificaciones juegan un papel fundamental en la regulación de la expresión génica. Se denomina epigenética a las modificaciones de la cromatina que regulan la expresión génica sin producir variaciones en la secuencia del ADN y que se transmiten de forma hereditaria a las células hijas durante la división celular. Entre estos procesos encontramos la metilación del ADN en las islas CpG de los promotores que produce silenciamiento génico, así como las modificaciones postraduccionales de las “colas” de las histonas (acetilación, metilación y otras) y el remodelado de la cromatina (Tsai and So, 2017), (Li et al, 2022), (Babar et al., 2022).

Destacan tres tipos de proteínas encargadas de llevar a cabo estas modificaciones postraduccionales: *writers*, *readers* y *erasers* (Figura 2).

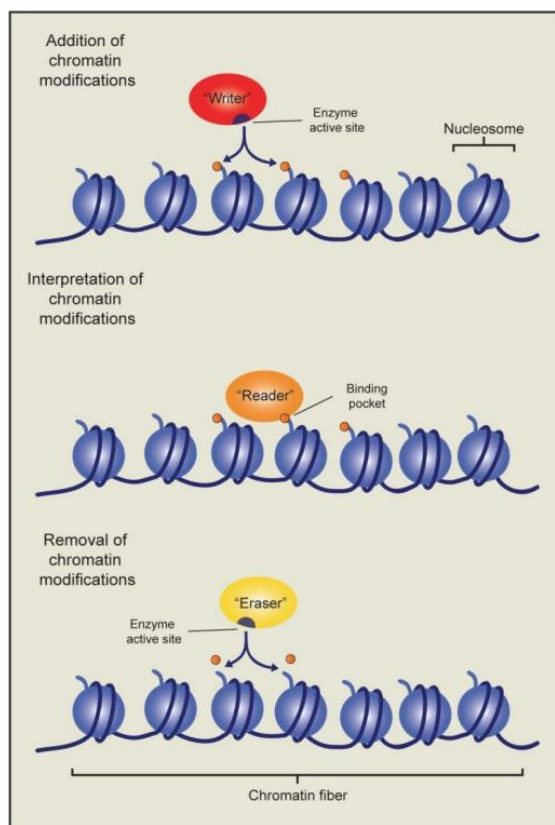


Figura 2. Modificación postraduccional de las histonas, con *writers* que añaden modificaciones, *readers* que las interpretan y *erasers* que las eliminan (Brien et al., 2016).

Los *writers* llevan a cabo modificaciones como la acetilación o metilación de las histonas, gracias a enzimas histona-acetil-transferasas (HAT) e histona-metil-transferasas (HMT), respectivamente, y la metilación del ADN por ADN-metil-transferasas (DMT). Los *readers* por su parte, reconocen y se unen a las histonas modificadas gracias a dominios propios como los bromodominios y PHD-finger, y ejecutan en ellas su acción, ya sea añadir más modificaciones o unir otras proteínas que modifiquen el entorno de la cromatina. Por último, los *erasers* revierten la acción de los *writers*, retirando los grupos metilo y acetilo de las histonas, gracias a enzimas histona-demetilasas (HDM), e histona-deacetilasas (HDAC) o los grupos metilo del ADN por las ADN demetilasas (Ahuja et al., 2016; Brien et al., 2016).

Se ha demostrado que las alteraciones epigenéticas, junto con las alteraciones genéticas, participan en la tumorigénesis. Las mutaciones o expresión aberrante de enzimas reguladoras, proteínas asociadas a las histonas y ARN no codificantes, en conjunto alteran la estructura y dinámica de la cromatina (Lee & Kim, 2022). El resultado es la represión de genes supresores de tumores y/o activación de los oncogenes. Esto hace que muchas nuevas terapias vayan enfocadas a corregir las alteraciones epigenéticas (Küçük et al., 2020; Tsai and So, 2017).

3. REGULADORES DE LA TRANSCRIPCIÓN IMPLICADOS EN CÁNCER

Los mecanismos moleculares que llevan al desarrollo del cáncer son muy numerosos, y muchos son consecuencia de mutaciones de los reguladores de la transcripción que alteran la expresión de los genes en células y tejidos. Estas mutaciones conforman la base celular patológica de muchos tipos de cáncer (Li et al., 2022; Vervoort et al., 2022).

Los factores de transcripción alterados en cáncer pueden ser, o bien puros factores de transcripción oncogénicos, que son oncogenes o activan a otros oncogenes y que conllevan el desarrollo del cáncer, o bien factores de transcripción supresores de tumores, cuya función principal es controlar la proliferación, invasión y metástasis, pero que, alterados, tendrán el efecto contrario contribuyendo a la tumorigénesis (Li et al, 2022).

Como consecuencia de estas mutaciones, se pueden producir la “adicción transcripcional” y la “adicción a los oncogenes”. Se refieren a la dependencia de las células tumorales por las alteraciones genéticas y epigenéticas que producen la desregulación de los procesos de transcripción, así como por los oncogenes que dieron lugar a su tumorigénesis (Bradner et al., 2017; Vervoort et al., 2022).

3.1. MECANISMOS DE DESREGULACIÓN

Se distinguen principalmente dos tipos de desregulación:

- **Desregulación directa:** producida por alteraciones genéticas en los procesos de control de la ARN polimerasa II en todos los genes (Vervoort et al., 2022). En este tipo de desregulación, existe una incidencia muy elevada de alteraciones en las CDK/ciclinas. Pueden estar alterados tanto los genes que las codifican, así como sus dosis génicas por

mutaciones o fusiones causadas por reordenamientos cromosómicos. Otra de sus importantes funciones es que regulan la expresión de los genes y vías de respuesta al daño al ADN (DDR, DNA Damage Response), por lo que las alteraciones en las ciclinas transcripcionales conllevan a una menor expresión de estos genes, aumentando la inestabilidad genómica y facilitando la tumorigénesis. Es por todo esto, que nuevos fármacos anticancerígenos cuyo mecanismo de acción es la inhibición de las CDK transcripcionales y las relacionadas con el ciclo celular son cada vez más prometedores (Shan et al., 2020).

- **Desregulación indirecta:** causada por alteraciones que, en vez de afectar a los factores de transcripción directamente, modifican su actividad, sus reguladores epigenéticos, o los fosforilan, alterando su expresión génica. Globalmente, se identifican muchas más alteraciones indirectas que las propias en el complejo ARN Pol II, por lo que la tumorigénesis tiene lugar con mayor frecuencia en la señalización transcripcional que en el complejo central (Bradner et al., 2017).

En conjunto, los mecanismos de desregulación de factores de transcripción en cáncer incluyen, entre otros: mutación puntual, translocación cromosómica, delección, sobreexpresión, amplificación génica y alteraciones epigenéticas.

En la Figura 3 se resumen los principales componentes del control de la expresión génica que se encuentran desregulados en cáncer. En esta desregulación se pueden diferenciar dos tipos de factores: factores *trans* y elementos *cis*.

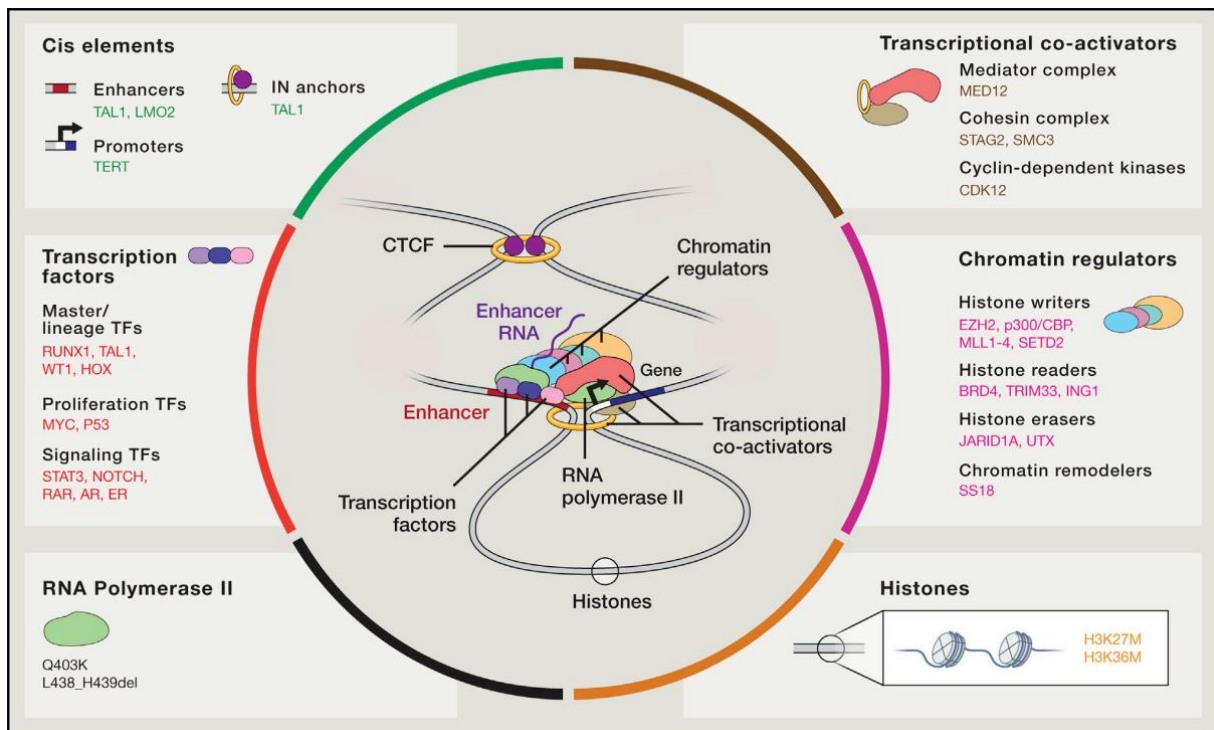


Figura 3. Ejemplos de elementos *cis* y factores *trans*, que tienen que aparecen frecuentemente mutados en células cancerosas y juegan un importante papel en la tumorigénesis (Bradner et al., 2017).

Factores *trans*, entre ellos se encuentran alterados:

- Factores de transcripción maestros como RUNX1, factores de control de proliferación como MYC o p53 o factores de señalización celular como NOTCH, RAR, AR o ER (Bradner et al., 2017). La alteración en estos factores es diana terapéutica en muchos tipos de cáncer, ya que se ha demostrado que los tumores con factores de transcripción desregulados son resistentes a la quimioterapia, y crean resistencias a otros tipos de fármacos (Li et al, 2022).
- Coactivadores transcripcionales. Estos elementos no se unen directamente a una zona específica del ADN, sino que modulan los efectos de los factores de transcripción. Destaca aquí el complejo Mediador, que activa la transcripción gracias a que los factores de transcripción lo reclutan y lo unen a las regiones potenciadoras y promotoras del ADN.
- Los reguladores de la cromatina descritos anteriormente (*writers, readers y erasers*) tienen también un papel importante. Se observa en algunos tipos de cáncer que estos reguladores epigenéticos se alteran por mutaciones o translocaciones cromosómicas y se fusionan con cofactores transcripcionales, desregulando la expresión de genes implicados en la tumorigénesis. Algunos ejemplos son CBP/p300 (HAT) y MLL (una HMT).
- En el complejo central de la ARN Pol II también se identifican alteraciones, pero muchas menos de las que cabría esperar. La mayor parte de las mutaciones ocurren aguas arribas de la polimerasa y no tanto en el propio complejo central (Bradner et al., 2017).

Elementos *cis*:

- Aparecen alteraciones en los promotores, super *enhancers* (SE) y aislantes. Los SE reclutan la maquinaria de transcripción produciendo un aumento en la expresión de los fenotipos oncogénicos. De igual modo, modifican la función de varios factores de transcripción y su desregulación en algunos tipos de cáncer. Son diferentes los procesos que llevan a alterar estos SE: translocaciones y amplificaciones del ADN, nucleaciones que unen los SE a factores de transcripción, incluso sobreexpresión o fusiones de los factores de transcripción oncogénicos (Bradner et al., 2017; Vervoort et al., 2022).
- Los aislantes han sido menos estudiados, pero en ellos también destacan diferentes alteraciones. Delimitan regiones que contienen oncogenes, y sus mutaciones contribuyen a que la cromatina sea más permisiva a la transcripción oncogénica. El origen de estas mutaciones varía desde alteraciones en la estructura cromosómica, hasta hipermetilación del ADN, incluso reordenamientos que, alterando secuencias vecinas, activan oncogenes (Bradner et al., 2017).

4. PRINCIPALES REGULADORES DE TRANSCRIPCIÓN ONCOGENICOS Y TERAPIAS DIRIGIDAS

Se han descrito numerosos factores de transcripción cuya desregulación altera la transducción de señales de importantes vías de señalización celular como NF- κ B, PI3K/AKT, VEGF, Hedgehog, β -catenina/WNT, NOTCH, entre otras. Algunos de los factores de transcripción oncogénicos más comunes son NF- κ B, OCT4, SOX2, NANOG, ZEB1, SNAIL1, TWIST, MYC, MYB, AR, ER, RAR, HIF1, STAT3, familia RUNX, familia ETS, familia MLL. Por su parte, entre los factores de transcripción supresores de tumores alterados en cáncer encontramos p53, FOXO3a, CUTL1, CBFB/RUNX1 (Y. Li et al., 2022).

Estos factores de transcripción desregulados están directamente implicados en el desarrollo de los “Hallmarks” del cáncer (Hanahan, 2022; Hanahan & Weinberg, 2011), con un papel en proliferación, bloqueo de la diferenciación, transición epitelio mesénquima, evasión del sistema inmune, inmortalización, etc. Esto conlleva a una proliferación celular incontrolada, la formación de tumores, invasión de órganos y metástasis. Además, favorecen la proliferación de células madre cancerosas, mucho más resistentes a los fármacos y causantes de recidivas oncogénicas. Como se aprecia, factores de transcripción oncogénicos o supresores de tumores expresados de manera anómala, influyen significativamente en el tratamiento de los pacientes con cáncer (Bushweller, 2019).

En los siguientes apartados, nos centraremos en la descripción detallada de algunos de estos factores de transcripción cuya desregulación juega un papel clave en cáncer y que son posibles dianas terapéuticas.

4.1. REGULADOR TRANSCRIPCIONAL P53

P53 o el “guardián del genoma”, denominado así originalmente porque se encarga de mantener la integridad del ADN, activándose en respuesta a daño genotóxico, es un factor de transcripción que se encuentra mutado en más del 50% de los cánceres y en otros muchos su función se encuentra comprometida (Hernández Borrero & El-Deiry, 2021; Levine, 2019).

4.1.1. ESTRUCTURA DE P53

La proteína p53 está formada por 393 aminoácidos organizados en cinco dominios principales: dominio de transactivación, dominio rico en prolina, dominio de unión al ADN, dominio de tetramerización y un dominio regulador (Figura 4a) (Hernández Borrero & El-Deiry, 2021; Levine, 2019).

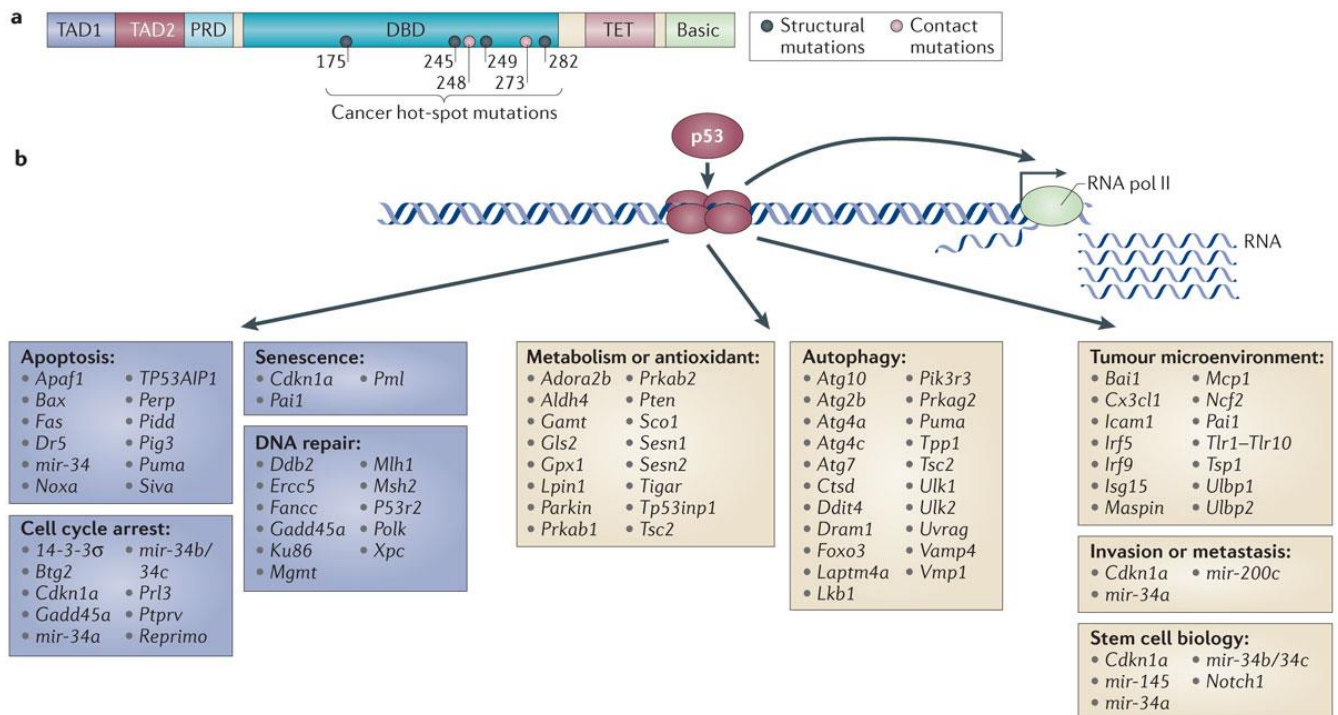


Figura 4. (a) Estructura de p53 con sus cinco dominios, las mutaciones “hot spot” en cáncer, así como (b) los principales genes diana encargados de llevar a cabo los mecanismos moleculares para la supresión tumoral (Bieging et al., 2014).

En el extremo N-terminal se encuentra el primero de los dominios, el dominio de transactivación (TAD), que a su vez se subdivide en TAD1 y TAD2. TAD1 contiene los aminoácidos 22 y 23, muy importantes ya que permiten la unión de p53 a la ubiquitina ligasa MDM2, regulador clave de la estabilidad de p53 (Hernández Borrero & El-Deiry, 2021; Levine, 2019). Cada uno de los dominios transactivadores permite que p53 se una a cofactores para ejecutar su función como inhibidor de la tumorigénesis, es así, que la supresión tanto de TAD1 como de TAD2, hace a p53 incapaz de inducir los mecanismos necesarios para evitar la lesión tumoral. Por su parte, la alteración individual de TAD1 inhibe la respuesta de p53 silvestre, por lo que la función de p53 queda anulada. En cambio, la alteración individual de TAD2, conserva ciertas funciones de p53 silvestre, capaz de inducir algunos procesos como la apoptosis y la detención del ciclo celular (Hernández Borrero & El-Deiry, 2021).

El siguiente es el dominio rico en prolina (PRD), o región de la poliprolina (PP). Su secuencia es PXXP, siendo P prolina y X cualquier aminoácido. Las deleciones en este dominio producen la translocación de p53 del núcleo al citoplasma, donde aumenta su ubiquitinación y degradación por MDM2. Además, las alteraciones en PRD, disminuyen la actividad transcripcional de p53, por lo que, en conjunto, reducen significativamente su actividad y consecuentemente la supresión tumoral (Hernández Borrero & El-Deiry, 2021).

La zona central de p53 contiene el dominio de unión al ADN (DBD). En torno a un 80% de las mutaciones de p53 se encuentran en este dominio. Gracias a este dominio, p53 se une de manera específica al elemento de respuesta (RE). Este RE, consiste en dos secuencias separadas por 0-13 pares de bases de 5'-RRRCWWGYYY-3', donde R es una

purina, C es citosina, W adenina o timina, G es guanina e Y es una pirimidina. Los genes regulados por p53 deben tener dos copias de este RE, bien sea en el promotor, intrón o corriente abajo del gen (Hernández Borrero & El-Deiry, 2021; Levine, 2019).

Como su nombre indica, el dominio de tetramerización (TD) permite que cuatro proteínas p53 se unan formando un tetrámero que es la estructura idónea para que p53 se una al ADN. Deleciones en TD, disminuyen la capacidad de unirse al ADN, su interacción con otras proteínas, e incluso modificaciones postraduccionales como la fosforilación y la ubiquitinación, siendo esta muy importante ya que devuelve a p53 a sus concentraciones basales una vez que el estrés celular ha pasado (Hernández Borrero & El-Deiry, 2021).

Por último, el dominio regulador C-terminal evita que p53 se una al ADN hasta que este dominio sea expuesto a una señal de estrés que le produzca una modificación postraducciona. Este estrés promueve la acetilación del C-terminal, que facilita la unión de p53 al DBD y estabiliza los complejos p53-ADN. Contiene, además, una señal de localización nuclear, para que p53 ejerza su función en el núcleo, y también una de exportación nuclear, para que, una vez cumplida su función, se degrade en el citoplasma (Hernández Borrero & El-Deiry, 2021).

4.1.2. FUNCIÓN Y REGULACIÓN DE P53

Su función principal es actuar como gen supresor de tumores a través de la regulación de sus genes diana.

