



UNIVERSIDADE DA CORUÑA

Facultade de Ciencias

Grao en Bioloxía

Memoria do Traballo de Fin de Grao

HMGB1 y NOP53, su papel en el cáncer y en terapias antitumorales, terapia de marcaje.

HMGB1 e NOP53, o seu papel no cancro e en terapias antitumorais, terapia de marcaxe.

HMGB1 and NOP53, their role in cancer and antitumor therapies, targeted therapy.

Jacobo Boga Barbeito

Curso: 2019 - 2020.

Convocatoria: Septiembre

Director Académico: Mónica Lamas Maceiras

Codirector: Aida Inés Barreiro Alonso

ABREVIATURAS

ACS: *American Cancer Society.*

ADN: *Ácido desoxirribonucleico.*

ADNr: *Ácido desoxirribonucleico ribosómico.*

ADP: *Adenosín difosfato.*

AIM: *Arch-Interacting Motif.*

Akt: *Serine/threonine protein kinase.*

ARN: *Ácido ribonucleico.*

ARNm: *Ácido ribonucleico mensajero.*

ARNr: *Ácido ribonucleico ribosómico.*

Asp: *Ácido aspártico.*

ATP: *Adenosín trifosfato.*

Bak: *BCL2-antagonist/killer.*

Bax: *BCL2-associated X protein.*

Bcl-2: *B-cell leukemia/lymphoma 2.*

Beclin1: *Coiled-coil Moesin-like BCL2-interacting Protein.*

Cbf5p: *Centromere-binding factor 5.*

Cys: *Cisteína.*

DAMP: *Damage-Associated Molecular Pattern.*

FNMTc: *Nonsyndromic Familial Non-Medullary Thyroid Cancer.*

GLTSCR2: *Glioma Tumor-Suppressor Candidate Region Gene 2.*

Glu: *Ácido glutámico.*

HMG: *High Mobility Group.*

HMGB: *High Mobility Group Box.*

KOW: *Kyrpides, Ouzounis and Woese.*

MAPK: *Mitogen-Activated Protein Kinase.*

Mtr4: *mRNA transport regulator-4.*

NCI: *National Cancer Institute.*

NER: *Nucleotide Excision Repair.*

NF-Kb: *Nuclear Factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells.*

NLS: *Nuclear Localization Signal.*

NM: *Nuclear Matrix.*

NMP: *Nuclear Matrix Proteins.*

Nop2p: *NOP2 nucleolar protein.*

NOP53: *NOP53 ribosome biogenesis factor.*

PDK: *Phosphoinositide-Dependent Kinase.*

PI3K: *Fosfatidilinositol-3-quinasa.*

PIK3CA: *Fosfatidilinositol-4,5-bifosfato 3-quinasa subunidad catalítica alfa.*

PIP3: *Fosfatidilinositol-3,4, 5-trifosfato.*

Pol I: *Polymerase I.*

PTEN: *Phosphatase and Tensin Homolog deleted on Chromosome 10.*

RAGE: *Receptor for Advanced Glycation End-Product.*

Rb: *Retinoblastoma protein.*

ROS: *Reactive Oxygen Species.*

SMO4: *Small Organ 4.*

snoARNs: *Small nucleolar ARNs.*

sRAGE: *Soluble Receptor for Advanced Glycation End-Product.*

SWI/SNF: *SWItch/Sucrose Non-Fermentable.*

TLR: *Toll-Like Receptor.*

WHO: *World Health Organization.*

WoS: *Web of Science.*

Y2H: *Yeast Two Hybrid.*

Z-ADN: *Ácido desoxirribonucleico zigzag.*

ÍNDICE

RESUMEN/ RESUMO/ ABSTRACT

1. INTRODUCCIÓN	1
1.1 El cáncer	1
1.2 Proteínas nucleares en terapia de marcaje.....	3
1.3 Nucléolo, ribosomas y cáncer. Relación con la proteína NOP53.....	4
1.4 Nuevas dianas en terapia contra el cáncer. Ruta PI3K/Akt.....	5
2. OBJETIVO	6
3. MATERIAL Y MÉTODOS	6
3.1 Diseño.....	6
3.2 Estrategia de búsqueda	6
3.3 Criterios de inclusión y exclusión	7
3.4 Extracción de datos.....	7
4. RESULTADOS	7
4.1 Proteína HMGB1	7
4.1.1 Características estructurales	7
4.1.2 Principales funciones de HMGB1. Intracelulares y extracelulares.....	9
4.1.3 Relación de HMGB1 con el cáncer. Un papel paradójico	11
4.1.4 HMGB1 como biomarcador del cáncer y diana molecular en terapia de marcaje.....	13