Normalmente, p53 se encuentra en bajas concentraciones a nivel intracelular. Su vida media es muy corta ya que es degradada por la E3 ubiquitina ligasa MDM2. A su vez, p53 regula la transcripción del gen MDM2, formando un circuito de autorregulación, en el que, si aumenta p53, aumenta a su vez MDM2, que degrada p53, restableciendo de nuevo sus concentraciones normales (Hernández Borrero & El-Deiry, 2021; Levine, 2019).

Gran variedad de estreses celulares (daños en el ADN, alteraciones metabólicas, hipoxia, erosión de los telómeros, déficit en la génesis de ribosomas, alteraciones en el huso mitótico, o activación de oncogenes como RAS Y MYC) activan diferentes rutas intracelulares, cuyo resultado es un aumento de p53, principalmente por estabilización de la proteína (Figura 5). Según el tipo de estrés celular se pondrá en marcha un mecanismo transcripcional diferente en p53, con el objetivo de reparar los defectos sufridos por el ADN o de inducir la muerte de las células defectuosas. En general, ante daño en el ADN, o hipoxia, se activan las vías DNAPK, ataxia telangiectasia mutada (ATM), ataxia telangiectasia y proteína relacionada con Rad3 (ATR) y las quinasas CHK1 y CHK2. Todas ellas fosforilan p53 en diferentes residuos, activándolo e interrumpiendo su unión con MDM2 para unirse de manera específica al ADN. Por otro lado, ante la activación de un oncogén, se activa la vía ARF que, mediante su interacción con MDM2, inhibe la degradación de p53 para que este pueda ejercer su función (Bykov et al., 2018; Hernández Borrero & El-Deiry, 2021; Levine, 2019).

Una vez p53 está activado, puede inducir diferentes mecanismos a través de la regulación de sus genes diana (ver Figuras 4 y 5). Destaca la transactivación de CDKN1A

(p21) que frena el ciclo celular en G1 e induce senescencia, o la de GADD45a que lo frena en G2 y, además, repara el ADN. Otros como PUMA, NOXA o BAX se encargan de inducir apoptosis. P53 pone en marcha muchos otros mecanismos como autofagia, alteraciones metabólicas, angiogénesis o ferroptosis, entre otros (Bieging et al., 2014; Bykov et al., 2018; Hernández Borrero & El-Deiry, 2021; Levine, 2019).

Esta gran variabilidad de estrés celular a los que p53 es capaz de responder y de mitigar sus daños da lugar a su fenotipo como supresor de tumores (Hernández Borrero & El-Deiry, 2021; Levine, 2019).

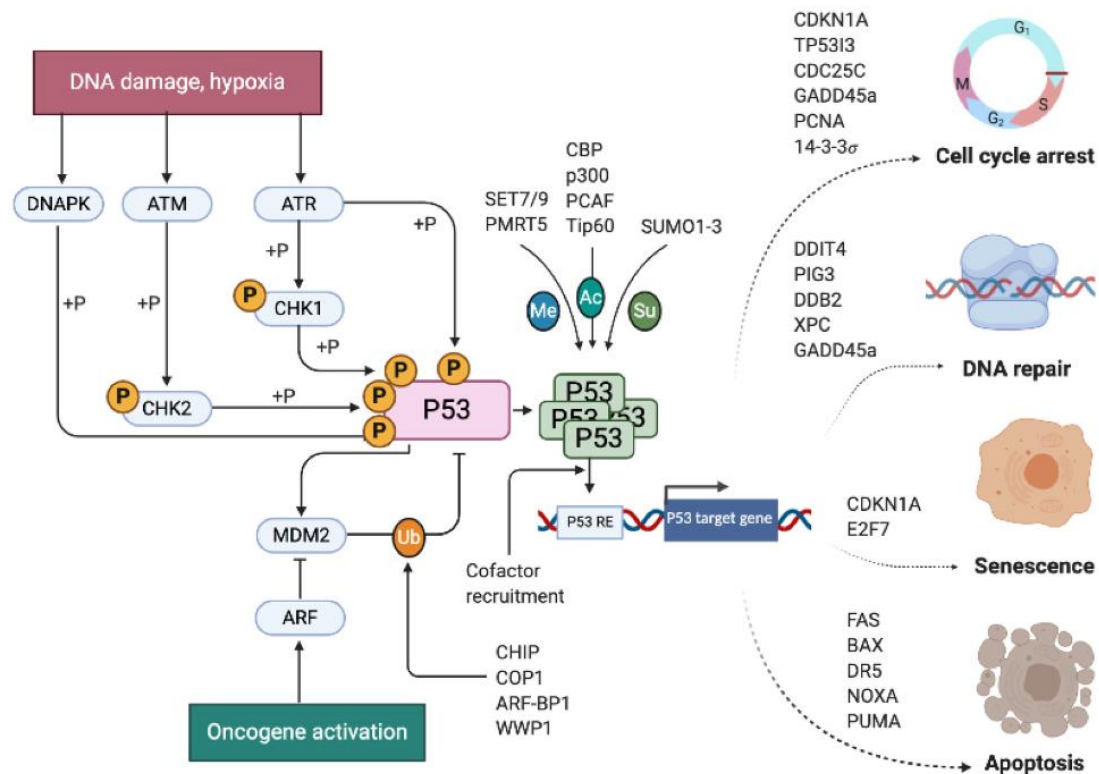


Figura 5. Activación de p53 frente a distintos tipos de estrés celular. Por un lado, en presencia de daño en el ADN se activa la vía ATM/ATR que regula la fosforilación y activación de p53. Sin embargo, bajo activación oncogénica, p53 se activa principalmente por ARF, que mediante su interacción con MDM2 inhibe la degradación de p53. P53 sufre modificaciones postraduccionales adicionales como acetilación, metilación y sumoilación. P53 activo se une como tetrámero a elementos reguladores de sus genes diana, dando lugar a diferentes respuestas como parada en ciclo celular, reparación del ADN, senescencia o apoptosis, dependiendo del tipo e intensidad del estímulo (Hernández Borrero & El-Deiry, 2021).

4.1.3. P53 Y CÁNCER

P53 se encuentra mutado en numerosos tipos de cáncer, tales como colorrectal, cabeza y cuello, esófago, cuello uterino, ovario, útero, vagina, vulva, pulmón y páncreas. Destaca también el síndrome de Li-Fraumeni, que produce un aumento de susceptibilidad al cáncer ya que estas personas heredan un aleo p53 mutante (Bieging et al., 2014; Hernández Borrero & El-Deiry, 2021).

Los tipos de mutaciones encontrados se pueden clasificar en dos grupos atendiendo a su estructura: mutantes estructurales de clase I, y mutantes de contacto con el ADN o de clase II, y en tres grandes grupos según su funcionalidad: pérdida de función (LOF), dominante-negativo (DN) y ganancia de función (GOF) (Hernández Borrero & El-Deiry, 2021; Levine, 2019).

Por una parte, los mutantes estructurales de clase I se encuentran desplegados, ya que tienen menor estabilidad termodinámica, y entre ellos destacan R175H, R196, Y220C, R245, R249S y R282W. Por otro lado, los mutantes de contacto con el ADN o de clase II mantienen una estructura plegada de la proteína, permitiendo cierto contacto con el ADN, pero no una unión específica al elemento de respuesta RE en el ADN, ya que la propia mutación lo impide. Entre estos últimos se encuentran R248Q, R248W, R273H, R273C, R280K y R282W (Hernández Borrero & El-Deiry, 2021; Levine, 2019). Cabe destacar que el 73% son mutaciones en el dominio de unión al ADN, que se encuentran principalmente en R175, G245, R248, R249, R273 y R282, y que se conocen como “hotspot” de p53 (Figura 4).

A nivel funcional, la conocida como pérdida de función es aquella en la que p53 pierde su capacidad como supresor tumoral. Esto ocurre por fallos en la producción de alguna proteína, por producción de fragmentos que suelen degradarse o por mutaciones en el dominio de tetramerización, que impiden formar los puentes salinos que estabilizan el tetrámero y el resultado son fibrillas inactivas de proteína que no se unen al ADN y no tienen actividad transcripcional. Como consecuencia, p53 no repara el ADN, ni detiene el ciclo celular, ni facilita la apoptosis, favoreciendo todo esto la tumorigénesis. Abarcan únicamente un 10% de las alteraciones de p53, y son principalmente deleciones, inserciones, mutaciones de cambio de marco y mutaciones sin sentido (Hernández Borrero & El-Deiry, 2021; Levine, 2019).

Por otra parte, se encuentran las mutaciones de ganancia de función, cuya mayor parte son también mutaciones sin sentido. En estas, p53 pasa de ser supresor de tumores a directamente actuar como oncogén. Así, ayudará a las células tumorales a metastatizar, proliferando y volviéndose más agresivas, y adquiriendo por tanto resistencias a la quimioterapia. Esto tienen una relevancia clínica ya que aquellos pacientes con GOF de p53 tienen un peor pronóstico (Hernández Borrero & El-Deiry, 2021; Levine, 2019).

Finalmente, otro tipo de mutación funcional es la dominante negativa. Cuando p53 mutante se encuentra en altas concentraciones, forma tetrámeros mixtos de p53 mutantes y p53 silvestres. Además, niveles muy altos de p53 mutante, inhiben la transcripción y la actividad de p53 silvestre, llevando todo esto a una transformación celular de forma predominantemente negativa (Levine, 2019).

En los últimos estudios, se observa una relación entre el nivel transcripcional de p53, y la frecuencia de sus mutaciones en el cáncer humano. En mutaciones hereditarias, a menor transcripción de p53 mutante, aumenta la aparición temprana de enfermedad en los individuos (Levine, 2019).

4.1.3.1. MODIFICACIONES POSTRADUCCIONALES DE P53 MUTADA

Al igual que p53 silvestre, p53 mutada también sufre modificaciones postraduccionales. Sin embargo, estas no van encaminadas a facilitar su unión específica al ADN para la supresión tumoral. P53 mutante interactúa con los factores de transcripción y modifica su maquinaria transcripcional. En general, p53 mutada se encuentra fosforilada, ubiquitilada, acetilada y metilada. Aunque no está bien definida la forma en la que estas modificaciones afectan a p53 mutante, sí que se observan algunas relaciones relevantes que se describen a continuación (Hernández Borrero & El-Deiry, 2021).

En lo que a la fosforilación se refiere, existe una relación entre la fosforilación de p53 mutante en el residuo Ser392 y el potencial oncogénico del mutante R175H, o de la fosforilación en Ser15 que permite la interacción con otros cofactores y factores de transcripción para dar lugar a mutaciones GOF. Por su parte, la acetilación de p53 mutante permite su estabilidad en situaciones de estrés celular como la disminución de la glucosa, al contrario de lo que ocurre en p53 salvaje. La ubiquitilación de p53 mutado es mucho menos frecuente que la de p53 salvaje. Existe una falta de transactivación del gen MDM2 y por lo tanto no hay una retroalimentación que devuelva a p53 mutante a sus niveles basales después del episodio de estrés celular. Lejos de degradarse, p53 mutado se vuelve altamente estable en muchos tumores (Hernández Borrero & El-Deiry, 2021).

Al igual que el p53 silvestre, algunos tipos de p53 mutado son ubiquitilados por MDM2 y se degradan por otras ubiquitinas ligasas E3. Además, afecta a la localización de p53 mutante ya que, si forma agregados en el citoplasma, aunque se mantenga estable, su función es menor que en el núcleo. Para evitar todos estos mecanismos de degradación y continuar con la tumorigénesis, p53 mutante aprovecha su estructura desplegada y se une a proteínas de choque térmico (HSP), que la protegen de las E3 ligasas (Hernández Borrero & El-Deiry, 2021).

4.1.4. TERAPIAS DIRIGIDAS CONTRA P53

Las diferentes terapias dirigidas contra p53 son muy relevantes y prometedoras debido a la alta frecuencia de mutación de este factor de transcripción en el cáncer humano. El proceso de diseño de estas terapias ha sido lento y complicado, ya que se necesitan fármacos diferentes para cada alelo de p53 mutado y, además, solo 10 alelos de todos los mutados causan en torno al 30% de las neoplasias (Levine, 2019). Diferentes tipos de terapia parecen estar resultando efectivas contra esta alteración (Figura 6).

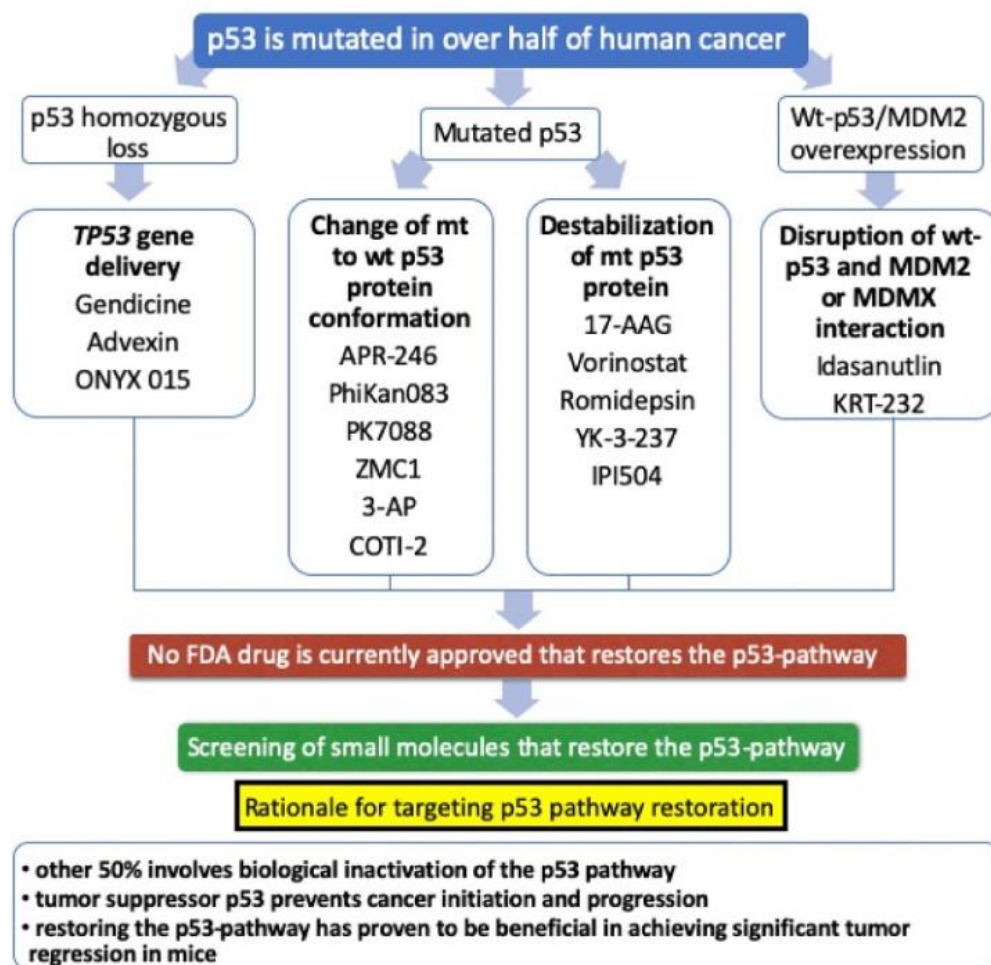


Figura 6. Principales dianas terapéuticas de p53, clasificadas según su mecanismo de acción. Ninguna se encuentra aún aprobada por la FDA (Administración de Alimentos y Medicamentos de EEUU). Se remarca la importancia de estas nuevas moléculas para tratar una de las mutaciones más frecuentes en el cáncer humano (Hernández Borrero & El-Deiry, 2021).

4.1.4.1. VIRUS

Se emplean virus mutantes con el objetivo de destruir selectivamente a p53. El SV40, los adenovirus o el virus del papiloma humano han sido los más utilizados. Inactivan o degradan a p53 gracias a que codifican oncoproteínas como antígenos T, E1B-55Kd o E6 (Levine, 2019). Se ha aprobado esta terapia en China, con un fármaco llamado Gendicine (Figura 6). Es un adenovirus al que han eliminado los genes E1A y E1B y actúa de vector para introducir ADNc de p53 salvaje en los tumores humanos. Después de inyectar el virus, se irradia al paciente para dañar el ADN de las células con p53 mutado y producir su apoptosis mediada por p53 salvaje. Se observaba que, aunque los tumores reducían su tamaño, los pacientes solían recaer en un período corto de tiempo, ya que era imposible inyectar el virus a cada una de las células tumorales. Es por esto que se aumentó la frecuencia de inyecciones, consiguiendo el efecto dominante negativo de p53 salvaje sobre p53 mutado. La potenciación con radioterapia y las altas concentraciones de p53 salvaje alcanzadas consiguen que la terapia resulte muy efectiva (Levine, 2019).

Existen otras terapias basadas en el mismo mecanismo, como ONYX-015, que utiliza el virus de la gripe y se ha probado en diferentes tipos de cáncer obteniendo resultados exitosos. Oncorine (también conocido como H101) es un vector muy similar a ONYX-015 que muestra resultados prometedores en ensayos clínicos. Advexin es otro adenovirus, muy similar a Gendicine, que se ha evaluado en diferentes ensayos clínicos, llegando a la fase III en carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello, evaluando su uso como terapia única o en combinación con metotrexato (Hernández Borrero & El-Deiry, 2021).

4.1.4.2. PEPTIDOS

Dos interesantes péptidos se encuentran en estado experimental y/o preclínico: Reap53 y los denominados pCAPs (p53-activating compounds).

Por una parte, pCAPs suprimen el crecimiento tumoral recuperando la función normal de p53 o destruyendo las células que expresan p53 mutante. Generalmente, estos péptidos reactivan p53 salvaje induciendo un cambio conformacional en el p53 mutado del estado desplegado al plegado, reactivando la capacidad de p53 de controlar sus genes diana. Otros mecanismos de acción de los péptidos pCAPs que están siendo estudiados se basan en la inhibición de la interacción de p53 mutante con sus genes diana y en la eliminación selectiva de las células que expresan específicamente p53 mutante.

Reap53 actúa de manera diferente. En tumores de ovario, p53 mutante puede encontrarse formando agregados de amiloide a través de los residuos 252-258 (LTIITLE). Reap53 es un péptido basado en la introducción de un residuo de arginina en la secuencia (LTRITLE) que impide la agregación, transforma p53 mutante en una forma salvaje, detiene el ciclo celular e induce apoptosis (Bykov et al., 2018).

4.1.4.3. TERAPIAS CONTRA LA GANANCIA DE FUNCION

Como algunas p53 mutantes sufren ganancia de función convirtiéndose en oncogenes, se cree que, reduciendo sus niveles, inhibiendo su funcionamiento o su interacción con otros cofactores clave, los tumores se volverían menos agresivos (Levine, 2019).

Una de las terapias más específicas radica en la estructura de p53 mutada. Como tiene una estructura desplegada, le permite estabilizarse al unirse con proteínas de choque térmico (HSP). Uno de los complejos más característicos es el de HSP90/HSP70 con la p53 mutante junto con la histona desacetilasa 6 (HDAC6). Nuevos inhibidores de HSP90 (como 17-AAG) y de HDAC6 (como Vorinostat o Romidepsin) degradan el complejo y disminuyen los niveles de p53 mutante (Figura 6).

Recientemente, se ha identificado una molécula llamada Chetomin, que se inhibe a HSP40, para permitir que p53-R175H, se repliegue a una conformación de tipo salvaje (Bykov et al., 2018).

Otro de los mecanismos más probables de ganancia de función es la formación de complejos proteicos entre p53 mutante y un factor de transcripción, que llevan a reestructuraciones de la cromatina y alteraciones de la maquinaria transcripcional. Para disminuir estas alteraciones, se utilizan pequeños ARN interferentes (siARN) o ADN

antisentido. Un buen ejemplo ocurre en las células mamarias: cuando su p53 es salvaje, adquieren una estructura acinar-glandular, por el contrario, cuando p53 está mutado, la mayoría forman estructuras irregulares no diferenciadas. Los ARNsi contra los ARNm de p53 mutante reducen sus niveles y devuelven la estructura acinar-glandular. Además, p53 mutante en estas células aumenta la transcripción del mevalonato que les proporciona colesterol. Los inhibidores de la síntesis de colesterol consiguen también restaurar la estructura acinar-glandular. Se observa también, que p53 mutante forma complejos con SREBP (sterol regulatory element-binding protein) que le proporcionan la ganancia de función. Si se consiguen interrumpir estas interacciones, se bloquearían las vías de GOF (Levine, 2019).

Destaca otra mutación GOF que son los complejos p53-p73, siendo p73 un gen estructural y funcionalmente homólogo a p53. El compuesto RETRA interrumpe estos complejos mutantes e induce genes diana de p53 que conlleva a la muerte celular (Bykov et al., 2018).

Surgen problemas en estas terapias, ya que p53 no solo interactúa con SREBP, o p73, sino también con p63, receptor de la vitamina D, etc. Cada mutante de p53 puede tener distintas relaciones que le hagan ganar función y requieren, por lo tanto, fármacos diferentes (Levine, 2019).

4.1.4.4. QUINAZOLINAS

Los compuestos P53R3 y SCH529074 son quinazolininas con similitudes estructurales que se encuentran en estado experimental y/o preclínico. El compuesto P53R3 induce apoptosis (principalmente en glioma) por el factor de necrosis tumoral (TNF); además activa a genes diana de p53, restableciendo su función. Por su parte, SCH529074 se une al dominio central de p53 actuando como chaperona. Inhibe la ubiquitilación por MDM2 e igualmente, aumenta la expresión de los genes diana de p53 (Bykov et al., 2018).

4.1.4.5. DIRIGIDO A MDM2/MDM4

MDM2 degrada p53, y a su vez, el gen MDM2 está regulado por p53. Así, se desarrollan moléculas que inhiben los sitios de unión entre MDM2 y p53. Consecuentemente, aumenta mucho la vida de p53, que a su vez aumenta la transcripción de MDM2 y, por lo tanto, la degradación de p53. Bien es cierto, que se destruyen tanto células cancerosas como células normales (Levine, 2019).

El novedoso fármaco Idasanutlin (RG7338) se encuentra en ensayos de fase III para las leucemias mieloides agudas (LMA). La leucemia promielocítica aguda (subgrupo de LMA) tiene su origen en una fusión de PML (proteína de leucemia promielocítica) con RAR α (receptor alfa de ácido retinoico). Esta fusión impide la formación de cuerpos PML, que son necesarios para activar la transcripción de p53 y que ésta pueda llevar a cabo la apoptosis celular. Su tratamiento con trióxido de arsénico y ATRA (ácido retinoico todo trans) produce una respuesta completa en la enfermedad. El arsénico consigue que el complejo de fusión PML-RAR α pase de ser un represor a un activador de p53. Así, se vuelve a conseguir la muerte celular mediada por p53 (Levine, 2019).

Existen otras ubiquitinas como MDM4 que tienen similitudes estructurales con MDM2, pero que no actúan directamente sobre p53, sino que inhiben su actividad transcripcional. Algunos tumores pueden tener sobreexpresión de MDM4 o cualquier MDMX, por lo que combinar terapias que inhiban tanto MDM2 como MDMX tienen resultados prometedores (Hernández Borrero & El-Deiry, 2021).

4.1.4.6. REACTIVACIÓN ESTRUCTURAL DE UNA PROTEINA P53 MUTANTE

En los últimos años, se han desarrollado diferentes terapias que intentan cambiar una p53 mutante a una conformación de tipo salvaje gracias a péptidos o pequeñas moléculas (Levine, 2019).

Una de las principales mutaciones estudiada de p53 es Y220C. La pérdida de la tirosina permite que pequeñas moléculas con residuos hidrofóbicos entren en un bolsillo profundo de p53 y restauren sus actividades de forma similar a las del tipo salvaje. Entre estas nuevas moléculas se encuentra PK7088, que se une específicamente a este bolsillo, elevando la temperatura de fusión de p53 mutante e induciendo el plegamiento de tipo silvestre p53-Y220C. Además, regula y activa CDKN1A y NOXA y reubica a BAX, produciendo así la detención del ciclo celular y la apoptosis en células tumorales (Bykov et al., 2018).

Estas moléculas tienen unas características óptimas: se unen únicamente a p53 mutante, reactivan varias funciones de p53 salvaje, pero sin reactivar a la propia p53 salvaje, disminuyendo los efectos secundarios en las células no tumorales. Además, si p53 mutado es una mutante de delección (p53 nula), los efectos secundarios son prácticamente insignificantes. Como cada p53 mutante es diferente, este fármaco no reactiva todas las mutaciones sin sentido, posiblemente sea selectivo frente a Y220C. Destaca por último que la resistencia al fármaco solo se puede adquirir con mutaciones de segundo sitio dentro del propio alelo mutante Y220C (Levine, 2019).

Otra mutación característica de p53 es R175H. Su principal terapia es un conjunto de compuestos químicos llamados tiosemicarbazonas (como COTI-2), que reactivan el alelo a su conformación salvaje, recuperan la unión al RE del ADN, y provocan la muerte celular específicamente de las células con este alelo mutado por apoptosis. P53 contiene un mol de zinc por mol de proteína monomérica, y la tiosemicarbazona introduce zinc a la célula, aumentando su concentración hasta conseguir devolver la conformación y función salvaje a p53. La tolerancia es buena, ya que la alta concentración de zinc induce a las metalotioneínas que vuelven a eliminar el zinc, volviendo a sus concentraciones basales. Como inconveniente destaca que estas tiosemicarbazonas también quelan el cobre y el hierro, y producen neurotoxicidad (Levine, 2019).

Otra nueva posible terapia son los compuestos de unión a cisteína. Se unen con mucha afinidad por el bolsillo L1/S3 de p53 que contiene la tríada de Cys124, Cys135 y Cys141. Su unión favorece la termoestabilización de p53-R175H y también de p53-G245S in vitro. Se encuentra en estado experimental y/o preclínico (Bykov et al., 2018). Destaca PRIMA-1, especialmente útil en aquellos tumores con mutación p53-R273H. Forma puentes de unión entre la cisteína 124 y el dominio central de p53, mejorando su estabilidad térmica. Induce así el replegamiento de p53 y la expresión sus genes diana como

CDKN1A, BAX y PUMA para llevar a cabo detención del ciclo o apoptosis de las células tumorales. Destaca también APR-246, un análogo de PRIMA-1 que une el dominio DBD con la cisteína 277 y 124 activando a p53. Su principal inconveniente es su poca especificidad, ya que actúa tanto en p53 silvestre como mutante. Este fármaco se encuentra en ensayos en fase Ib/II para cáncer de ovario, esófago y síndromes mielodisplásicos (Bykov et al., 2018; Levine, 2019).

4.1.4.7. INMUNOTERAPIA

Aproximadamente, entre el 20% y el 40% de los pacientes con p53 mutado, tienen elevados niveles de anticuerpos anti-p53 (p53Abs) en suero. Estos anticuerpos son relevantes para el pronóstico, ya que elevados niveles de p53Abs se pueden relacionar con grados tumorales más altos o menos supervivencia en cáncer de mama o de pulmón, respectivamente. Por lo tanto, el desarrollo de la inmunoterapia tiene un objetivo altamente beneficioso (Sobhani et al., 2020).

La inmunoterapia se basa, entre otros mecanismos, en la producción de anticuerpos contra los altos niveles de p53 en la célula tumoral. Se ha conseguido la producción de neoantígenos formados por el alelo mutado p53-R175H unido a HLA (antígeno leucocitario humano). Este neoantígeno provoca la respuesta de células T CD8, que actuando específicamente contra este p53 mutado, destruirán el alelo (Hernández Borrero & El-Deiry, 2021; Levine, 2019).

En resumen, se están investigando numerosas estrategias conducentes a restaurar la función de p53 dado que es un supresor tumoral crítico y la proteína más frecuentemente mutada en cáncer humano. Sin duda estas y futuras investigaciones serán clave para el descubrimiento de nuevas terapias anticancerosas basadas en este importante factor transcripcional.

4.2. REGULADOR TRANSCRIPCIONAL MYC

MYC es un factor de transcripción oncogénico muy implicado en la tumorigénesis. Las proteínas MYC son una familia de proteínas nucleares formada por C-MYC (comúnmente denominado MYC), MYCN y MYCL. Aunque no se conoce el porcentaje exacto, se piensa que el 70% de tumores tiene una desregulación de algunos de los miembros de la familia MYC (Figura 7) dependiendo del tipo de tumor en el que están alteradas: MYC destaca con mayor frecuencia tumores sólidos; MYCN en tumores con características neuroendocrinas y MYCL en cánceres de pulmón de células pequeñas (Duffy et al., 2021; Wolf & Eilers, 2020).

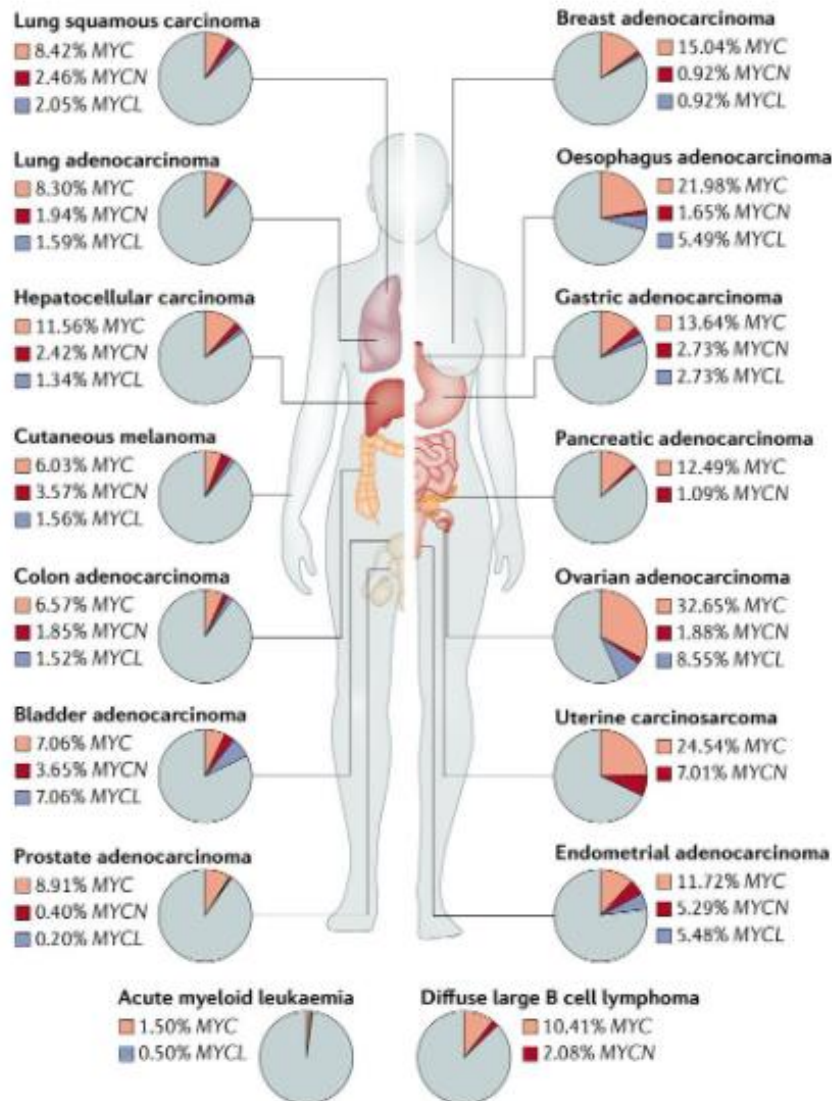


Figura 7. Principales tumores con alguna de las proteínas MYC alteradas y el porcentaje de cada una de ellas (Dhanasekaran et al., 2022).

4.2.1. ESTRUCTURA DE MYC

Todas las proteínas MYC tienen 3 dominios (Figura 8). Una región Nterminal conteniendo el dominio de transactivación, una región central cuya función es la localización nuclear y el control de estabilidad y una región C-terminal con el dominio de unión con el ADN (BR) y el dominio de dimerización HLH-LZ que media la interacción con MAX, con quien forma un dímero de manera obligada para regular la transcripción de sus genes diana.

Las 3 proteínas MYC contienen secuencias muy conservadas, conocidas como cajas MYC (MB). MYCL contiene cinco MB, mientras que MYC y MYCN contienen seis MB. Las 6 cajas de MYC y MYCN se denominan MB0, MBI, MBII, MBIIIa, MBIIIb y MBIV (Figura 8).

Por su parte, MYCL carece de MBIIIa. MB0, MBI y MBII están dentro del dominio N-terminal, mientras que las otras están en la región central (Duffy et al., 2021).

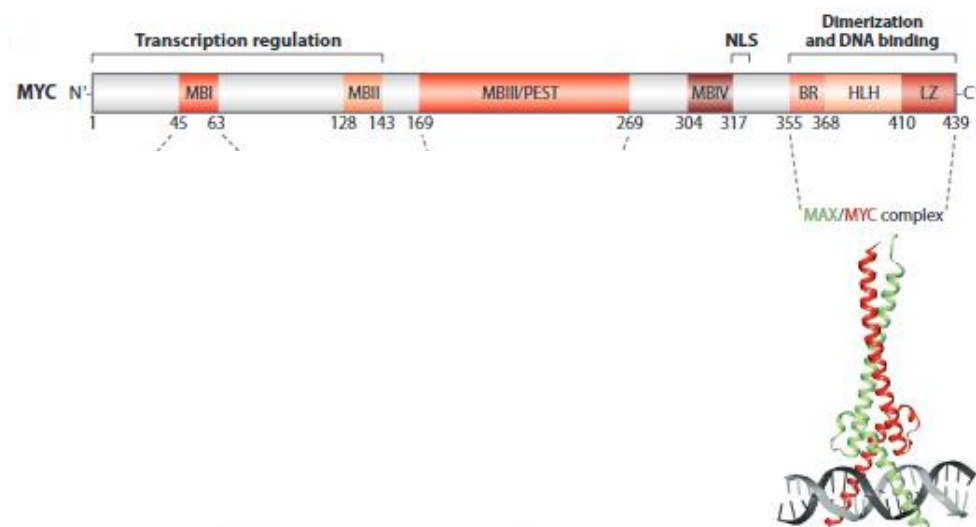


Figura 8. Estructura de MYC con sus diferentes dominios y cajas MB. Se muestra también la estructura del complejo proteico MYC-MAX. Modificado de (Wolf & Eilers, 2020).

Los dominios MB se unen a diferentes proteínas y, por lo tanto, tienen distintas funciones. Las regiones MB0 y MBII son necesarias para la completa actividad de MYC en la proliferación y en el desarrollo tumoral, aunque MB0 y MBII interactúan con complejos proteicos diferentes. Por un lado, MB0 interactúa con varios factores implicados en la fase de elongación de la transcripción, como GTF2F1 (una subunidad de TFIIF), CDC73, WHSC2 y P-TEFb. Por otro lado, MBII interactúa con TRRAP, que recluta histona acetiltransferasas, favoreciendo el acceso a la cromatina y la iniciación tumoral. MBIIIa lleva a cabo la represión génica y la regulación de la apoptosis. Por último, MBIV media la unión de la cromatina, la inducción de la apoptosis, la detención de célula G2 y la interacción con la célula huésped (Duffy et al., 2021).

MBI tiene especial importancia ya que participa en la ubiquitinación y degradación proteasomal que renueva a las proteínas MYC continuamente (Wolf & Eilers, 2020). La ruta mejor conocida de este mecanismo (Figura 9) implica el dominio MBI de MYC, que contiene un fragmento altamente conservado de aminoácidos. Su cascada es iniciada por varias quinasas y ciclinas que fosforilan la serina 62 de MYC. Esta fosforilación, activa a GSK3 para fosforilar a la treonina 58. Esta T58 fosforilada es reconocida por FBXW7 pero para ello es necesario que la S62 se desfosforile por la proteína fosfatasa PP2A. Una vez reconocido por FBXW7, T58 también se desfosforila y así es reconocido por una enzima desubiquitinante, USP11 que aumenta la estabilidad de MYC (Wolf & Eilers, 2020).

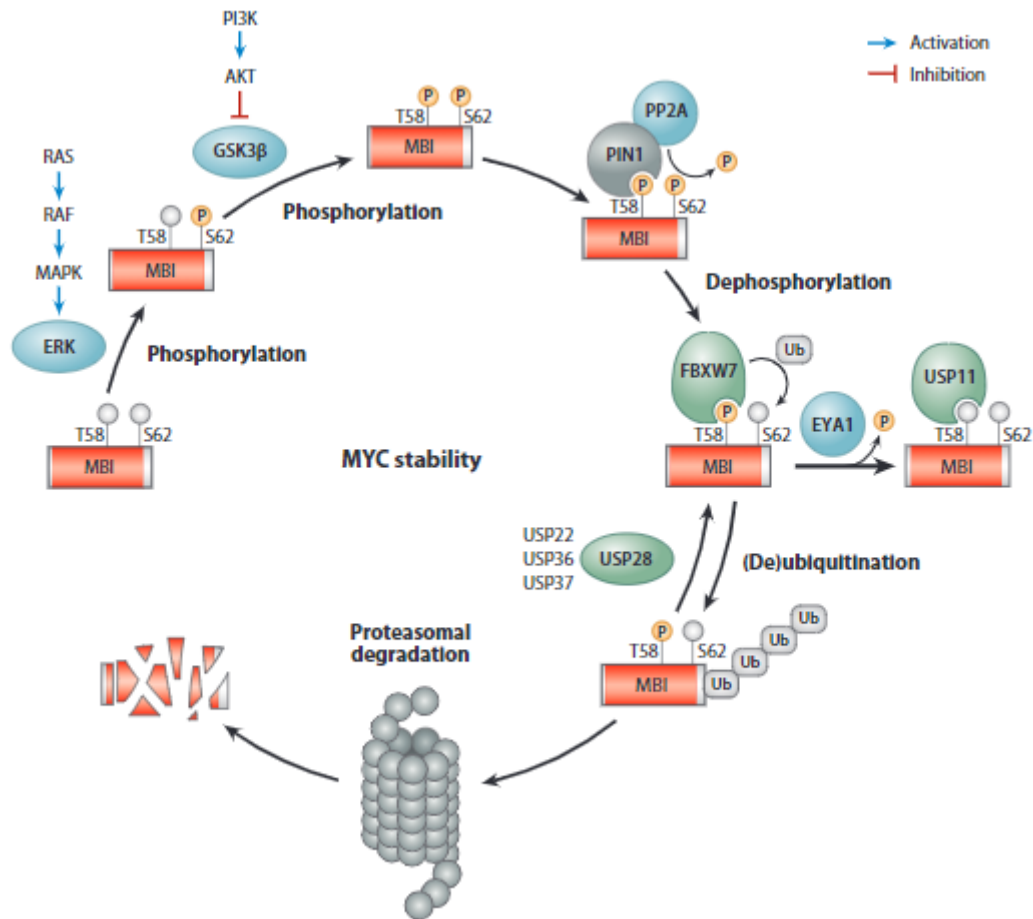


Figura 9. Ubiquitinación de MYC por FBXW7 y su regulación. La fosforilación de S62 por quinasas y ciclinas es necesaria para la fosforilación de T58. Es esta fosforilación de T58 y la desfosforilación de S62 las que permiten el reconocimiento de T58 por FBXW7. La posterior desfosforilación de T58 permite la unión a USP11 que aporta estabilidad a MYC (Wolf & Eilers, 2020).

4.2.2. FUNCIÓN Y REGULACIÓN DE MYC

En el extremo C-terminal de MYC, se encuentra un dominio de HLH y cremallera de leucina gracias al cual es capaz de interactuar con MAX (Figura 8). Una vez han formado el dímero, se une a las denominadas cajas E, que contienen una secuencia de ADN específica (secuencia consenso CACGTG); y a otras secuencias similares como CATGTG, CACGCG, CACGAG, CATGCG y CACGTT. La unión a estos sitios produce una expresión génica alterada. Estas secuencias están distribuidas por todo el genoma, pero especialmente se localizan en los promotores de genes relacionados con la proliferación celular. Entre los genes diana de MYC predominan los genes implicados en la biogénesis de las mitocondrias, como POLG, POLG2 y NRF1. Aparte de los procesos ya conocidos regulados por MYC, como el metabolismo de ADN, ARN y proteínas, apoptosis, ciclo celular, transducción de señal y proliferación celular, MYC también regula directamente otros genes como los ribosomales, genes implicados en fosforilación oxidativa, biosíntesis de aminoácil-ARNt y metabolismo de aminoácidos como glutamato (Kim et al., 2008).

La regulación de los genes diana MYC no solo depende de la unión MYC/MAX al ADN. Por ejemplo, la represión de los genes diana de MYC está dirigida por la unión MIZ-1 (*MYC-interacting zinc finger protein 1*) al dominio HLH del C-terminal de MYC. Adicionalmente, la unión de MYC/MAX a sus genes diana también está regulada por las proteínas de la familia MXD, que heterodimerizan con MAX y se unen a las cajas E, antagonizando generalmente la actividad de MYC (Madden et al., 2021).

Por otra parte, MYC también se puede unir a sitios del ADN que no son las cajas E y, en algunas ocasiones, es capaz de actuar independientemente de MAX, como en algunos neuroblastomas en los que se encontró que MYCN se unía a p53 (Duffy et al., 2021; Leon et al., 2015; Wolf & Eilers, 2020).

Otro importante mecanismo se conoce como “modelo amplificador de la función de MYC” y defiende que las proteínas MYC afectan a la ARN Pol II en los promotores centrales. Así, facilitan el reclutamiento de la ARN Pol II y su escape del promotor, la liberan de la pausa transcripcional, suprimen la terminación temprana, y aumentan la elongación del ARN. Estas modificaciones sobre la ARN Pol II, son fundamentales en las alteraciones dependientes de MYC en cáncer (Wolf & Eilers, 2020).

4.2.3. MYC Y CÁNCER

Actualmente, diferentes mecanismos explican la activación del oncogén MYC en cáncer. En general, todos estos mecanismos dan lugar niveles aumentados de MYC en la célula. Entre éstos se encuentran la amplificación génica, translocación cromosómica, inserción de promotores retrovirales, activación de súper-potenciadores, estabilidad proteica alterada, aumento de la señalización celular y mutación (Figura 10) (Duffy et al., 2021).