4.2 Proteína NOP53.....	14
4.2.1 Papel en la biogénesis de ribosomas	14
4.2.2 Relación con el cáncer y posible aplicación en terapia de marcaje..	15
5. DISCUSIÓN	16
6. CONCLUSIONES/ CONCLUSIÓNS/ CONCLUSIONS	18
7. BIBLIOGRAFÍA	19

RESUMEN

El cáncer supone, a día de hoy, una de las principales causas de mortalidad y morbilidad en todos los países del mundo, siendo superado exclusivamente por enfermedades de tipo cardiovascular. Esto hace que la búsqueda de nuevos biomarcadores y dianas moleculares capaces de ofrecer un diagnóstico precoz y contener el crecimiento y avance del tumor se haya convertido en un reto de vital importancia.

Las proteínas HMGB1 y NOP53 muestran una actividad biológica dual en el proceso de carcinogénesis, actuando como proteínas anti- y pro-oncogénicas en función del tipo celular, localización, modificaciones postraduccionales y condiciones concretas del microambiente en el que se encuentran. En el núcleo, HMGB1 está asociada a procesos de regulación de la transcripción, estabilidad genómica y reparación del ADN. En el citoplasma, actúa como regulador positivo de la autofagia mientras que en el espacio extracelular es un conocido DAMP implicado en la respuesta inflamatoria e inmune. Respecto a su papel como diana molecular, actualmente ya existen algunos agentes de marcaje de la proteína HMGB1 que han sido empleados en estudios preclínicos como el receptor RAGE soluble, anticuerpos anti-HMGB1 o agentes derivados de platino.

En cuanto a la NOP53, esta participa en la inhibición de la progresión del ciclo celular y crecimiento tumoral, interaccionando con los supresores tumorales p53 y PTEN, y en el mantenimiento de la morfología nuclear y estabilidad cromosómica. Aunque por el momento no se conocen agentes de marcaje para NOP53, su papel en distintos tipos de cáncer la convierte en una candidata ideal tanto para terapias de marcaje como para biomarcador predictivo de prognosis.

PALABRAS CLAVE: Cáncer, biomarcador, terapia de marcaje, supresor tumoral, proteína oncogénica, HMGB1, NOP53.

RESUMO

O cancro supón, a día de hoxe, unha das principais causas de mortalidade e morbilidade en todos os países do mundo, sendo superado exclusivamente por enfermidades de tipo cardiovascular. Isto fai que a procura de novos biomarcadores e dianas moleculares capaces de ofrecer unha diagnose precoz e conter o crecemento e avance do tumor converteuse nun reto de vital importancia.

As proteínas HMGB1 e NOP53 mostran unha actividade biolóxica dual no proceso de carcinoxénese, actuando como proteínas anti- e pro-oncoxénicas en función do tipo celular, localización, modificacións postraduccionais e condicións concretas do microambiente no que se atopan. No núcleo, HMGB1 está asociada a procesos de regulación da transcrición, estabilidade xenómica e reparación do ADN. No citoplasma, actúa como regulador positivo da autofaxia mentres que no espazo extracelular é un coñecido DAMP implicado na resposta inflamatoria e inmune. Respecto a o seu papel como diana molecular, actualmente xa existen algúns axentes de marcaxe da proteína HMGB1 que foron empregados en estudos preclínicos como o receptor RAGE soluble, anticorpos anti-HMGB1 ou axentes derivados de platino.