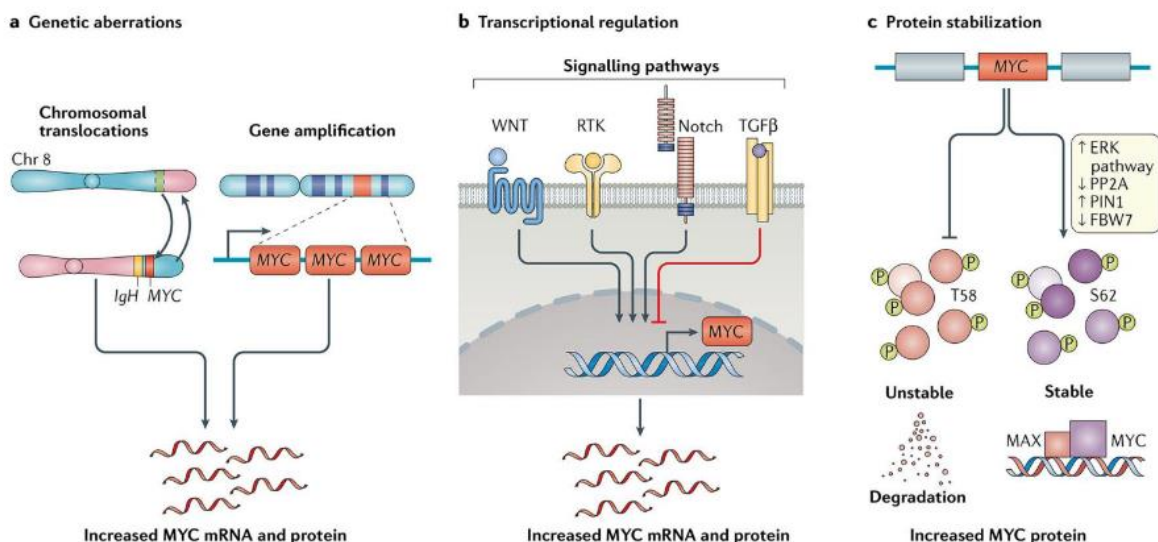


Figura 10. Mecanismos de activación de MYC en cáncer. Las alteraciones genéticas, como translocaciones cromosómicas o amplificación génica (a), así como las alteraciones en las vías de señalización celular (b), incrementan el ARNm y la proteína MYC. Modificaciones post-traduccionales como la fosforilación de T58 o Ser62 (c), estabilizan MYC y colaboran en su activación (Dhanasekaran et al., 2022).

De todos estos mecanismos, la amplificación génica parece ser el más frecuente en tumores sólidos. MYC regula la expresión de muchos genes mayoritariamente relacionados con la traducción de proteínas y biosíntesis de nucleótidos, por lo que un aumento en el número de copias de MYC puede provocar una alteración en los mismos (Wolf & Eilers, 2020). Destaca concretamente la amplificación de MYC en cáncer de ovario, cáncer de esófago, cáncer escamoso de pulmón y cáncer de mama. La amplificación en cada tipo de cáncer viene determinada también por su subtipo molecular. Por ejemplo, en el 34-44% de triples negativos de cáncer de mama se amplifica MYC, pero solo un 7-13% en el luminal.

Por su parte, MYCN y MYCL se amplifican con mucha menor frecuencia en el cáncer en general. MYCN se puede amplificar en tumores con características neuroendocrinas como neuroblastoma, retinoblastoma, meduloblastoma, cáncer de pulmón de células pequeña y cáncer de próstata (tipo neuroendocrino) y MYCL en un pequeño número de cánceres de pulmón de células pequeñas (Duffy et al., 2021).

En cuanto a las translocaciones cromosómicas, son recurrentes en neoplasias malignas hematológicas. El linfoma de Burkitt fue el primer tumor donde se identificaron 3 translocaciones de MYC diferentes. Concretamente, se trata de uniones del brazo largo del cromosoma 8 al locus de inmunoglobulina [IGH; t(8;14) (q24;q32)], al locus de la cadena ligera kappa [IGK; t(2;8) (p11;q24)] o al locus de la cadena ligera lambda [IGL; t(8;22) (q24;q11)]. La más frecuente es t(8;14)(q24;q32), que se encuentra en el 80% de estos linfomas (Duffy et al., 2021; Leon et al., 2015).

Por otro lado, entre las modificaciones post-traduccionales de MYC encontramos la fosforilación de Ser62 y T58, que estabilizan MYC y aumentan su activación. Por otro lado, análisis proteómicos y mediante ensayos de BioID (Proximity dependent biotin identification) revelan interacciones complejas tanto del complejo MYC como de MYCN con proteínas muy diversas. Por ejemplo, MYCN forma complejos con USP11 que reclutan BRCA1 para terminar la transcripción cuando ARN Pol II se bloquea ante un estrés excesivo. MYCN también interactúa con AuroraA (por la región N-terminal) en la fase S y coordinan el alargamiento, y la replicación del ADN. Además de estas alteraciones propiamente dichas, estudios recientes muestran que la pérdida de función de p53 supone la activación de MYC (Duffy et al., 2021).

Destacar que, al contrario de lo que ocurre en otros oncogenes, las mutaciones en la secuencia codificante de MYC son muy raras, aunque sí que se han encontrado en algún subconjunto de linfomas de Burkitt y linfomas difusos de células B grandes (Duffy et al., 2021; Leon et al., 2015).

Aparte de las alteraciones en MYC como amplificaciones y translocaciones, hay otros mecanismos indirectos que elevan la actividad transcripcional de MYC ya que en muchos tipos de cáncer hay mutaciones que activan PI3K, RAS y EGFR, o que inactivan PTEN, SMAD y APC, que son rutas de señalización que también regulan la expresión o la estabilidad de MYC (Lourenco et al., 2021).

4.2.3.1. PAPEL DE MYC EN LA TUMORIGENESIS

Aunque son conocidas las alteraciones que sufre MYC en cáncer y su papel en la tumorigénesis, no se llega a conocer su mecanismo exacto como oncogén. Generalmente, se clasifican sus posibles actuaciones a nivel intracelular y extracelular.

Dentro de la célula incrementa la proliferación, ya que permite a la célula cancerosa entrar rápidamente al ciclo celular de nuevo, acelera la progresión del ciclo inhibiendo los puntos de control del ciclo celular, inhibe la senescencia reprimiendo a proteínas como p15 o p21, modula el metabolismo facilitando la captación de nutrientes gracias a la inducción transcripcional de transportadores de glucosa y glutamina y de genes encargados de la glucólisis y la glutaminólisis, promueve la angiogénesis y regula el crecimiento de células cancerosas al producir un aumento en la génesis ribosómica y proteica. Además, en la mayor parte de las ocasiones actúa junto con otros genes como RAS y p53 mutante (Figura 11) (Dhanasekaran et al., 2022; Duffy et al., 2021).

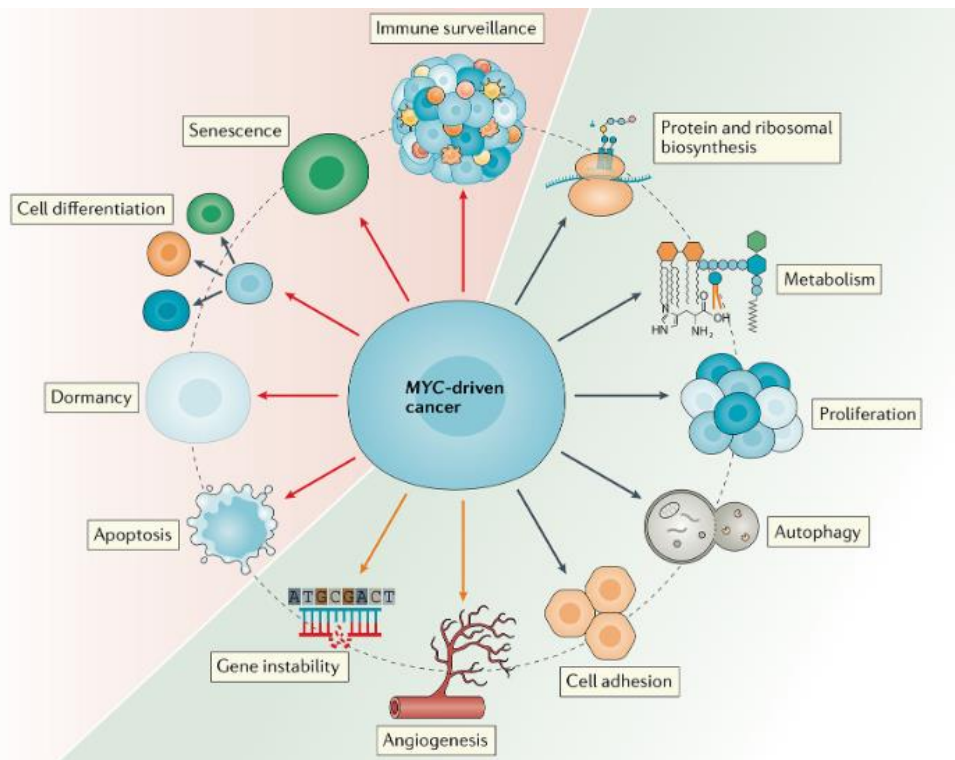


Figura 11. Mecanismos en la tumorigénesis mediada por MYC. Incluye mecanismos intracelulares como inhibición de senescencia, alteraciones metabólicas, angiogénesis, o síntesis proteica y ribosomal, y mecanismos extracelulares como evasión de la inmunidad (Dhanasekaran et al., 2022).

A nivel extracelular, altera el microambiente tumoral y promueve la evasión inmunitaria. Para llevar a cabo esta evasión, MYC produce una afluencia de neutrófilos y macrófagos en los tumores. Este aumento de células inflamatorias conduce a una mayor angiogénesis, proliferación, metástasis y resistencia a la terapia. Estos efectos en el entorno del tumor varían según el tipo de cáncer. Por ejemplo, en cáncer de pulmón se observó una exclusión de las células B, mientras que en cáncer de páncreas se observó una entrada de las mismas. En el cáncer de hígado, la unión de PDL1 a su receptor PD1

en las células T promueve una supresión inmune que conlleva a un aumento de metástasis (Duffy et al., 2021). De igual forma, en el cáncer de páncreas la activación de MYC induce a la citocina proinflamatoria IL1 β , lo que impulsa el aumento de la proliferación de células endoteliales y por lo tanto de angiogénesis. También induce a CCL2 y CCL5, desencadenando el reclutamiento de mastocitos. Adicionalmente, los efectos extrínsecos también pueden depender de la colaboración de RAS (Duffy et al., 2021). Recientemente, se observó un nuevo mecanismo mediante el cual MYC y KRAS-G12D promueven la progresión del cáncer de páncreas mediante la represión de la vía del interferón tipo I (Dhanasekaran et al., 2022).

4.2.4. TERAPIAS DIRIGIDAS CONTRA MYC

Encontrar dianas terapéuticas contra MYC está resultando un proceso complicado ya que la proteína tiene una estructura desordenada, sin un bolsillo hidrofóbico al que puedan unirse compuestos como ocurría con p53. Además, no tiene actividad catalítica, por lo que tampoco se pueden utilizar inhibidores enzimáticos. Tampoco han sido exitosos los anticuerpos monoclonales, ya que es difícil llegar al núcleo, donde se localiza MYC (Duffy et al., 2021). En la Figura 12 se resumen los principales mecanismos que se están investigando dirigidos a inhibir la función oncogénica de MYC.

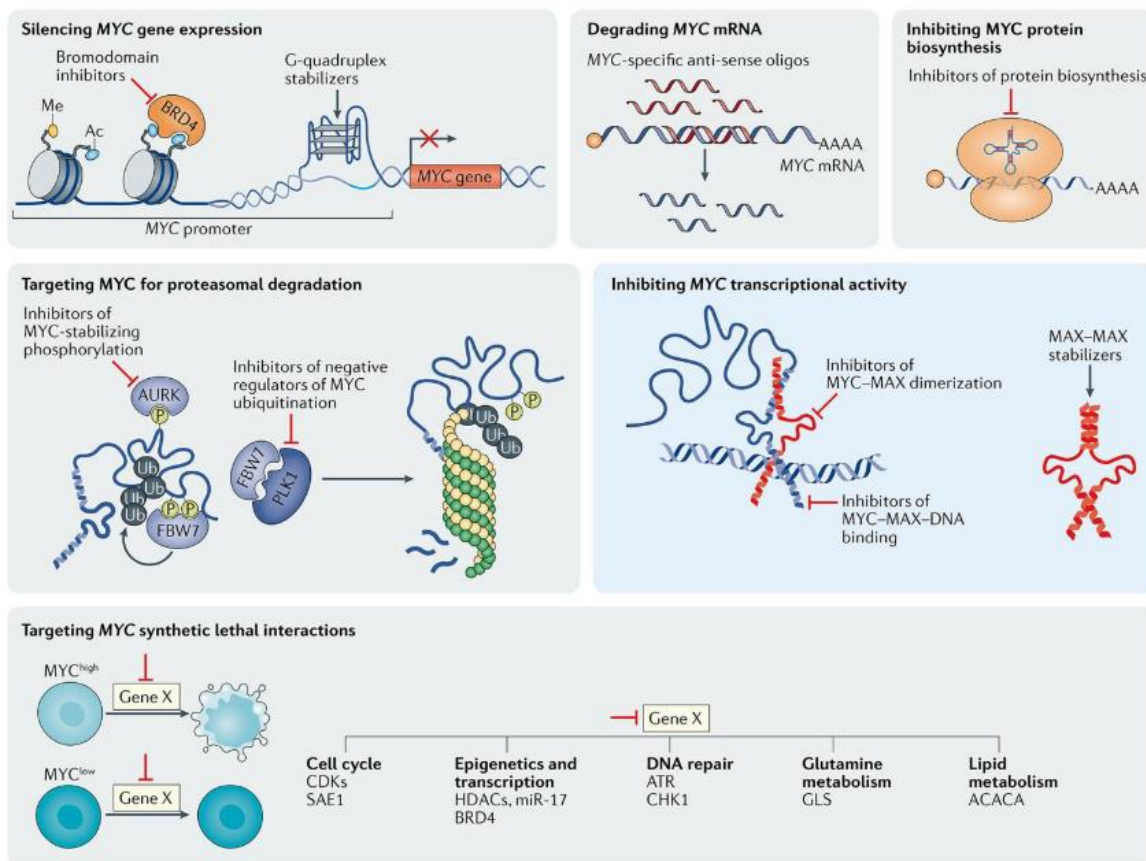


Figura 12. Principales mecanismos dirigidos contra MYC. En los cuadrados grises: terapias indirectas, como silenciar la expresión o función de MYC con distintas estrategias como inhibidores de BET, o sintéticos letales que inhiben diferentes genes diana. En los cuadrados azules: terapias directas como inhibidores del heterodímero MYC/MAX, inhibidores de la unión del heterodímero con el ADN, o estabilizadores del homodímero MAX-MAX (Dhanasekaran et al., 2022).

4.2.4.1. INHIBIDORES DE LA DIMERIZACION MYC/MAX.

Se ha demostrado que los compuestos que inhiben la unión entre MYC y MAX, consiguen bloquear la proliferación tumoral en muchos tipos de tumores (Duffy et al., 2021).

Entre los antagonistas prometedores se encuentran KJPyr9, MYCMI6 y MYCi975. Todos ellos disminuyen la proliferación celular en muchas líneas cancerosas a concentraciones de IC₅₀ < 10 mM (Duffy et al., 2021). Entre los tres, destaca MYCi975 ya que, además de inhibir la proliferación, remodela el entorno tumoral y aumenta las células inmunitarias, especialmente células T CD3+, células B y células NK. Tiene un efecto potenciador con otros tipos de terapias como con la inmunoterapia (pembrolizumab) con la que consigue una inhibición sinérgica del crecimiento tumoral y es además muy beneficioso ya que no parece tener gran toxicidad a corto plazo (Duffy et al., 2021). Además, estudios recientes demuestran la eficacia de la combinación de MYCi975 con docetaxel o doxorubicina para inhibir el crecimiento de las células tumorales en cáncer de mama triple negativo (Tang et al., 2022).

Otro de los compuestos más estudiado en los últimos años es 10058F4, cuyo mecanismo de acción es algo diferente. Con el bloqueo de la heterodimerización MYC/MAX, desplaza MYC y MYCN de la cromatina, frenando así los cambios en la expresión génica y los efectos dependientes de MYC en la ARNPII (Wolf & Eilers, 2020). Se ha demostrado la eficacia del inhibidor 10058-F4 *in vitro* para frenar el crecimiento de distintos tipos de cáncer, como adenocarcinoma pancreático ductal, leucemia mieloide crónica y cáncer de ovario mediante la inducción de apoptosis y la parada del ciclo celular. Sin embargo, no es capaz de reducir el crecimiento tumoral en modelos animales de cáncer de próstata, y se está optimizando el compuesto para aumentar su estabilidad (Madden et al., 2021).

Una de las estrategias más destacadas en los últimos años es OmoMYC, desarrollado por Laura Soucek (Soucek et al., 1998). OmoMYC es una miniproteína de 90 aminoácidos que tiene un dominio HLH-LZ similar al natural de MYC, pero con mutaciones en 4 aminoácidos del dominio LZ (cremallera leucina) gracias a las que consigue antagonizar MYC. Una vez que se administra, se desplaza al núcleo celular y su principal función es inhibir el crecimiento tumoral gracias a dos mecanismos. Por un lado, forma homodímeros consigo mismo y se une a las cajas E con más afinidad que MYC/MAX, evitando la interacción de los heterodímeros MYC/MAX con el ADN; y, por otro lado, la pequeña parte de OmoMYC que sí que interactúa con MYC y MAX, lo hace preferentemente con MAX, desplazando los heterodímeros MYC/MAX por heterodímeros OmoMYC/MAX y consiguiendo así inhibir la transcripción inducida por MYC (Duffy et al., 2021; Wolf & Eilers, 2020). Además, a consecuencia de este segundo mecanismo, en presencia de OmoMYC aumentan los niveles de MYC monomérico, que es degradado en el proteasoma.

Al igual que MYCi975, OmoMYC parece remodelar el entorno tumoral y revertir la evasión inmunitaria producida por MYC. En diferentes estudios se ha visto que la administración de este compuesto en un modelo de cáncer de pulmón de células no pequeñas consiguió un aumento del reclutamiento de los linfocitos T, y en cáncer de mama disminuyó PDL1, una proteína que evita que los linfocitos T reaccionen frente al

tumor del punto de control inmunitario negativo. Presenta la gran ventaja de tener poca toxicidad a corto plazo, sin embargo, como es una proteína tan pequeña, es muy fácil de degradar y parece ser que su estructura va a tener que ser modificada (Duffy et al., 2021).

Un mecanismo parecido consiste, no en antagonizar directamente los heterodímeros, sino en estabilizar los homodímeros MAX-MAX. Así, la ocupación de la cromatina por MYC, la expresión génica dependiente de MYC y el crecimiento tumoral quedan altamente reducidos (Wolf & Eilers, 2020).

4.2.4.2. SILENCIAMIENTO DE LA EXPRESIÓN DE MYC: BET Y ESTABILIZACIÓN DE G-CUADRUPLEX (G4)

Otro enfoque para atacar MYC consiste en bloquear su expresión. Se encuentran en estudio diferentes alternativas orientadas a este mecanismo de acción, pero los dos más estudiados son los inhibidores de bromodominio y proteínas de dominio extra terminal (BET) y compuestos que estabilizan los motivos G cuádruplex (G4) en el promotor MYC (Figura 12) (Duffy et al., 2021).

INHIBIDORES BET

Esta familia de proteínas está formada por 4 miembros; BRD2, BRD3, BRD4 y *bromodomain* proteínas específicas de testículo. Activan la transcripción gracias a que se unen a residuos de lisina acetilados de histonas y reclutan PTEFb, coactivador de ARN Pol II (Duffy et al., 2021; Wolf & Eilers, 2020).

Se ha demostrado que los inhibidores BET disminuyen la expresión de MYC y, por lo tanto, el crecimiento tumoral. El más característico y el primero que fue estudiado es el inhibidor de BRD4 llamado JQ1, que se une fuertemente bloqueando su actividad (Duffy et al., 2021). El mayor beneficio demostrado ha sido en tumores hematológicos. Destaca OTX015, con efecto antiproliferativo en células de linfoma, o el inhibidor XD14 con el mismo efecto en células leucémicas (Duffy et al., 2021; Leon et al., 2015).

Sin embargo, los estudios muestran que el resultado no es constante en todos los tumores, variando posiblemente según el tipo de tumor o su contexto celular. Además, en los resultados preliminares de diferentes ensayos clínicos, parece que cuando estos fármacos se usan en monoterapia tienen una eficacia anticancerígena limitada, y muchos de los ensayos han sido suspendidos por su elevada toxicidad (Duffy et al., 2021; Wolf & Eilers, 2020). Se están estudiando terapias combinadas de BETi con inhibidores de otras rutas como PI3K, MEK o HDACs.

ESTABILIZADOR G4

Las estructuras G4 consisten en ≥ 3 tétradas de guanina presentes en el promotor de MYC, que regulan negativamente su expresión. Se buscaron varios compuestos que se unieron y estabilizaron esta estructura, para disminuir la expresión de MYC. Consecuentemente, se observó que la proliferación celular quedaba inhibida y se inducía la apoptosis en diferentes líneas tumorales. Dentro de todos estos compuestos destacan GQC05, SYUIO05, DC34 y APT0253, siendo este último el más investigado.

Además de estabilizar G4 y disminuir la expresión de MYC, APTO253 induce la parada del ciclo celular, desencadena la apoptosis, e inhibe el crecimiento tumoral en una amplia variedad de tipos de cáncer. Con todo esto se comenzó un ensayo clínico en fase I y en general, el fármaco fue bien tolerado a excepción de fatiga referida por más del 10% de los pacientes (Duffy et al., 2021).

4.2.4.3. LETALIDAD SINTÉTICA

La letalidad sintética ocurre cuando un defecto genético, como una mutación, produce muerte celular si se localiza en los dos alelos, pero tiene poca influencia en la viabilidad celular si solo se localiza en uno (ver Figura 12). Este mecanismo se ha explorado con gran éxito en pacientes con cáncer de ovario y de mama con mutación BRCA1/2 (Duffy et al., 2021). Sun et al (Sun et al., 2022) identificaron una estrategia de letalidad sintética basada en la combinación de inhibidores de la CTP sintasa 1 (CTPS1) con inhibidores de ataxia-telangiectasia e inhibidores de Rad3 en tumores con MYC amplificado.

4.2.4.4. INHIBIDORES DE ESTABILIDAD DE MYC

Como se describió anteriormente, la estabilidad de MYC está altamente regulada (ver Figura 8). Se están investigando diferentes moléculas que pueden actuar como inhibidores de la estabilidad de MYC:

INHIBIDORES ENDÓGENOS DE PP2A

Inhibidores endógenos de PP2A como CIP2A es un evento novedoso para destruir las células tumorales dependientes de PP2A. Bien es cierto que aún no están claros los efectos terapéuticos observados (Wolf & Eilers, 2020).

INHIBIDORES DE AURORA A

En relación con el anterior mecanismo, se observa que, en varios tumores, el acceso de FBXW7 está bloqueado por un complejo de unión de MYCN y MYC con la quinasa Aurora-A. Inhibidores de esta unión como alisertib tienen efectos terapéuticos en modelos preclínicos ya que interrumpen el complejo y causan la degradación de MYC y MYCN (Wolf & Eilers, 2020).

COFACTORES DE MYC

El gran conocimiento sobre los cofactores que estabilizan MYC ha conllevado intento de apuntar a los mismos para desarrollar terapias contra el oncogen. El ejemplo más característico es accionar contra WDR5 para desestabilizar la unión de MYC al cofactor, unión que es necesaria para activar la función oncogénica de MYC (Duffy et al., 2021; Wolf & Eilers, 2020).

4.2.4.5. DEPENDENCIAS ESPECÍFICAS DE LAS CELULAS TUMORALES MYC

Como normalmente la concentración de MYC en las células es baja, la expresión de alto nivel de MYC resulta estresante para las células tumorales, y las mismas se hacen dependientes de distintos factores para su supervivencia y estabilidad, como proteínas antiapoptóticas, señales tróficas o glutamina como fuente de nutrientes. Estas

dependencias pueden inhibirse con distintas moléculas desarrolladas recientemente. Por ejemplo, inhibidores de la glutaminasa para bloquear la fuente de energía o antibióticos que inhiben la traducción mitocondrial como la tigeciclina (Wolf & Eilers, 2020).

En conjunto, la inhibición de la función o expresión de MYC en tumores es un tema de gran actualidad y se están consiguiendo avances fundamentales en el desarrollo de terapias dirigidas contra este oncogén tan frecuentemente alterado en cáncer.

4.3. REGULADOR TRANSCRIPCIONAL RUNX1

La familia de RUNX de factores de transcripción incluye varias proteínas (RUNX1, RUNX2 y RUNX3) denominadas “factores de transcripción relacionados con Runt”, “reguladores maestros del desarrollo embrionario” o también llamados “factores de unión al *core* (CBF α)” (Lin, 2022). Son de los genes más frecuentes con mutaciones en neoplasias hematológicas (Sood et al., 2017).

4.3.1. ESTRUCTURA Y FUNCION DE RUNX1

Todos los genes RUNX tienen un dominio RHD (Runt Homology Domain), que heterodimeriza con la proteína CBF β (Core Binding Factor β) (Figura 13). Esta unión supone un cambio estructural que estabiliza la unión entre las proteínas RUNX y el ADN (Lin, 2022; Sood et al., 2017).

A nivel funcional, cada uno de los 3 genes tiene diferente actividad. RUNX1 tiene un papel crucial en cáncer, como se detallará más adelante. RUNX2 está relacionado con la osteogénesis y las patologías osteogénicas relacionadas con la edad, mientras que RUNX3 está relacionado con el crecimiento del epitelio gástrico, de las neuronas de los ganglios de la raíz dorsal y de los linfocitos T (Hong et al., 2019; Lin, 2022).

En mamíferos, los 3 genes RUNX tienen una organización genética similar, con dos promotores (P1 y P2), y en humanos se localizan en diferentes cromosomas (RUNX1 en el cromosoma 21, RUNX2 en el 6 y RUNX3 en el 1). De forma específica, cabe destacar la estructura de RUNX1 por su papel en cáncer. El gen RUNX1 está formado por 21 kb y codifica para tres isoformas (Figura 13A). Las isoformas 1A y 1B están formadas por 453 aminoácidos y se transcriben desde el promotor proximal P2 del gen, y entre ellas difieren en su grupo carboxilo terminal. Por su parte, la isoforma 1C está formada por 483 aminoácidos y se transcribe desde promotor distal P1, siendo idéntica a la 1B excepto por 32 aminoácidos de su extremo amino (Lin, 2022; Sood et al., 2017). Entre 1B y 1C comparten el dominio de transactivación (TAD), formado a su vez por dominios activadores y represores. Los últimos cinco aminoácidos de ambas isoformas forman el dominio VWRPY que interactúa con un cofactor correpresor denominado TLE1, que tiene funciones esenciales en el desarrollo de diferentes vías celulares (Hong et al., 2019; Sood et al., 2017).

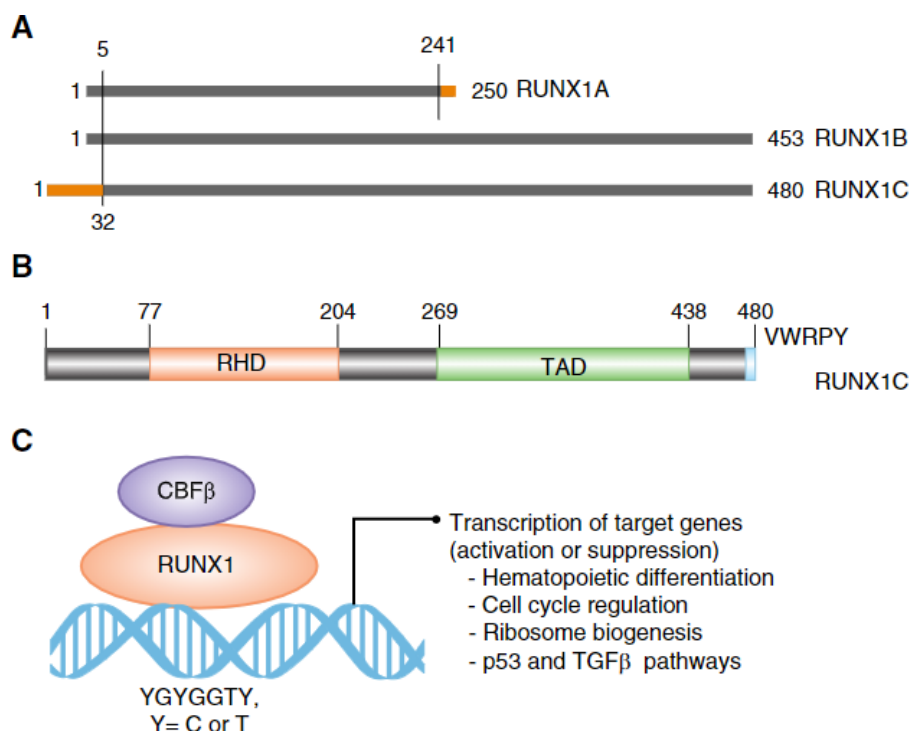


Figura 13. Estructura de RUNX1. A) Esquema de las 3 isoformas principales de RUNX1. 1A y 1B se transcriben a partir de P2, y 1C se transcribe a partir de P1, por lo que difieren en 32 aminoácidos (marcado en naranja). La isoforma 1A sólo contiene el dominio runt-homológico (RHD) y difiere en 9 aminoácidos (marcado en naranja). B) Esquema de la proteína RUNX1C mayoritaria, con los principales dominios funcionales indicados: RHD y dominio de transactivación (TAD). C) Esquema de la heterodimerización de RUNX1 con CBFβ y la interacción con el ADN en los promotores de sus genes diana (Sood et al., 2017).

De igual manera que en la estructura, cabe destacar la función específica de RUNX1, ya que es necesario para la diferenciación de las células madre hematopoyéticas y, por lo tanto, está altamente relacionado con las neoplasias hematológicas. Las isoformas 1A y 1B se expresan durante la diferenciación hematopoyética normal, mientras que 1C lo hace cuando aparece la enfermedad en las células madre hematopoyéticas. A nivel global, RUNX1 también interacciona con múltiples proteínas gracias a las que controla la expresión de otros genes implicados en la biogénesis de ribosomas, la regulación del ciclo celular o las vías de señalización de p53. A nivel tisular, está implicado en el desarrollo de los folículos pilosos, músculos, huesos, sistema nervioso, glándulas mamarias y cartílagos (Hong et al., 2019; Sood et al., 2017).

4.3.2. RUNX1 Y CÁNCER

4.3.2.1. CÁNCER HEMATOLÓGICO:

RUNX1 se encuentra alterado frecuentemente en cánceres hematológicos, y se conocen alrededor de 70 fusiones cromosómicas.

LEUCEMIA MIELOIDE AGUDA (LMA)

RUNX1 y CBFβ son factores frecuentemente mutados en LMA y LLA humanas. Las reordenaciones cromosómicas de estos factores en LMA incluyen las translocaciones t(8;21) (q22;q22) en el subtipo M2 e inv(16)(p13.1;q22)/t(16;16) en el subtipo M4Eo. Ambas enfermedades con estas alteraciones en edad pediátrica se asocian a un mejor pronóstico, sin embargo, las LMA con mutaciones de RUNX1 en edad adulta se asocian a peor pronóstico (Hong et al., 2019; Sood et al., 2017).

La principal traslocación de RUNX1 en LMA es la t(8;21), que implica el gen RUNX1 en el cromosoma 21 y RUNX1T1 en el cromosoma 8, que codifica la proteína CBFA2T1. Esta nueva proteína de fusión denominada RUNX1-RUNX1T1 (también conocida como RUNX1-CBFA2T1, RUNX1-MTG8, RUNX1-ETO, AML1-MTG8 o AML1-1ETO) (Figura 14) incluye los 177 aminoácidos N-terminales de RUNX1, incluido todo el RHD, fusionados con casi toda la proteína CBFA2T1, también conocida como MTG8 o ETO. La proteína CBFA2T1 contiene cuatro dominios denominados regiones de homología nerviosa (NHR) 1 a 4. NHR2 media la oligomerización de RUNX1-CBFA2T1, un proceso fundamental para la leucemogénesis (Hong et al., 2019; Sood et al., 2017).

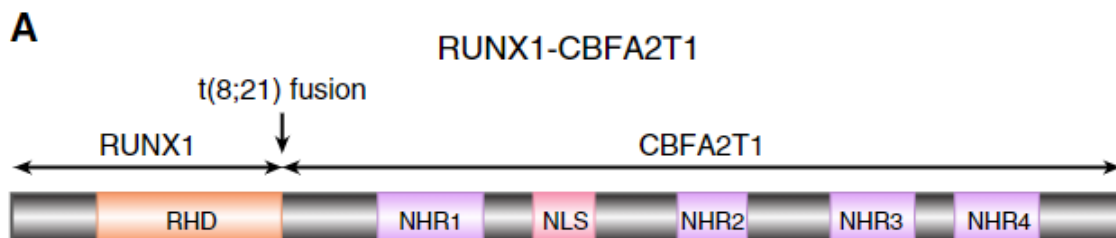


Figura 14. Estructura de RUNX1-CBFA2T1 (RUNX1-RUNX1T1) donde se observa el lugar de fusión entre las 2 proteínas. RUNX1-CBFA2T1 comprende el RHD de RUNX1 y 4 regiones de homología Nervy (NHR1-4) de CBFA2T1. NLS, señal de localización nuclear (Sood et al., 2017).

RUNX1-RUNX1T1 (RUNX1-ETO) forma complejos con otras proteínas correguladoras, entre las que destaca el correceptor del receptor nuclear (NCOR1), la histona desacetilasa (HDAC1) y SIN3A/HDAC en el dominio NHR de ETO. También RUNX1-ETO interactúa con las proteínas E inhibiendo la activación transcripcional. Lo más aceptado actualmente es que la oligomerización de RUNX1-ETO produce una inhibición predominantemente negativa de la función de RUNX1 siendo este el principal mecanismo leucemogénico (Hong et al., 2019).

Además de t(8;21), hay descritas otro conjunto de mutaciones secundarias en la LMA impulsada por RUNX1-RUNX1T1. En un 47% de las ocasiones, las células con RUNX1-RUNX1T1 pierden los cromosomas X o Y, se produce una delección en el brazo largo (q) del cromosoma 9 o una trisomía en el 8 (Sood et al., 2017). Además, la presencia de alteraciones en KIT, RAS y la tirosina quinasa FLT3 en pacientes con LMA RUNX1-RUNX1T1 está asociada a un pronóstico desfavorable (Sood et al., 2017).

Para la evolución de las LMA con traslocación de RUNX1 también son importantes la frecuencia de recaídas. Hay clones de preleucemia resistentes a la terapia que sobreviven a los tratamientos iniciales y adquieren mutaciones en otros genes como DHX15 y en el cromosoma 3, incluyendo GATA2, y producen la recaída (Sood et al., 2017).

Por último, destacar que no solo las alteraciones en el ADN tienen implicación en la leucemogénesis por RUNX1, sino también los microARNs (miARNs). Algunos actúan como oncogenes, y otros como supresores de tumores. Entre estos últimos destacan miR-9, miR-223, y miR-193a. La supresión epigenética de miR-193a por RUNX1-RUNX1T1 aumenta la actividad oncogénica de RUNX1-RUNX1T1 al aumentar directamente la expresión de la ADN metiltransferasa 3A (DNMT3A), HDAC3, KIT, CCND1 y MDM2. Además, miR-126 tiene un papel reseñable en la regulación de las células madre leucémicas y la quimiorresistencia (Hong et al., 2019).

LEUCEMIA LINFOLÁSTICA AGUDA (LLA) PEDIÁTRICA

La mutación más frecuente en la LLA pediátrica es la t(12;21). Esta translocación ocurre justo antes del reordenamiento de la inmunoglobulina, y produce unos blastos leucémicos cuya diferenciación a células B está bloqueada. La t(12;21) produce una fusión entre ETV6 o TEL, localizado en el cromosoma 12, y RUNX1 (AML1) en el cromosoma 21, dando lugar a la fusión ETV6-RUNX1 o TEL-AML1 (Figura 15) (Hong et al., 2019; Sood et al., 2017; Zelent et al., 2004).

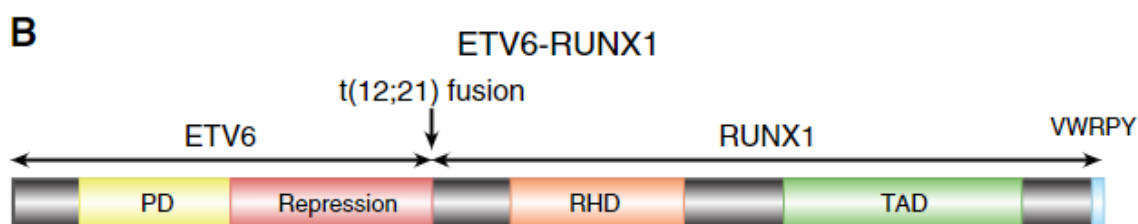


Figura 15. Esquema de ETV6-RUNX1, donde se observa el lugar de fusión entre las 2 proteínas. ETV6-RUNX1 contiene la fracción N-terminal de ETV6, que no se une al ADN, fusionada con casi toda la proteína RUNX1, incluidos sus dominios RHD y TAD, y el motivo VWRPY (Sood et al., 2017).

La proteína de fusión ETV6-RUNX1 interacciona con ETV6 salvaje mediante el dominio N-terminal PD (*pointed domain*), inhibiendo su actividad. La actividad transcripcional llevada a cabo por ETV6-RUNX1 requiere la unión de los complejos NCOR/HDAC a ETV6-RUNX1. Los dominios PD de ETV6 interactúan con SIN3A, un dominio de represión central, que a su vez interactuará con el complejo NCOR/HDAC. Se forma así un complejo

represor-nuclear que produce deleciones del alelo ETV6. Las deleciones producen clones preleucémicos que pueden quedar latentes durante muchos años hasta que mutaciones secundarias producen un “impulso” genético que lleva a la manifestación de la leucemia. Además de esta mutación principal, también se han encontrado otras como en PAX5, o deleciones en genes como EBF1, IKZF1, E2A, LEF1 e IKZF3, importantes en la diferenciación y maduración de las células B. Estudios recientes también han identificado mutaciones somáticas en RUNX1 en la LLA, y las relacionan con una mayor edad y mal pronóstico (Guidez et al., 2000; Sood et al., 2017).

SÍNDROMES MIELODISPLÁSICOS (SMD)

En torno a un 10% de los síndromes mielodisplásicos (SMDs) tienen mutaciones en los dos dominios principales de RUNX1, convirtiéndose en uno de los genes más alterados en esta patología. Las mutaciones en RUNX1 se correlacionan con una menor supervivencia, mayor riesgo y menor tiempo de latencia hacia la progresión a LMA. Se desconoce con exactitud el papel de RUNX1 en la progresión de SMD a LMA, pero sí se han estudiado diferentes mecanismos. Una de las principales teorías sostiene que los SMD con RUNX1 mutado producen cambios citogénicos, como la deleción de todo el cromosoma 7 o su brazo largo (-7/7q-), o mutaciones activadoras en la vía RTK-RAS que conducen a la transformación leucémica. Otro conjunto de estudios actuales sostiene además que las mutaciones en FLT3, MLL y JAK2 causan la transformación de los SMD a LMA al proporcionar una ventaja de crecimiento a los progenitores hematopoyéticos (Sood et al., 2017, Chiereghin et al., 2021)

4.3.2.2. CÁNCER SÓLIDO:

Además del papel de RUNX1 en las neoplasias hematológicas, los últimos estudios ponen en evidencia el papel fundamental de RUNX1 en la regulación de tumores sólidos (Figura 16), modulando numerosos “*Hallmarks*” como proliferación, diferenciación, angiogénesis, metástasis y quimiorresistencia de distintos tipos de cáncer (Lin, 2022).

La expresión de RUNX1 se encuentra incrementada en distintos tipos de tumores sólidos, incluyendo el cáncer colorrectal, glioma, glioblastoma mesenquimatoso y en carcinoma escamoso de cabeza y cuello. Además, los niveles de proteína de RUNX1 se encuentran aumentados en cáncer de páncreas, osteosarcoma, carcinoma renal de células claras, mesotelioma, escamoso de pulmón, adenocarcinoma de estómago, y timoma, entre otros. Varios de estos tipos de cáncer que muestran alta expresión de RUNX1 también mostraron estadios más avanzados, ganglios afectados, metástasis, y mayor invasión vascular. Sin embargo, en algunos otros tipos de cáncer los niveles de RUNX1 son más bajos que en las células normales, como en el melanoma uveal, cromóforo renal, glioblastoma multiforme, carcinoma hepatocelular y testicular, entre otros (Lin, 2022).

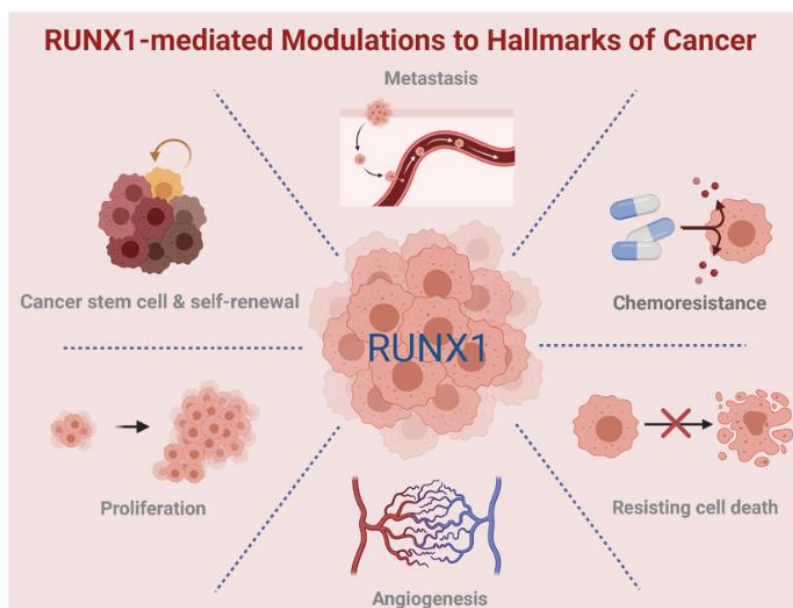


Figura 16. Esquema de las funciones de RUNX1 en la modulación de los “Hallmarks del cáncer” evidenciada en tumores sólidos (Lin, 2022).

RUNX1 puede tener un papel en la resistencia de las células tumorales a compuestos anticancerígenos mediante diferentes mecanismos. Destaca la interacción de RUNX1 con FOXO3a en el cáncer de ovario, que activa IGF1R aumentando la transcripción en el desarrollo de la resistencia al platino-Taxol. Aunque actualmente no se utiliza en humanos, se ha demostrado que el inhibidor de la interacción RUNX1/CBF β Ro5-3335 es capaz de reducir la actividad transcripcional de IGF1R y un aumento de la sensibilidad al tratamiento con platino-Taxol en modelos de ratón (Dhadve et al., 2020). En cáncer colorrectal, RUNX1 activa la vía de señalización de Hedgehog, y aumenta la expresión de ABCG2, aumentando la resistencia al 5-fluorouracilo (5-FU) (Q. Li et al., 2021).

Por su especial importancia y alta prevalencia poblacional, es importante el papel de RUNX1 en el cáncer de mama. No se conoce exactamente si actúa como un supresor de tumores o un oncogén, y lo más aceptado hoy en día es considerar que su función varía dependiendo del control hormonal, y subtipo de cáncer, teniendo cada uno diferentes orígenes celulares (luminal o basal) y alteraciones moleculares (Hong et al., 2019). A nivel global, se observó que un 6% de todos los cánceres de mama invasivos, y un 10% de los lobulillares invasivos presentan alteraciones en RUNX1, incluyendo mutaciones puntuales, mutaciones del marco de lectura y deleciones. La mayor parte de estas se encuentran localizadas en la interacción entre el RHD y el ADN, o en el CBF β , evitando que RUNX1 se una de manera correcta a sus genes diana (Hong et al., 2019).