En canto á NOP53, esta participa na inhibición da progresión do ciclo celular e crecemento tumoral, interaccionando cos supresores tumorais p53 e PTEN, e no mantemento da morfoloxía nuclear e estabilidade cromosómica. Aínda que polo momento non se coñecen axentes de marcaxe para NOP53, o seu papel en distintos tipos de cancro convértea nunha candidata ideal tanto en terapias de marcaxe como biomarcador predictivo de prognose.

PALABRAS CLAVE: Cancro, biomarcador, terapia de marcaxe, supresor tumoral, proteína oncoxénica, HMGB1, NOP53.

ABSTRACT

Today, cancer is one of the main causes of mortality and morbidity in all countries of the world, being surpassed only by cardiovascular diseases. This is why the search for new biomarkers and molecular targets capable of offering early diagnosis and containing the growth and progress of the tumour has become a vitally important challenge.

HMGB1 and NOP53 proteins show a dual biological activity in the carcinogenesis process, acting as anti- and pro-oncogenic proteins depending on the cell type, location, post-translational modifications and specific conditions of the microenvironment in which they are found. In the nucleus, HMGB1 is associated to transcription regulation processes, genomic stability and DNA repair. In the cytoplasm, it acts as a positive regulator of autophagy while in the extracellular milieu it is a well-known DAMP involved in the inflammatory and immune response. Regarding its role as molecular target, there are currently some HMGB1-targeting agents that have been used in preclinical studies as the soluble RAGE receptor, anti-HMGB1 antibodies or platinum-derived agents.

NOP53 participates in the inhibition of cell cycle progression and tumor growth, interacting with p53 and PTEN tumor suppressors, and in the maintenance of nuclear morphology and chromosomal stability. Although at the moment there are no known targeting agents for NOP53, its role in different types of cancer makes it an ideal candidate for both targeted therapies and as a predictive biomarker of prognosis.

KEYWORDS: Cancer, biomarker, targeted therapy, tumor suppressor, oncogenic protein, HMGB1, NOP53.

1. INTRODUCCIÓN.

1.1 El cáncer.

El conjunto de enfermedades que hoy conocemos como cáncer son, en esencia, resultado de la inestabilidad del genoma y la acumulación sucesiva de diversas mutaciones somáticas (Vogelstein & Kinzler, 1993). De acuerdo con la WHO (*World Health Organization*), el cáncer constituye actualmente una de las principales causas de mortalidad y morbilidad en todos los países del mundo con 18.1 millones de nuevos casos y 9.6 millones de muertes en el año 2018 (datos estimados por el estudio GLOBOCAN 2018 de la WHO). Se prevé que el número de casos aumente hasta superar los 20 millones de nuevos casos anuales en 2025 (Zugazagoitia et al., 2016), siendo el cáncer de pulmón el más diagnosticado en ambos sexos (11.6% del total de casos y 18.4% del total de muertes), seguido del cáncer de mama, en mujeres, y de próstata en hombres (Bray et al., 2018).

Los rasgos característicos del cáncer comprenden diferentes capacidades biológicas asociadas con el crecimiento tumoral y la diseminación metastásica entre las que se incluye la anormal proliferación celular, un potencial de replicación ilimitado, inducción de angiogénesis, evasión de los supresores tumorales, resistencia a los mecanismos de muerte celular programada e invasión de los tejidos y órganos adyacentes permitiendo el desarrollo de nuevos tumores alejados del original (Figura 1). La penetración y tránsito de las células malignas a través de los sistemas linfático y sanguíneo, y su posterior salida hacia el parénquima de nuevos tejidos, da lugar a la formación de pequeños nódulos celulares (micrometástasis) cuyo crecimiento conduce a la aparición de los tumores macroscópicos. Estos tumores no se pueden considerar como simples masas de células cancerígenas, en cambio, exhiben una naturaleza compleja formada por diferentes tipos celulares que interactúan entre sí creando un microambiente propio que contribuye al proceso de tumorigénesis (Hanahan & Weinberg, 2011).

Mientras que los tejidos normales controlan de forma exhaustiva la generación y liberación de señales que promueven la entrada y evolución de las células a través del ciclo de crecimiento, la desregulación de este tipo de señales en células neoplásicas origina su característica proliferación descontrolada. La adquisición de esta habilidad puede deberse a la producción por parte de las células de sus propios factores de crecimiento, desencadenando una estimulación endocrina, o bien a la estimulación de células normales presentes en el estroma tumoral que responden suministrando diferentes factores de crecimiento. Adicionalmente, las células cancerígenas presentan múltiples mecanismos que les permiten superar las dos grandes barreras frente a la proliferación celular (apoptosis y senescencia celular), como son la pérdida de función de supresores tumorales, el incremento en la expresión de señales de supervivencia y de reguladores antiapoptóticos o el mantenimiento de la longitud del ADN telomérico (Hanahan & Weinberg, 2011).

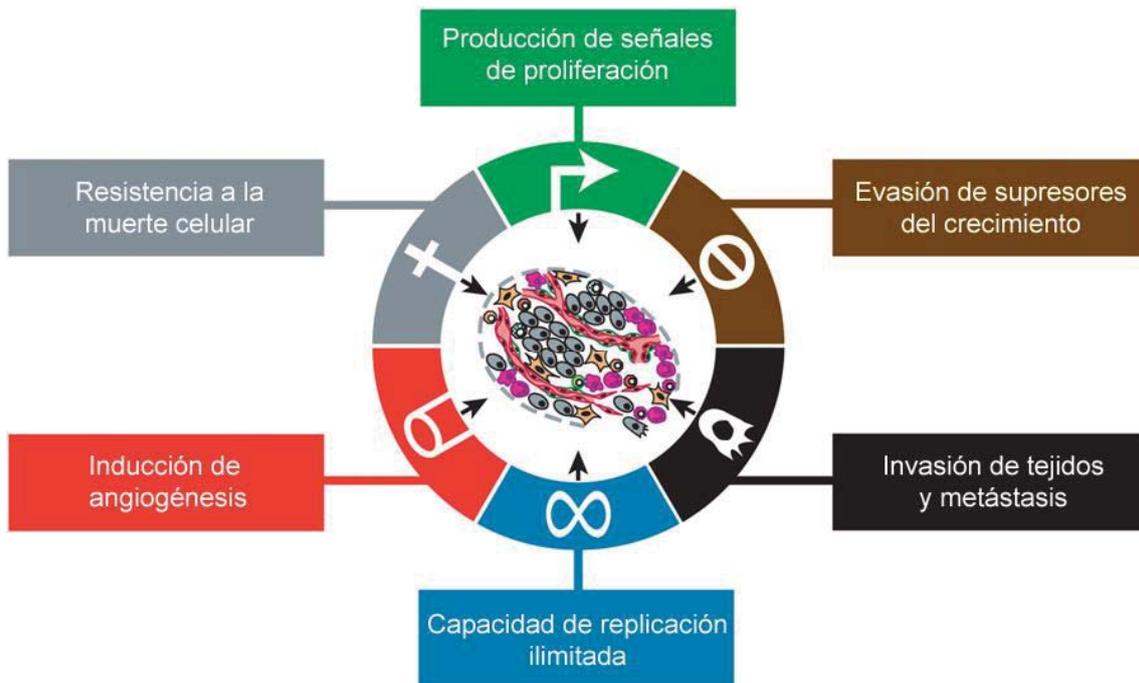


Figura 1. Principales características biológicas del cáncer. En la mitad superior se representan aquellas asociadas con el crecimiento y proliferación celular. En la mitad inferior, las asociadas con la diseminación metastásica e invasión. Adaptado de (Hanahan & Weinberg, 2011).