Existen principalmente dos teorías sobre el mecanismo de RUNX1 en cáncer de mama, por un lado, la que considera que RUNX1 es supresor de tumores, y, por otro lado, la que considera que es oncogén. Varios estudios apoyan la primera de las versiones ya que se observa que la expresión de RUNX1 disminuye en el tejido mamario tumoral, con una disminución cada vez mayor si aumenta el grado del tumor. Además, parece que la pérdida de RUNX1 promueve la progresión del cáncer. Así se observó en estudios realizados con células mamarias normales MCF10A, en las que la pérdida de RUNX1

cambiaba su morfología de epitelial a mesenquimal e iniciaba la EMT (transición epitelio mesénquima) clave para la metástasis (Hong et al., 2019; Kas et al., 2017; Pereira et al., 2016). La otra postura es la que defiende RUNX1 como oncogén. Parece que la inhibición de RUNX1 en células de cáncer de mama triple negativo en estadio avanzado mostró una menor agresividad, con disminución de la proliferación, migración e invasión (Hong et al., 2019).

En resumen, se acepta que, en el subtipo luminal, RUNX1 actúa como supresor de tumores, en el basal, puede actuar como oncogén o supresor dependiendo del estadio de la enfermedad, y en el triple negativo avanzado, RUNX1 actúa como oncogén, relacionándose con mayor proliferación y agresividad (Chimge et al., 2016; Hong et al., 2019). Sería interesante conocer mejor el mecanismo por el cuál RUNX1 puede actuar de una u otra forma con el objetivo de trasladarlo a una terapia dirigida.

4.3.3. TERAPIAS DIRIGIDAS CONTRA RUNX1

4.3.3.1. TERAPIAS DIRIGIDAS A LAS INTERACCIONES PROTEINA-PROTEINA

Se encuentran en desarrollo dos terapias principales cuyo objetivo es bloquear la interacción entre proteínas. Una de ellas va dirigida a bloquear la unión entre CBF β -SMMHC y RUNX1, y la otra a bloquear la unión entre CBF β y RUNX1.

Como se mencionó antes, el gen *CBFB* está alterado en aproximadamente el 10% de los pacientes con LMA del subtipo M4Eo por la inversión del cromosoma 16 (inv(16)(p13q22)), y menos frecuentemente por t(16;16)(p13q22). La inversión rompe y une los genes *CBFB* y miosina 11 (*MYH11*), dando lugar a la proteína de fusión CBF β -SMMHC (Bushweller, 2019).

Esta proteína de fusión actúa como represor de CBF, desregulando varios genes necesarios para el desarrollo de la normal hematopoyesis. Es así, que se ha desarrollado un inhibidor llamado AI-10-49 (Figura 17) que interrumpe la unión entre las proteínas CBF β -SMMHC y RUNX1 con el objetivo de restaurar la actividad transcripcional de RUNX1 en la hematopoyesis. Se ha observado que presenta una farmacocinética favorable, retrasa la progresión de la leucemia, y disminuye la capacidad de las células inv(16) para formar CFUs (unidades formadoras de colonias) (Bushweller, 2019; Illendula et al., 2015). Al liberar a RUNX1, AI-10-49 incrementa la unión de RUNX1 en los *enhancers* distales, entre ellos los 3 *enhancer* distales de *MYC*. De esta forma, reprime la actividad de *MYC* e induce apoptosis. Podría ser interesante la combinación de AI-10-49 con BETi para el tratamiento de LMA con inv(16) (Pulikkan et al., 2017).

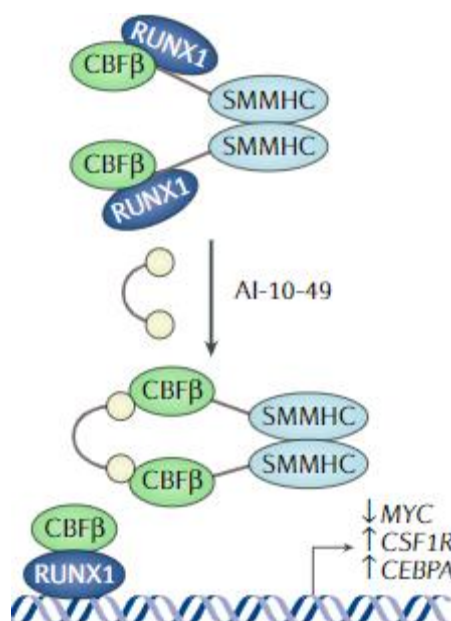


Figura 17. Esquema del mecanismo de acción del inhibidor de la interacción CBFβ-SMMHC-RUNX1 AI-10-49. El compuesto se une selectivamente a la fusión CBFβ-SMMHC para liberar RUNX1 y permitir que se una a sus sitios afines en el genoma y altere el programa de expresión génica (Bushweller, 2019).

La otra línea de estudio en este tipo de terapias es el bloqueo de la unión entre CBFβ y RUNX1. Como se explicaba al principio, CBFβ regula la función de las proteínas RUNX, facilitando su unión al ADN. Se ha observado que estos nuevos inhibidores interrumpen la unión entre los factores de transcripción Ikaros que promueven la proliferación del mieloma múltiple IKZF1 e IKZF3 y RUNX. Además, tienen una acción sinérgica con la lenalidomida, un fármaco utilizado en mieloma múltiple que media la destrucción proteosomal de los factores de transcripción Ikaros (Bushweller, 2019). Uno de estos inhibidores de la interacción de RUNX con CBFβ es AI-10-104 (Zhou et al., 2019).

Se ha demostrado su eficacia en células leucémicas RUNX1 mutado de LMA, en células leucémicas T de LLA, en células de cáncer de mama triple negativo, y en células de cáncer de ovario, donde, además, consiguió alterar los genes encargados de la EMT (Bushweller, 2019).

4.3.3.2. MODULAR LA EXPRESIÓN Y LA DEGRADACIÓN DE RUNX1

La quinasa dependiente de ciclina 7 (CDK7), es un componente del factor de transcripción general II H (TFIIH), que regula la iniciación y la pausa de la ARNPII. Esta CDK7 está involucrada en la expresión génica de varios genes, entre ellos, RUNX1. Por esta razón, se encuentran en desarrollo diferentes moléculas capaces de inhibir esta CDK7. El primero de estos inhibidores fue el compuesto denominado THZ1, una fenilaminopirimidina. Su inhibición, disminuye la transcripción y expresión génica de RUNX1, y por lo tanto las líneas celulares que tengan una alteración del mismo (Bushweller, 2019; Kwiatkowski et al., 2014).

Este inhibidor ha mostrado gran eficacia en la LLA de células T ya que su origen radica en un circuito autorregulador positivo entre los factores de transcripción RUNX1, TAL1

y GATA3. THZ1 consigue reducir la transcripción de los tres factores, disminuyendo la proliferación celular, aumentando el índice apoptótico y disminuyendo las proteínas antiapoptóticas (Bushweller, 2019; Kwiatkowski et al., 2014). También ha demostrado ser eficaz en modelos preclínicos para otros tipos de cáncer, como el neuroblastoma, el sarcoma de Ewing, el linfoma y el cáncer de pulmón de células pequeñas (Bushweller, 2019).

La empresa Syros ha desarrollado SY-1365, otro inhibidor de la CDK7, que se encuentra en ensayo clínico (Bushweller, 2019).

Otra estrategia que podría ser interesante es la inducción de la degradación proteasomal de las proteínas de fusión de RUNX1 a través de SMAD6, al igual que ocurre con el RUNX1 salvaje (Knezevic et al., 2011).

4.3.3.3. INTERRUPCIÓN DE LA UNIÓN DE RUNX1 AL ADN

Para el estudio de inhibidores que bloqueasen la unión de RUNX1 al ADN, se estudiaron unos compuestos llamados poliamidas. Son oligómeros sintéticos no covalentes que reconocen secuencias de ADN específicas. Son permeables a la membrana celular, atraviesan hasta localizarse en el núcleo celular y modifican luego la transcripción de los genes endógenos (Morita et al., 2017).

En esta línea, se desarrolló un inhibidor formado por una poliamida unida a clorambucilo, un fármaco alquilante utilizado para el tratamiento de diferentes tipos de cáncer, entre ellos la LLC. Su eficacia es controvertida, ya que por una parte sí que se observa una reducción en la unión de las proteínas de la familia RUNX a su sitio de unión al ADN, disminuyendo por lo tanto la expresión de RUNX1, pero, por otra parte, el agente utilizado es alquilante del ADN en sí mismo, por lo que es difícil diferenciar en qué medida los resultados obtenidos se deben a la eficacia del compuesto o al daño directo producido en el ADN (Bushweller, 2019; Morita et al., 2017). Sin embargo, resultan positivo los aumentos significativos de la supervivencia observados en modelos de LMA, LLA y cáncer de pulmón de células no pequeñas (Bushweller, 2019).

4.4. REGULADOR TRANSCRIPCIONAL MLL

MLL ó KMT2A (gen de la lisina metiltransferasa 2A) es el último de los reguladores de transcripción que describiremos por su especial relevancia como factor de mal pronóstico en cáncer. Se encuentra principalmente implicado en las leucemias en edad pediátrica. Mientras que otros tipos de leucemias en esta edad, alcanzan un 90% de supervivencia, las causadas por reordenamientos de MLL, tienen una supervivencia menor al 25% a 5 años, lo que pone de manifiesto la necesidad de buscar nuevas rutas terapéuticas (Chan & Chen, 2019; Issa et al., 2023; Steinhilber & Marschalek, 2018).

4.4.1. ESTRUCTURA Y FUNCIÓN DE MLL

MLL (o MLL1) pertenece, junto con MLL2, MLL3, MLL4, SETD1A y SETD1B, a la familia de las H3K4 metiltransferasas. Todos ellos son reguladores epigenéticos que se asocian con otras proteínas para formar grandes complejos macromoleculares denominados COMPASS. Estas proteínas activan la transcripción mediante la metilación de H3K4 en promotores y *enhancers* de genes diana (Zhao et al., 2021).

La proteína MLL está formada por 3.969 aminoácidos (Figura 18A). Sufre una rotura post-traduccional por la treonina aspartasa 1 (taspasa1) que lo divide en dos fragmentos distintos: MLL-N y MLL-C. Más tarde, estos se ensamblan de nuevo gracias a los dominios FYRN y FYRC (Chan & Chen, 2019).

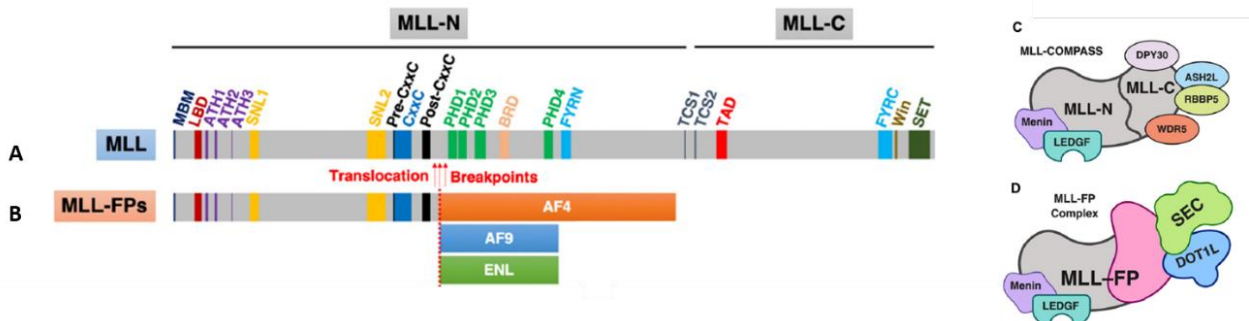


Figura 18. A) Estructura de MLL-N y MLL-C con sus diferentes dominios de unión. MLL-N con el dominio de unión a Menina, LBD, ATH1, ATH2, ATH3, SNL1 SNL2, pre-CxxC, CxxC, y post-CxxC, BRD, PDH1, PDH2, PDH3, PDH4, y FYRN. Por su parte MLL-C, con sus dos principales dominios, TAD y SET. B) Reordenamientos más frecuentes de MLL, dando lugar a las proteínas de fusión MLL-FPs. C) Complejos COMPASS formados por la interacción de los distintos dominios de MLL con diferentes proteínas como Menina. D) Proteínas de fusión de MLL (MLL-FP) formando complejos con DOTIL1 y SEC. Modificado de (Chan & Chen, 2019).

MLL-N consta de varios dominios: un motivo de unión a la proteína Menina, un dominio LBD de unión al factor de crecimiento derivado del epitelio del cristalino (LEDGF), tres motivos AT-*hook* de unión al ADN (ATH), dos señales de localización nuclear SNL1 y SNL2, un dominio pre-CxxC, un dominio CxxC no-metil-CpG, un dominio post-CxxC, un bromodominio (BRD), cuatro PHD *fingers* (*plant homology domains*) y el dominio facilitador de la homodimerización FYRN (Ali et al., 2014; Chan & Chen, 2019; Yokoyama & Cleary, 2008).

Cabe destacar la importancia de la función de las secuencias pre-CxxC, CxxC y post-CxxC, ya que median la interacción de MLL con el complejo del factor asociado a la polimerasa (PAFc). Este factor atrae a MLL y a las proteínas de fusión MLL-FP (Figura 18B) a genes diana como como HOXA9, necesario en la hematopoyesis, para activar su expresión (Chan & Chen, 2019).

Además, el bromodominio de MLL reconoce residuos de lisina acetilados, y el tercer dedo PHD de MLL interactúa con H3K4me2/3, requerido para llevar a cabo la transcripción génica mediada por MLL (Chan & Chen, 2019).

MLL-C posee principalmente dos dominios: un dominio transactivador (TAD), seguido de un dominio SET [Su (Var)3-9, enhancer-of-zeste, trithorax]. El dominio SET confiere la actividad metiltransferasa, catalizando la transferencia de un grupo metilo desde la S-adenosilmetionina a la H3K4. Además, MLL-C se ensambla en un gran complejo proteico (complejo COMPASS Figura 18C) junto con varios cofactores: la proteína de repetición WD 5 (WDR5), la proteína de unión al retinoblastoma 5 (RBBP5), la subunidad ASH2 del

complejo metiltransferasa de histonas Set1/Ash2 (ASH2L) y la proteína homóloga dpy-30 (DPY30). La formación de este complejo potencia más de 600 veces la capacidad de dimetilación de H3K4 del dominio SET de MLL (Chan & Chen, 2019; Rao & Dou, 2015).

Por su parte, el dominio TAD interactúa con las histonas acetiltransferasas CBP/p300, MOZ y MOF, que transfieren grupos acetilo a H3K27, H3K9 y H4K16, respectivamente. Estas acetiltransferasas son necesarias para la activación por parte de MLL de los genes *HOX*, esenciales para el adecuado desarrollo embrionario (Chan & Chen, 2019).

Como se deduce de su estructura e interacciones, la proteína MLL es un importantísimo regulador epigenético con un papel clave en la organización de la cromatina de sus genes diana, entre los que se encuentran genes maestros del desarrollo como son los genes *HOX*. No es de extrañar, que los reordenamientos de *MLL* conduzcan a alteraciones patológicas de la regulación epigenética global.

4.4.2. MLL Y CÁNCER

La alteración más característica es el reordenamiento cromosómico de MLL, dando lugar a las leucemias denominadas leucemias con reordenamiento de MLL (MLL-r). Representan el 5% de LLA en adultos, y el 5-10% de LMA. En edad pediátrica son mucho más frecuentes, abarcan el 70% en lactantes con LLA y el 50-66% de LMA (Chan & Chen, 2019).

Estos reordenamientos ocurren en el locus 11q23 y se asocian con mal pronóstico y peores resultados terapéuticos. Se han identificado un total de 135 reordenamientos MLL diferentes en LLA, aunque el 92% de ellos se producen con nueve genes de fusión: AF4, AF9, ENL, AF10, PTD, ELL, AF6, EPS1, y AF1Q. Nos centraremos en las cuatro translocaciones más frecuentes, MLL-AF4, MLL-AF9, MLL-AF10 y MLL-ENL (Chan & Chen, 2019; Steinhilber & Marschalek, 2018).

Una vez ocurre el reordenamiento, MLL adquiere diferentes actividades. Los puntos de ruptura se producen en el MLL-N, antes de las regiones PDH (Figura 18B). El resultado son proteínas de fusión (MLL-FPs) donde se pierde el dominio SET y, por tanto, la actividad metiltransferasa H3K4. En muchas de las translocaciones de MLL están implicados factores como AF4/AF9/ENL que son componentes del complejo de superelongación SEC. Esto hace que las proteínas MLL quiméricas, recluten a SEC (Figura 18D) y den lugar a una expresión génica aberrante. Además, varios de estos componentes del SEC interactúan con DOT1L, una histona H3K79 metiltransferasa (Figura 18D). El aumento de la metilación de H3K79 por DOT1L modifica la transcripción activa de genes *HOX* y está asociado con la transformación leucémica (Chan & Chen, 2019; Lee & Kim, 2022).

También, se ha observado que las MLL-FP quiméricas se asocian con cofactores y reclutan factores epigenéticos como H3K79, que igualmente llevan a la transformación leucémica (Chan & Chen, 2019).

En resumen, los últimos estudios sugieren que MLL quiméricas, conectan MLL con el complejo SEC y el complejo metiltransferasa DOT1L-H3K79, asociándose además a otros factores epigenéticos y contribuyendo así a la leucemogénesis.

4.4.3. TERAPIAS DIRIGIDAS CONTRA MLL

Actualmente, no se ha aprobado ninguna terapia específica contra la leucemia aguda con traslocaciones en MLL. Sin embargo, se están estudiando diferentes estrategias para abordar este tipo de cáncer (Figura 19).

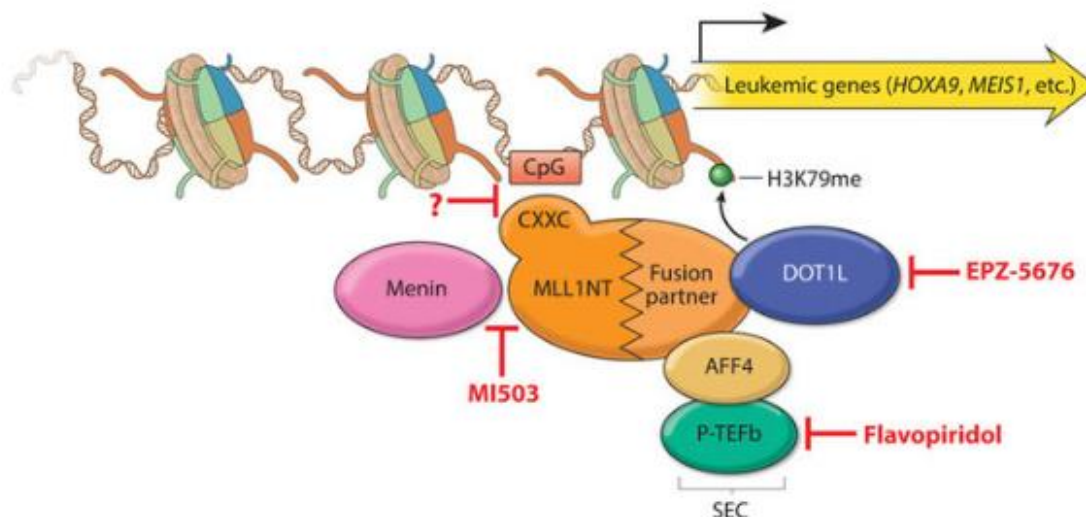


Figura 19. Diferentes dianas terapéuticas para la leucemia con translocación MLL. MI-503 bloquea la unión de Menina y MLL. Flavopiridol, a la subunidad SEC P-TEFb y EPZ-5676 a DOT1L (disruptor del silenciamiento telomérico 1), implicado en leucemia linfoblástica aguda con la fusión MLL-AF4 (Hu & Shilatifard, 2016).

4.4.3.1. DIRIGIDOS A LAS INTERACCIONES MENINA-LEDGF-MLL

En primer lugar, se han propuesto algunas terapias contra la interacción de MLL con Menina y LEDGF. Como se ha mencionado anteriormente, Menina es esencial para la metilación H3K4 y la correcta expresión de casi todos los genes *HOX*. Borkin et al (Borkin et al., 2015) desarrollaron dos moléculas denominadas MI-463 y MI-503, que bloquean la unión de Menina a MLL. Como resultado, se observó una menor expresión de MLL quiméricas, menos blastos leucémicos, y un aumento de la supervivencia. Además, 10 días después de la inhibición de Menina, no se produjo ningún deterioro en la hematopoyesis normal. MI-463 surgió como un análogo de MI-503 con una mayor afinidad por la Menina y, por lo tanto, una mayor eficacia en la supresión de la proliferación de células de leucemia con proteínas de fusión MLL.

Se ha desarrollado otro inhibidor, MI-1481, que funciona con el mismo mecanismo pero que es más potente (Chan & Chen, 2019). MI-1481 es eficaz en líneas celulares de leucemia humanas con fusiones de MLL, entre ellas MV-4-11, donde el tratamiento con MI-1481 disminuye tanto la proteína de fusión de MLL (MLL-AF4) como la expresión de sus genes diana. Además, favorece la reprogramación de estas células primitivas a células maduras de la sangre (Shi et al., 2012).

REVUMENIB, EL NUEVO INHIBIDOR DE LA MENINA

En este último año se describió un nuevo fármaco, Revumenib (SNDX-5613) que se encuentra en ensayo clínico de fase 1 en humanos. Su mecanismo de acción antileucémico consiste en bloquear la unión menina-MLL, consiguiendo disminuir la expresión aberrante de HOX, CDK6, PBX3, MEIS1, entre otros genes leucemogénicos. Su uso se ha probado para pacientes con leucemia aguda refractaria o en recaída, con resultados muy favorables. La tasa de remisión completa fue del 30%. El 84% consiguieron la remisión morfológica tras el primer ciclo y con ciclos posteriores, muchos de ellos consiguieron la remisión fenotípica (Issa et al., 2023).

Además, tiene poca toxicidad. Los acontecimientos adversos más frecuentes son náuseas, vómitos, neutropenia febril y una alteración del ritmo cardíaco. Algunos efectos adversos de grado 3 fueron neutropenia febril, trombocitopenia o sepsis, y entre los de grado 4 solo destaca un 2% con neutropenia y trombocitopenia. Otro efecto adverso frecuente en los tratamientos antileucémicos es el síndrome de diferenciación hematopoyética (causado por alteración de las citocinas), que clínicamente se manifiesta como fiebre, artralgias, derrames pleurales o pericárdicos, incluso insuficiencia renal o respiratoria. Con este nuevo fármaco, solo el 16% de los pacientes lo presentaron, y todos cedieron con la toma de corticoides. Además, es importante destacar que ningún paciente dejó el tratamiento ni falleció a causa de las toxicidades mencionadas (Issa et al., 2023).

4.4.3.2. DIRIGIDO A LEDGF

LEDGF es una proteína asociada a cromatina que interacciona con MLL y Menina y puede ser una interesante diana terapéutica. Se están investigando los inhibidores de LEDGF como terapias potenciales para la leucemia MLL al interrumpir la interacción entre LEDGF y las proteínas de fusión MLL. Los inhibidores de LEDGF como los LEDGINS, que bloquean la interacción han mostrado eficacia en estudios preclínicos. Actúan al interrumpir la interacción entre LEDGF y las proteínas de fusión MLL, lo que conduce a la apoptosis de las células leucémicas. Además, se está explorando el potencial de las terapias combinadas (Chan & Chen, 2019; Cierpicki et al., 2011).

4.4.3.3. DIRIGIDO A DOT1L

DOT1L (disruptor del silenciamiento telomérico 1) es una metiltransferasa que está implicada principalmente en leucemia linfoblástica aguda con la fusión MLL-AF4. MLL-AF4 recluta a DOT1L a los promotores y aumenta la metilación de H3K79, lo que promueve la expresión activa de genes oncogénicos y contribuye al desarrollo de la leucemia. Este hecho lleva a investigar inhibidores de DOT1L como fármacos prometedores. Entre ellos, destaca el pinometostat (EPZ-5676) que se encuentra en fase I. Su uso en monoterapia es controvertido, ya que es altamente potente y selectivo frente a DOT1L, pero su biodisponibilidad oral fue baja y su eficacia cuestionable. Bien es cierto, que la infusión IV sí que provocó regresión tumoral completa sin una toxicidad significativa. Es por esto, que se está tratando de investigar si su combinación con otros fármacos como 5-Aza-CR (ensayo en fase I/II) puede tener un efecto sinérgico y potente (Chan & Chen, 2019; Daigle et al., 2013). Otro inhibidor selectivo de DOT1L es EPZ-004777, que puede ser una terapia eficaz para el tratamiento de leucemia MLL, aunque

todavía está en fase preclínica y solo se ha probado en modelos animales (Raj et al., 2015).

4.4.3.4. DIRIGIDO A LSD1

LSD1 O KDM1 es una lisina-desmetilasa específica, implicada en la leucemogénesis ya que contribuye al bloqueo de la diferenciación de AML, principalmente aquellas con translocaciones MLL-AF9. Varios han sido los compuestos dirigidos a bloquear LSD1 para promover la diferenciación de MLL AML, entre los que destacan OG-86 o Compuesto B y ORY-1001 (Chan & Chen, 2019).

El primero de ellos, OG-86, consiguió inhibir la formación de nuevas colonias leucémicas, y la promoción de células leucémicas a blastos leucémicos primarios (Chan & Chen, 2019). Además, dado que la ruta de señalización de mTOR es elevada en AML, se han hecho ensayos combinando OG-86 con inhibidores de mTOR, como RAD001, y se ha observado un aumento significativo en la inhibición del crecimiento celular (Deb et al., 2020).

El segundo, ORY-1001, es un inhibidor covalente de LSD1. Igualmente, demostró la diferenciación leucémica en LMA, y prolongó la supervivencia en leucemia aguda. Además, muestra una inhibición muy potente y selectiva con buena biodisponibilidad tanto oral como intraperitoneal. Es por esto, que se encuentra en ensayo en fase I/IIa, especialmente para leucemias recidivantes o refractarias (Chan & Chen, 2019).

Otro potente inhibidor es GSK2879552, cuya eficacia se ha observado tanto en modelos de AML como en cáncer microcítico de pulmón. Además, se ha identificado la hipometilación del ADN como un biomarcador para predecir la sensibilidad a GSK2879552 (Mohammad et al., 2015).

4.4.3.5. DIRIGIDO A LA UNIÓN AF4-AF9/ENL

PFWT ó PenLWVKIDLDSRV es un péptido recombinante dirigido a bloquear la interacción de AF4 con AF9 o ENL, las dos proteínas de fusión más comunes con MLL. Su eficacia se demostró tanto in vivo como in vitro ya que alteraba el crecimiento de las células MLL-AF4 e inducía muerte celular (Steinhilber & Marschalek, 2018). Inicialmente, se creía que PFWT inducía apoptosis (Srinivasan et al., 2004), pero existe cierta controversia en este efecto ya que posteriormente se ha descubierto que puede inducir muerte celular mediante necrosis (Palermo et al., 2008). Esto sería interesante dada la resistencia de las células con la traslocación (t4;11) a la inducción de apoptosis, que podrían tratarse mediante la inducción de otras vías de muerte celular. De hecho, la combinación de agentes que desencadenan la muerte celular por necrosis como PFWT con agentes pro-apoptóticos (como etopósido, 17AAG, citarabina) parece eficaz en leucemias MLL (Palermo et al., 2008).

Pese a este gran beneficio, la toxicidad del péptido sigue en estudio ya que también bloquea la unión de AF9 o ENL con el complejo AF4 de tipo salvaje no mutado. Esto hace a las células perder su capacidad de enfrentarse a situaciones de estrés, y provoca consecuentemente la apoptosis de las mismas (Steinhilber & Marschalek, 2018).

Chan & Chen (Chan & Chen, 2019), descubrieron un inhibidor selectivo de AF9 llamado XL-13a que parece tener mejor perfil de toxicidad que los anteriores.

DIRIGIDO A ENL

Por otro lado, caben destacar las terapias dirigidas a ENL. ENL forma parte del complejo SEC y es la tercera translocación MLL más frecuente. Tiene un papel importante en el mantenimiento de la leucemogénesis en LMA. Su inhibición por una herramienta de edición genética llamada CRISPR-Cas9, produjo bloqueo del crecimiento celular, de la expresión de las células leucémicas, y la diferenciación de MLL-ENL. Además, demostró un aumento de la supervivencia (Chan & Chen, 2019).

ENL tiene además un dominio denominado YEATS, necesario para el mantenimiento de las células mutadas. Diferentes grupos lo enfocaron como posible diana terapéutica y dos de ellos, consiguieron una molécula pequeña llamada XS018661 que se une a este dominio de ENL (Chan & Chen, 2019).

Liu et al (Liu et al., 2022) describen un nuevo inhibidor llamado TDI-11055, su mecanismo de acción consiste en inhibir la unión a la cromatina de ENL. Gracias a esto, bloquea la interacción del dominio YEATS con las histonas, y parece tener buenos resultados clínicos en el tratamiento de LMA con translocaciones MLL.

Por último, mencionar XL-13m, un inhibidor selectivo de ENL, que puede ser eficaz en combinación con el inhibidor de DOT1L Pinometostat o con el inhibidor de BRD4 (+)- JQ1 (Chan & Chen, 2019).

4.4.3.6. DIRIGIDO A BRD4 Y BRD9

DIRIGIDO A BRD4

Como ya se comentó en el apartado de MYC, BRD4 pertenece a la familia de proteínas BET, necesarias para el control del ciclo celular, mecanismos epigenéticos y regulación de la transcripción. En 2011, se observó que el bloqueo de BRD4 con ARN de horquilla corta (ARNhc) o con (+)- JQ1 (tienotriazolodiazepina inhibidora altamente potente de BRD4) producía efectos antileucémicos en LMA con mutación MLL-AF9. Estos nuevos compuestos, inducen la diferenciación celular, depleción de células leucémicas y, además, producen sinergia ya que también disminuyen de la expresión de MYC, factor de transcripción ya comentado con alta implicación en la leucemogénesis (Chan & Chen, 2019; Zuber et al., 2011). Sin embargo, JQ1 tiene una baja biodisponibilidad oral y una mala farmacocinética, siendo necesaria su administración dos veces al día. Se ha sintetizado un análogo de JQ1, denominado TEN-010 (JQ2), que actualmente se encuentra en ensayos clínicos de LMA, SMD y tumores sólidos (Finley & Copeland, 2014). Existe otro compuesto, denominado OTX015, que es un inhibidor de BRD2, BRD3 y BRD4, y presenta una estructura similar a JQ1, que en ensayos preclínicos ha resultado eficaz en linfoma de células B, mieloma múltiple y algunos tipos de tumores sólidos como neuroblastoma y mesotelioma (Shorstova et al., 2021).

Dawson et al (Dawson et al., 2011) descubrieron otro compuesto GSK1210151A, llamado I-BET-151. Su mecanismo de acción es algo diferente al anterior, ya que lo que

estos autores sugieren es que BRD4 puede reclutar a MLL-AF4 o MLL-AF9 a la cromatina y así activar genes leucemogénicos, por lo que la inhibición de este podría tener eficacia terapéutica. Este compuesto demostró su actividad in vivo con, además, mejores propiedades farmacocinéticas que JQ1 (Chan & Chen, 2019).

DIRIGIDO A BRD9

BRD9 es un componente esencial del complejo de remodelado de la cromatina SWI/SNF, concretamente forma parte del complejo BAF no canónico (ncBAF). BRD9 juega un papel importante en la estabilidad y la degradación de MYC y MYB en diferentes tipos de cáncer, incluido LMA. La inhibición de BRD9 en células de LMA afectan al crecimiento celular, la diferenciación y la capacidad de formación de colonias. El descubrimiento de la molécula BI-7273 (Figura 20) consiguió la inhibición de esta proteína BET, y así también el crecimiento de células leucémicas MLL (Hohmann et al., 2016). De forma similar actúa BI-9564; sin embargo, estos dos compuestos que inhiben el bromodominio de BRD9 parecen no ser suficientemente eficaces. Actualmente se están estudiando otros compuestos como EA-89, QA-68 y dBRD9-A, encargados de degradar BRD9, cuya administración como tratamiento único no parece eficaz en LMA, pero sí lo es en combinación con agentes quimioterápicos convencionales (Weisberg et al., 2022).

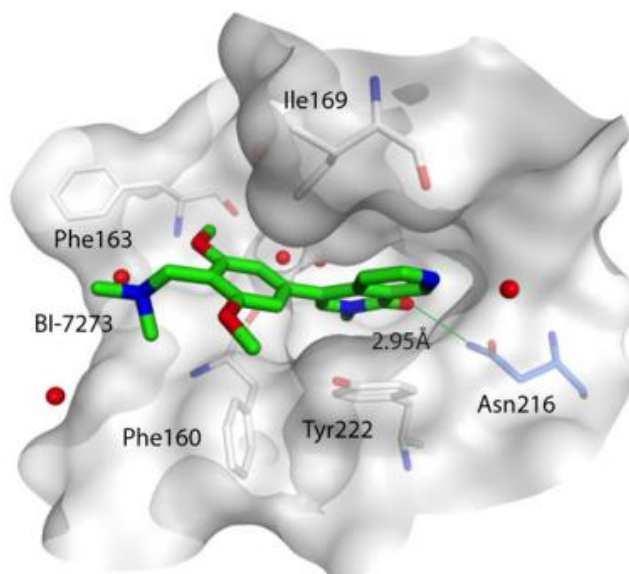


Figura 20. Estructura cristalina de BI-7273 unido al dominio BRD9 (Hohmann et al., 2016).

4.4.3.7. DIRIGIDO A FYRN/FYRC

Los dominios FYNR y FYRC se encargan de unir MLL-C y MLL-N como ya se ha comentado antes. Sin embargo, también son los encargados de la interacción intermolecular necesaria para dar lugar a MLL-AF4. Esta zona de interacción es amplia, pero destacan una secuencia de aminoácidos característica en cada uno de los dominios: los aminoácidos 1991-2104 de FYRN y 3651-3752 de FYRC (Steinhilber & Marschalek, 2018).

La sobreexpresión de FYRN y FYRC en MLL-AF4 inhibe la formación de los heterodímeros FYRN-FYRC, y en consecuencia bloquean la formación de AF4-MLL, produciendo la degradación de la proteína AF4-MLL (Steinhilber & Marschalek, 2018).

4.4.3.8. DIRIGIDO A TASPASA1

Como ya se ha comentado anteriormente, la taspasa1 es necesaria para la escisión de MLL en MLL-C y MLL-N. Varios grupos diseñaron una taspasa1 dominante negativa (dnTASP1), que es capaz de unirse a la taspasa1 silvestre e inactivarla. Como también se ha comentado, la escisión por taspasa1 es necesaria para dar lugar a MLL-AF4, por lo que dnTASP1 inhibe la escisión y produce la autodestrucción de MLL-AF4 (Steinhilber & Marschalek, 2018).

5. CONCLUSIONES

Como se ha explicado a lo largo de este trabajo de revisión, las alteraciones en los factores de transcripción, con la subsiguiente desregulación de la expresión génica, son procesos altamente oncogénicos. Hasta hace poco tiempo, los tumores con estas alteraciones eran tratados con terapias convencionales, por tratarse de moléculas que se consideran extremadamente difíciles de modificar o inhibir. Sin embargo, en los últimos años y gracias al conocimiento de las bases moleculares relativas a su estructura, función y papel en cáncer, se ha impulsado enormemente el desarrollo de terapias capaces de bloquear o revertir la función anómala de los principales factores de transcripción oncogénicos, aportando nuevas perspectivas que mejoran la actividad clínica del cáncer. Muchas de estas terapias dirigidas se encuentran ya en ensayos clínicos y constituyen un campo de investigación muy activo, tanto en neoplasias sólidas como hematológicas. Los resultados son muy prometedores tanto en monoterapia como en combinación con terapias más clásicas, consiguiéndose así, un nuevo acercamiento al tratamiento de esta compleja enfermedad.

6. AGRADECIMIENTOS

A mis tutoras, Dolores y Vanessa, por formar parte de este bonito trabajo, pero, sobre todo, por ayudarme y aconsejarme desde el primer momento.

A mis padres y mi hermana, por acompañarme en este largo camino que empezó mucho antes de la universidad, por confiar y creer siempre en mí.

A Nuri, Pau, Garri y Nere, por ser la base y el día a día de todo esto, por los mejores 6 años de mi vida y porque nos queden muchos más juntas.

Y, por último; a mis abuelos, a mis tíos, y a todos los pacientes que luchan cada día contra el cáncer. Sois el verdadero corazón y motor de mi profesión.

7. BIBLIOGRAFÍA

- Ahuja, N., Sharma, A. R., & Baylin, S. B. (2016). Epigenetic therapeutics: A new weapon in the war against cancer. *Annual Review of Medicine*, 67, 73–89. <https://doi.org/10.1146/annurev-med-111314-035900>
- Ali, M., Hom, R. A., Blakeslee, W., Ikenouye, L., & Kutateladze, T. G. (2014). Diverse functions of PHD fingers of the MLL/KMT2 subfamily. In *Biochimica et Biophysica Acta - Molecular Cell Research* (Vol. 1843, Issue 2, pp. 366–371). <https://doi.org/10.1016/j.bbamcr.2013.11.016>
- Allis, C. D., & Jenuwein, T. (2016). The molecular hallmarks of epigenetic control. In *Nature Reviews Genetics* (Vol. 17, Issue 8, pp. 487–500). Nature Publishing Group. <https://doi.org/10.1038/nrg.2016.59>
- Babar, Q., Saeed, A., Tabish, T. A., Pricl, S., Townley, H., & Thorat, N. (2022). Novel epigenetic therapeutic strategies and targets in cancer. In *Biochimica et Biophysica Acta - Molecular Basis of Disease* (Vol. 1868, Issue 12). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2022.166552>
- Biegging, K. T., Mello, S. S., & Attardi, L. D. (2014). Unravelling mechanisms of p53-mediated tumour suppression. In *Nature Reviews Cancer* (Vol. 14, Issue 5, pp. 359–370). Nature Publishing Group. <https://doi.org/10.1038/nrc3711>
- Borkin, D., He, S., Miao, H., Kempinska, K., Pollock, J., Chase, J., Purohit, T., Malik, B., Zhao, T., Wang, J., Wen, B., Zong, H., Jones, M., Danet-Desnoyers, G., Guzman, M. L., Talpaz, M., Bixby, D. L., Sun, D., Hess, J. L., ... Grembecka, J. (2015). Pharmacologic inhibition of the menin-MLL interaction blocks progression of MLL leukemia *in vivo*. *Cancer Cell*, 27(4), 589–602. <https://doi.org/10.1016/j.ccell.2015.02.016>
- Bradner, J. E., Hnisz, D., & Young, R. A. (2017). Transcriptional Addiction in Cancer. In *Cell* (Vol. 168, Issue 4, pp. 629–643). Cell Press. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2016.12.013>
- Brien, G. L., Valerio, D. G., & Armstrong, S. A. (2016). Exploiting the Epigenome to Control Cancer-Promoting Gene-Expression Programs. In *Cancer Cell* (Vol. 29, Issue 4, pp. 464–476). Cell Press. <https://doi.org/10.1016/j.ccell.2016.03.007>
- Bushweller, J. H. (2019). Targeting transcription factors in cancer — from undruggable to reality. In *Nature Reviews Cancer* (Vol. 19, Issue 11, pp. 611–624). Nature Publishing Group. <https://doi.org/10.1038/s41568-019-0196-7>
- Bykov, V. J. N., Eriksson, S. E., Bianchi, J., & Wiman, K. G. (2018). Targeting mutant p53 for efficient cancer therapy. In *Nature Reviews Cancer* (Vol. 18, Issue 2, pp. 89–102). Nature Publishing Group. <https://doi.org/10.1038/nrc.2017.109>
- Chan, A. K. N., & Chen, C. W. (2019). Rewiring the epigenetic networks in MLL-rearranged leukemias: Epigenetic dysregulation and pharmacological

- interventions. In *Frontiers in Cell and Developmental Biology* (Vol. 7, Issue May). Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fcell.2019.00081>
- Chiereghin, C., Travaglino, E., Zampini, M., Saba, E., Saitta, C., Riva, E., Bersanelli, M., & Della Porta, M. G. (2021). The genetics of myelodysplastic syndromes: Clinical relevance. *Genes*, 12(8). <https://doi.org/10.3390/genes12081144>
- Chimge, N. O., Little, G. H., Baniwal, S. K., Adisetiyo, H., Xie, Y., Zhang, T., O’Laughlin, A., Liu, Z. Y., Ulrich, P., Martin, A., Mhawech-Fauceglia, P., Ellis, M. J., Tripathy, D., Groshen, S., Liang, C., Li, Z., Schones, D. E., & Frenkel, B. (2016). RUNX1 prevents oestrogen-mediated AXIN1 suppression and β -catenin activation in ER-positive breast cancer. *Nature Communications*, 7. <https://doi.org/10.1038/ncomms10751>
- Cierpicki, T., He, S., Purohit, T., Murai, M., Hartley, T., & Grembecka, J. (2011). Targeting LEDGF Interactions in MLL Leukemia. *Blood*, 118(21), 2500–2500. <https://doi.org/10.1182/blood.v118.21.2500.2500>
- Cooper, G. M. (2021). *La célula* (Marbán, Ed.; 8th ed.).
- Cramer, P. (2019). Organization and regulation of gene transcription. In *Nature* (Vol. 573, Issue 7772, pp. 45–54). Nature Publishing Group. <https://doi.org/10.1038/s41586-019-1517-4>
- Cutter, A. R., & Hayes, J. J. (2015). A brief review of nucleosome structure. In *FEBS Letters* (Vol. 589, Issue 20, pp. 2914–2922). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/j.febslet.2015.05.016>
- Daigle, S. R., Olhava, E. J., Therkelsen, C. A., Basavapathruni, A., Jin, L., Ann Boriack-Sjodin, P., Allain, C. J., Klaus, C. R., Raimondi, A., Scott, M. P., Waters, N. J., Chesworth, R., Moyer, M. P., Copeland, R. A., Richon, V. M., & Pollock, R. M. (2013). Potent inhibition of DOT1L as treatment of MLL-fusion leukemia. *Blood*, 122(6), 1017–1025. <https://doi.org/10.1182/blood-2013-04>
- Dawson, M. A., Prinjha, R. K., Dittmann, A., Giotopoulos, G., Bantscheff, M., Chan, W. I., Robson, S. C., Chung, C. W., Hopf, C., Savitski, M. M., Huthmacher, C., Gudgin, E., Lugo, D., Beinke, S., Chapman, T. D., Roberts, E. J., Soden, P. E., Auger, K. R., Mirguet, O., ... Kouzarides, T. (2011). Inhibition of BET recruitment to chromatin as an effective treatment for MLL-fusion leukaemia. *Nature*, 478(7370), 529–533. <https://doi.org/10.1038/nature10509>
- Deb, G., Wingelhofer, B., Amaral, F. M. R., Maiques-Diaz, A., Chadwick, J. A., Spencer, G. J., Williams, E. L., Leong, H. S., Maes, T., & Somerville, T. C. P. (2020). Pre-clinical activity of combined LSD1 and mTORC1 inhibition in MLL-translocated acute myeloid leukaemia. *Leukemia*, 34(5), 1266–1277. <https://doi.org/10.1038/s41375-019-0659-6>
- Dębek, S., & Juszczynski, P. (2022). Super enhancers as master gene regulators in the pathogenesis of hematologic malignancies. In *Biochimica et Biophysica Acta* -