El estudio de las enfermedades neoplásicas a lo largo de la última década ha permitido descubrir dos nuevos rasgos asociados al cáncer, el reajuste del metabolismo celular y la evasión de la detección y destrucción de las células malignas por el sistema inmune (Pavlova & Thompson, 2016). El metabolismo de células tumorales muestra una habilidad común para conseguir nutrientes en ambientes pobres y utilizarlos con el fin de mantener la viabilidad y permitir el crecimiento de la nueva biomasa tumoral. Estas alteraciones afectan a la forma en que los nutrientes son distribuidos entre las diferentes rutas metabólicas, asignándolos preferentemente a aquellas vías que tienen una mayor contribución a la tumorigénesis, así como a la propia diferenciación de las células malignas y otros componentes implicados en el desarrollo del microambiente tumoral (Figura 2). Una de las modificaciones metabólicas más estudiadas en este tipo de células es el paso de fosforilación oxidativa a glicólisis, caracterizada por la mayor captación de glucosa para la generación de lactato aún en presencia de niveles normales de oxígeno, fenómeno conocido como glicólisis aeróbica o efecto Warburg (Cui et al., 2019).

La heterogeneidad genética y molecular que existe entre los distintos tipos de cáncer y su capacidad para desarrollar mecanismos de resistencia frente a los fármacos constituyen, a día de hoy, los mayores retos para la oncología, centrando las investigaciones actuales en el desarrollo de terapias de marcaje molecular y tratamientos personalizados en función de alteraciones génicas específicas (Zugazagoitia et al., 2016).

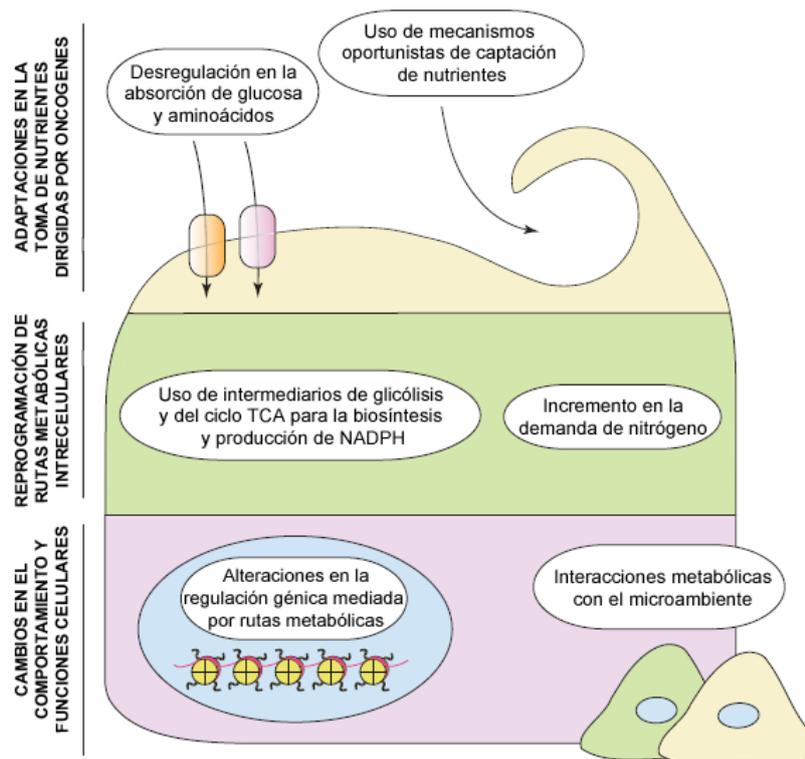


Figura 2. Esquema representando las principales alteraciones metabólicas relacionadas con el cáncer. Adaptado de (Pavlova & Thompson, 2016).

1.2 Proteínas nucleares en terapia de marcaje.

El término “terapia de marcaje” puede definirse como el desarrollo de fármacos anticancerígenos de nueva generación diseñados para interferir específicamente con una diana molecular (típicamente una proteína) cuyo papel resulta crítico en la proliferación y crecimiento de tumores (Sawyers, 2004).