- Reviews on Cancer* (Vol. 1877, Issue 2). Elsevier B.V.
<https://doi.org/10.1016/j.bbcan.2022.188697>
- Delgado, MD., & Leon J. (2006). Gene expression regulation and cancer. *Clinic and Translational Oncology*, 8(11):780-787. doi:10.1007/s12094-006-0132-7
- Dhadve, A. C., Hari, K., Rekhi, B., Jolly, M. K., De, A., & Ray, P. (2020). Decoding molecular interplay between RUNX1 and FOXO3a underlying the pulsatile IGF1R expression during acquirement of chemoresistance. *Biochimica et Biophysica Acta - Molecular Basis of Disease*, 1866(6). <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2020.165754>
- Dhanasekaran, R., Deutzmann, A., Mahauad-Fernandez, W. D., Hansen, A. S., Gouw, A. M., & Felsher, D. W. (2022). The MYC oncogene — the grand orchestrator of cancer growth and immune evasion. *Nature Reviews Clinical Oncology*, 19(1), 23–36. <https://doi.org/10.1038/s41571-021-00549-2>
- Duffy, M. J., O'Grady, S., Tang, M., & Crown, J. (2021). MYC as a target for cancer treatment. In *Cancer Treatment Reviews* (Vol. 94). W.B. Saunders Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.ctrv.2021.102154>
- Finley, A., & Copeland, R. A. (2014). Small molecule control of chromatin remodeling. In *Chemistry and Biology* (Vol. 21, Issue 9, pp. 1196–1210). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.chembiol.2014.07.024>
- Guidez, F., Petrie, K., Ford, A. M., Lu, H., Bennett, C. A., Macgregor, A., Rgen Hannemann, J., Ito, Y., Ghysdael, J., Greaves, M., Wiedemann, L. M., & Zelent, A. (2000). Recruitment of the nuclear receptor corepressor N-CoR by the TEL moiety of the childhood leukemia-associated TEL-AML1 oncoprotein. *Blood*, 96(7), 2557–2561. <https://doi.org/10.1182/blood.V96.7.2557>
- Hanahan, D. (2022). Hallmarks of Cancer: New Dimensions. In *Cancer Discovery* (Vol. 12, Issue 1, pp. 31–46). American Association for Cancer Research Inc. <https://doi.org/10.1158/2159-8290.CD-21-1059>
- Hanahan, D., & Weinberg, R. A. (2011). Hallmarks of cancer: The next generation. In *Cell* (Vol. 144, Issue 5, pp. 646–674). <https://doi.org/10.1016/j.cell.2011.02.013>
- Hernández Borrero, L. J., & El-Deiry, W. S. (2021). Tumor suppressor p53: Biology, signaling pathways, and therapeutic targeting. In *Biochimica et Biophysica Acta - Reviews on Cancer* (Vol. 1876, Issue 1). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.bbcan.2021.188556>
- Hohmann, A. F., Martin, L. J., Minder, J. L., Roe, J. S., Shi, J., Steurer, S., Bader, G., McConnell, D., Pearson, M., Gerstberger, T., Gottschamel, T., Thompson, D., Suzuki, Y., Koegl, M., & Vakoc, C. R. (2016). Sensitivity and engineered resistance of myeloid leukemia cells to BRD9 inhibition. *Nature Chemical Biology*, 12(9), 672–679. <https://doi.org/10.1038/nchembio.2115>

- Hong, D., Fritz, A. J., Gordon, J. A., Tye, C. E., Boyd, J. R., Tracy, K. M., Fietze, S. E., Carr, F. E., Nickerson, J. A., Van Wijnen, A. J., Imbalzano, A. N., Zaidi, S. K., Lian, J. B., Stein, J. L., & Stein, G. S. (2019). RUNX1-dependent mechanisms in biological control and dysregulation in cancer. In *Journal of Cellular Physiology* (Vol. 234, Issue 6, pp. 8597–8609). Wiley-Liss Inc. <https://doi.org/10.1002/jcp.27841>
- Hu, D., & Shilatifard, A. (2016). Epigenetics of hematopoiesis and hematological malignancies. *Genes Dev*, 30(18), 2021–2041. <https://doi.org/10.1101/gad.284109>
- Illendula, A., Pulikkan, J. A., Zong, H., Grembecka, J., Xue, L., Sen, S., Zhou, Y., Boulton, A., Kuntimaddi, A., Gao, Y., Rajewski, R. A., Guzman, M. L., Castilla, L. H., & Bushweller, J. H. (2015). A small-molecule inhibitor of the aberrant transcription factor CBF β -SMMHC delays leukemia in mice. *Science*, 347(6223), 779–784. <https://doi.org/10.1126/science.aaa0314>
- Issa, G. C., Aldoss, I., DiPersio, J., Cuglievan, B., Stone, R., Arellano, M., Thirman, M. J., Patel, M. R., Dickens, D. S., Shenoy, S., Shukla, N., Kantarjian, H., Armstrong, S. A., Perner, F., Perry, J. A., Rosen, G., Bagley, R. G., Meyers, M. L., Ordentlich, P., ... Stein, E. M. (2023). The menin inhibitor revumenib in KMT2A-rearranged or NPM1-mutant leukaemia. *Nature*. <https://doi.org/10.1038/s41586-023-05812-3>
- Kas, S. M., De Ruiter, J. R., Schipper, K., Annunziato, S., Schut, E., Klarenbeek, S., Drenth, A. P., Van Der Burg, E., Klijn, C., Hoeve, J. J. T., Adams, D. J., Koudijs, M. J., Wesseling, J., Nethe, M., Wessels, L. F. A., & Jonkers, J. (2017). Insertional mutagenesis identifies drivers of a novel oncogenic pathway in invasive lobular breast carcinoma. *Nature Genetics*, 49(8), 1219–1230. <https://doi.org/10.1038/ng.3905>
- Knezevic, K., Bee, T., Wilson, N. K., Janes, M. E., Kinston, S., Polderdijk, S., Kolb-Kokocinski, A., Ottersbach, K., Pencovich, N., Groner, Y., de Bruijn, M., Göttgens, B., & Pimanda, J. E. (2011). A Runx1-Smad6 Rheostat Controls Runx1 Activity during Embryonic Hematopoiesis. *Molecular and Cellular Biology*, 31(14), 2817–2826. <https://doi.org/10.1128/mcb.01305-10>
- Küçük, C., Wang, J., Xiang, Y., & You, H. (2020). Epigenetic aberrations in natural killer/T-cell lymphoma: diagnostic, prognostic and therapeutic implications. In *Therapeutic Advances in Medical Oncology* (Vol. 12). SAGE Publications Inc. <https://doi.org/10.1177/1758835919900856>
- Kwiatkowski, N., Zhang, T., Rahl, P. B., Abraham, B. J., Reddy, J., Ficarro, S. B., Dastur, A., Amzallag, A., Ramaswamy, S., Tesar, B., Jenkins, C. E., Hannett, N. M., McMillin, D., Sanda, T., Sim, T., Kim, N. D., Look, T., Mitsiades, C. S., Weng, A. P., ... Gray, N. S. (2014). Targeting transcription regulation in cancer with a covalent CDK7 inhibitor. *Nature*, 511(7511), 616–620. <https://doi.org/10.1038/nature13393>
- Lambert, S. A., Jolma, A., Campitelli, L. F., Das, P. K., Yin, Y., Albu, M., Chen, X., Taipale, J., Hughes, T. R., & Weirauch, M. T. (2018). The Human Transcription Factors. In *Cell* (Vol. 172, Issue 4, pp. 650–665). Cell Press. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2018.01.029>

- Lee, J. E., & Kim, M. Y. (2022). Cancer epigenetics: Past, present and future. In *Seminars in Cancer Biology* (Vol. 83, pp. 4–14). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/j.semcancer.2021.03.025>
- Leon, J., Cortiguera, M. G., Batlle-López, A., Albajar, M., & Delgado, M. D. (2015). MYC as therapeutic target in leukemia and lymphoma. *Blood and Lymphatic Cancer: Targets and Therapy*, 75. <https://doi.org/10.2147/blctt.s60495>
- Levine, A. J. (2019). Targeting Therapies for the p53 Protein in Cancer Treatments. *The Annual Review of Cancer Biology Is Online At*, 3, 21–34. <https://doi.org/10.1146/annurev-cancerbio>
- Li, Q., Lai, Q., He, C., Zhang, H., Pan, X., Li, H., Yan, Q., Fang, Y., Liu, S., & Li, A. (2021). RUNX1 regulates the proliferation and chemoresistance of colorectal cancer through the Hedgehog signaling pathway. *Journal of Cancer*, 12(21), 6363–6371. <https://doi.org/10.7150/jca.51338>
- Li, Y., Azmi, A. S., & Mohammad, R. M. (2022). Deregulated transcription factors and poor clinical outcomes in cancer patients. In *Seminars in Cancer Biology*. Academic Press. <https://doi.org/10.1016/j.semcancer.2022.08.001>
- Lin, T. C. (2022). RUNX1 and cancer. In *Biochimica et Biophysica Acta - Reviews on Cancer* (Vol. 1877, Issue 3). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.bbcan.2022.188715>
- Liu, Y., Li, Q., Alikarami, F., Barrett, D. R., Mahdavi, L., Li, H., Tang, S., Khan, T. A., Michino, M., Hill, C., Song, L., Yang, L., Li, Y., Pokharel, S. P., Stamford, A. W., Liverton, N., Renzetti, L. M., Taylor, S., Watt, G. F., ... Wan, L. (2022). Small-Molecule Inhibition of the Acyl-Lysine Reader ENL as a Strategy against Acute Myeloid Leukemia. *Cancer Discovery*, 12(11), 2684–2709. <https://doi.org/10.1158/2159-8290.CD-21-1307>
- Lourenco, C., Resetca, D., Redel, C., Lin, P., MacDonald, A. S., Ciaccio, R., Kenney, T. M. G., Wei, Y., Andrews, D. W., Sunnerhagen, M., Arrowsmith, C. H., Raught, B., & Penn, L. Z. (2021). MYC protein interactors in gene transcription and cancer. In *Nature Reviews Cancer* (Vol. 21, Issue 9, pp. 579–591). Nature Research. <https://doi.org/10.1038/s41568-021-00367-9>
- Madden, S. K., de Araujo, A. D., Gerhardt, M., Fairlie, D. P., & Mason, J. M. (2021). Taking the Myc out of cancer: toward therapeutic strategies to directly inhibit c-Myc. In *Molecular Cancer* (Vol. 20, Issue 1). BioMed Central Ltd. <https://doi.org/10.1186/s12943-020-01291-6>
- Mohammad, H. P., Smitheman, K. N., Kamat, C. D., Soong, D., Federowicz, K. E., VanAller, G. S., Schneck, J. L., Carson, J. D., Liu, Y., Buttice, M., Bonnette, W. G., Gorman, S. A., Degenhardt, Y., Bai, Y., McCabe, M. T., Pappalardi, M. B., Kasperek, J., Tian, X., McNulty, K. C., ... Kruger, R. G. (2015). A DNA Hypomethylation Signature Predicts Antitumor Activity of LSD1 Inhibitors in SCLC. *Cancer Cell*, 28(1), 57–69. <https://doi.org/10.1016/j.ccell.2015.06.002>

- Morita, K., Suzuki, K., Maeda, S., Matsuo, A., Mitsuda, Y., Tokushige, C., Kashiwazaki, G., Taniguchi, J., Maeda, R., Noura, M., Hirata, M., Kataoka, T., Yano, A., Yamada, Y., Kiyose, H., Tokumasu, M., Matsuo, H., Tanaka, S., Okuno, Y., ... Kamikubo, Y. (2017). Genetic regulation of the RUNX transcription factor family has antitumor effects. *Journal of Clinical Investigation*, 127(7), 2815–2828. <https://doi.org/10.1172/JCI91788>
- Palermo, C.M., Bennett, C.A., Winters, A.C., & Hemenway, C.S. (2008). The AF4-mimetic peptide, PFWT, induces necrotic cell death in MV4-11 leukemia cells. *Leukemia research*, 32 4, 633-42. <https://doi.org/10.1016/j.leukres.2007.08.002>
- Pereira, B., Chin, S. F., Rueda, O. M., Vollan, H. K. M., Provenzano, E., Bardwell, H. A., Pugh, M., Jones, L., Russell, R., Sammut, S. J., Tsui, D. W. Y., Liu, B., Dawson, S. J., Abraham, J., Northen, H., Peden, J. F., Mukherjee, A., Turashvili, G., Green, A. R., ... Caldas, C. (2016). The somatic mutation profiles of 2,433 breast cancers refines their genomic and transcriptomic landscapes. *Nature Communications*, 7. <https://doi.org/10.1038/ncomms11479>
- Pulikkan, J. A., Hegde, M., Belaghzal, H., Illendula, A., Yu, J., Ahmed, H., O'Hagen, K., Ou, J., Müller-Tidow, C., Wolfe, S. A., Zhu, J., Dekker, J., Bushweller, J. H., & Castilla, L. H. (2017). CBF β -SMMHC Inhibition Disrupts Enhancer Chromatin Dynamics and Represses MYC Transcriptional Program in Inv(16) Leukemia. *Blood*, 130(Suppl_1), 784–784. https://doi.org/10.1182/blood.v130.suppl_1.784.784
- Raj, U., Kumar, H., Gupta, S., & Varadwaj, P. K. (2015). Novel DOT1L receptornatural inhibitors involved in mixed lineage leukemia: A virtual screening, molecular docking and dynamics simulation study. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 16(9), 3817–3825. <https://doi.org/10.7314/APJCP.2015.16.9.3817>
- Rao, R. C., & Dou, Y. (2015). Hijacked in cancer: The KMT2 (MLL) family of methyltransferases. In *Nature Reviews Cancer* (Vol. 15, Issue 6, pp. 334–346). Nature Publishing Group. <https://doi.org/10.1038/nrc3929>
- Segert, J. A., Gisselbrecht, S. S., & Bulyk, M. L. (2021). Transcriptional Silencers: Driving Gene Expression with the Brakes On. In *Trends in Genetics* (Vol. 37, Issue 6, pp. 514–527). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.tig.2021.02.002>
- Shan, W., Yuan, J., Hu, Z., Jiang, J., Wang, Y., Loo, N., Fan, L., Tang, Z., Zhang, T., Xu, M., Pan, Y., Lu, J., Long, M., Tanyi, J. L., Montone, K. T., Fan, Y., Hu, X., Zhang, Y., & Zhang, L. (2020). Systematic Characterization of Recurrent Genomic Alterations in Cyclin-Dependent Kinases Reveals Potential Therapeutic Strategies for Cancer Treatment. *Cell Reports*, 32(2). <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2020.107884>
- Shi, A., Murai, M. J., He, S., Lund, G., Hartley, T., Purohit, T., Reddy, G., Chruszcz, M., Grembecka, J., & Cierpicki, T. (2012). Structural insights into inhibition of the bivalent menin-MLL interaction by small molecules in leukemia. *Blood*, 120(23), 4461–4469. <https://doi.org/10.1182/blood-2012-05-429274>

- Shorstova, T., Foulkes, W. D., & Witcher, M. (2021). Achieving clinical success with BET inhibitors as anti-cancer agents. In *British Journal of Cancer* (Vol. 124, Issue 9, pp. 1478–1490). Springer Nature. <https://doi.org/10.1038/s41416-021-01321-0>
- Sobhani, N., D'angelo, A., Wang, X., Young, K. H., Generali, D., & Li, Y. (2020). Mutant p53 as an antigen in cancer immunotherapy. In *International Journal of Molecular Sciences* (Vol. 21, Issue 11, pp. 1–21). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/ijms21114087>
- Sood, R., Kamikubo, Y., & Liu, P. (2017). Role of RUNX1 in hematological malignancies. In *Blood* (Vol. 129, Issue 15, pp. 2070–2082). American Society of Hematology. <https://doi.org/10.1182/blood-2016-10-687830>
- Soucek, L., Helmer-Citterich, M., Sacco, A., Jucker, R., Cesareni, G., & Nasi, S. (1998). *Design and properties of a Myc derivative that efficiently homodimerizes*. <http://www.stockton-press.co.uk/onc>
- Srinivasan, R. S., Nesbit, J. B., Marrero, L., Erfurth, F., LaRussa, V. F., & Hemenway, C. S. (2004). The synthetic peptide PFWT disrupts AF4-AF9 protein complexes and induces apoptosis in t(4;11) leukemia cells. *Leukemia*, 18(8), 1364–1372. <https://doi.org/10.1038/sj.leu.2403415>
- Steinhilber, D., & Marschalek, R. (2018). How to effectively treat acute leukemia patients bearing MLL-rearrangements ? In *Biochemical Pharmacology* (Vol. 147, pp. 183–190). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2017.09.007>
- Sun, Z., Zhang, Z., Wang, Q. Q., & Liu, J. L. (2022). Combined Inactivation of CTPS1 and ATR Is Synthetically Lethal to MYC-Overexpressing Cancer Cells. *Cancer Research*, 82(6), 1013–1024. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-21-1707>
- Tang, M., O'Grady, S., Crown, J., & Duffy, M. J. (2022). MYC as a therapeutic target for the treatment of triple-negative breast cancer: preclinical investigations with the novel MYC inhibitor, MYCi975. *Breast Cancer Research and Treatment*, 195(2), 105–115. <https://doi.org/10.1007/s10549-022-06673-6>
- Tsai, C. T., & So, C. W. (2017). Epigenetic therapies by targeting aberrant histone methylome in AML: molecular mechanisms, current preclinical and clinical development. *Oncogene*, 36(13), 1753–1759. <https://doi.org/10.1038/onc.2016.315>
- Vervoort, S. J., Devlin, J. R., Kwiatkowski, N., Teng, M., Gray, N. S., & Johnstone, R. W. (2022a). Targeting transcription cycles in cancer. In *Nature Reviews Cancer* (Vol. 22, Issue 1, pp. 5–24). Nature Research. <https://doi.org/10.1038/s41568-021-00411-8>
- Vervoort, S. J., Devlin, J. R., Kwiatkowski, N., Teng, M., Gray, N. S., & Johnstone, R. W. (2022b). Targeting transcription cycles in cancer. In *Nature Reviews Cancer* (Vol. 22, Issue 1, pp. 5–24). Nature Research. <https://doi.org/10.1038/s41568-021-00411-8>

- Weisberg, E., Chowdhury, B., Meng, C., Case, A. E., Ni, W., Garg, S., Sattler, M., Azab, A. K., Sun, J., Muz, B., Sanchez, D., Toure, A., Stone, R. M., Galinsky, I., Winer, E., Gleim, S., Gkountela, S., Kedves, A., Harrington, E., ... Griffin, J. D. (2022). BRD9 degraders as chemosensitizers in acute leukemia and multiple myeloma. *Blood Cancer Journal*, 12(7). <https://doi.org/10.1038/s41408-022-00704-7>
- Wolf, E., & Eilers, M. (2020). Targeting MYC Proteins for Tumor Therapy. *Annu. Rev. Cancer Biol*, 4, 61–75. <https://doi.org/10.1146/annurev-cancerbio-030518>
- Yokoyama, A., & Cleary, M. L. (2008). Menin Critically Links MLL Proteins with LEDGF on Cancer-Associated Target Genes. *Cancer Cell*, 14(1), 36–46. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2008.05.003>
- Zelent, A., Greaves, M., & Enver, T. (2004). Role of the TEL-AML1 fusion gene in the molecular pathogenesis of childhood acute lymphoblastic leukaemia. In *Oncogene* (Vol. 23, Issue 24, pp. 4275–4283). <https://doi.org/10.1038/sj.onc.1207672>
- Zhao, S., Allis, C. D., & Wang, G. G. (2021). The language of chromatin modification in human cancers. In *Nature Reviews Cancer* (Vol. 21, Issue 7, pp. 413–430). Nature Research. <https://doi.org/10.1038/s41568-021-00357-x>
- Zhou, N., Gutierrez-Uzquiza, A., Zheng, X. Y., Chang, R., Vogl, D. T., Garfall, A. L., Bernabei, L., Saraf, A., Florens, L., Washburn, M. P., Illendula, A., Bushweller, J. H., & Busino, L. (2019). RUNX proteins desensitize multiple myeloma to lenalidomide via protecting IKZFs from degradation. *Leukemia*, 33(8), 2006–2021. <https://doi.org/10.1038/s41375-019-0403-2>
- Zuber, J., Shi, J., Wang, E., Rappaport, A. R., Herrmann, H., Sison, E. A., Magoon, D., Qi, J., Blatt, K., Wunderlich, M., Taylor, M. J., Johns, C., Chicas, A., Mulloy, J. C., Kogan, S. C., Brown, P., Valent, P., Bradner, J. E., Lowe, S. W., & Vakoc, C. R. (2011). RNAi screen identifies Brd4 as a therapeutic target in acute myeloid leukaemia. *Nature*, 478(7370), 524–528. <https://doi.org/10.1038/nature10334>