Actualmente, el diagnóstico patológico del cáncer se basa en la observación de ciertas modificaciones estructurales que aparecen de forma exclusiva en las células neoplásicas. Estas alteraciones características incluyen cambios dramáticos en la morfología, tamaño y textura del núcleo, así como en el contenido y distribución del ADN (Leman & Getzenberg, 2008). De este modo, los fundamentos moleculares responsables de estos cambios podrían servir como futuros biomarcadores de la enfermedad.

La matriz nuclear (NM: *Nuclear Matrix*) es el andamiaje proteico no histónico del núcleo. Estudios recientes han confirmado el papel que desempeña esta matriz nuclear en la replicación, organización de ADN, síntesis de ARN y como punto de unión para múltiples receptores esteroideos (Fleming et al., 2002). Algunas de las proteínas nucleares NMP (*Nuclear Matrix Proteins*) están presentes en el núcleo de todos los tipos celulares, mientras que otras son específicas o se expresan de forma diferente en ciertos tejidos, estadios de diferenciación celular o células malignas. Dado el importante papel que desempeña esta matriz en el mantenimiento de la estructura del núcleo, cambios en la composición de sus proteínas NMP pueden dar lugar a características propias de células cancerígenas (Konety & Getzenberg, 1999). Así, cambios considerados sellos de identidad en el desarrollo del cáncer pueden tener su base en modificaciones producidas en la estructura y composición de la matriz nuclear. A lo largo de las

últimas décadas, análisis proteómicos y de expresión génica han demostrado diferencias en la expresión y composición de estas proteínas nucleares en diversos tipos de cáncer, convirtiéndolas en importantes candidatos como marcadores para el diagnóstico y pronóstico de esta enfermedad (Leman & Getzenberg, 2002).

1.3 Nucléolo, ribosomas y cáncer. Relación con la proteína NOP53.

Pese a ser considerado durante largo tiempo un simple orgánulo del núcleo interfásico dedicado a la producción exclusiva de ribosomas, diversos estudios han demostrado el papel crítico que desempeña el nucléolo en una amplia variedad de funciones extra-ribosómicas, incluyendo la capacidad de regular la actividad de importantes supresores tumorales y protooncogenes, lo que hace más evidente su posible contribución a la transformación maligna de las células (Quin et al., 2014). Adicionalmente, las proteínas presentes en el nucléolo están implicadas en procesos de regulación del ciclo celular, reparación y replicación de ADN y señalización de estrés. La proteína de estudio NOP53 no solo participa de forma directa en la tumorigénesis al actuar como supresor tumoral, sino también de forma indirecta al ser una proteína crucial en la biogénesis de ribosomas.

Las anomalías morfológicas y funcionales, extensamente observadas en el nucléolo de células cancerígenas, son consecuencia tanto del incremento en la biogénesis ribosómica como de alteraciones en los mecanismos de regulación de la proliferación celular. Los cambios en la producción y estructura de los ribosomas durante el desarrollo tumorigénico pueden alterar el perfil de ARNm traducidos, incrementando la síntesis de oncoproteínas o disminuyendo la de proteínas supresoras tumorales, y dando lugar a la elevada tasa de crecimiento característica de las células tumorales (Montanaro et al., 2008). Estos hechos sugieren una clara relación entre los cambios cuantitativos y cualitativos en ribosomas y el desarrollo del cáncer, asociando la función nucleolar con la proliferación celular.

Diversos tipos de cáncer humano, entre los que se incluyen cáncer de colon (Alam et al., 2020), cáncer gástrico (Zhou et al., 2015), cáncer de próstata (Arthurs et al., 2017), cáncer de mama (Ebright et al., 2020; Xu et al., 2020) y las principales leucemias (Maggi & Weber, 2005) han mostrado una sobreexpresión de determinadas proteínas ribosomales en comparación con los niveles de tejidos sanos.

Además de la desregulación en la traducción del ARNm, la alteración nucleolar propia del cáncer refleja una hiperactivación de la transcripción del ADNr. Esta hiperactivación de la maquinaria transcripcional Pol I (*Polymerase I*) es resultado de la alteración experimentada por ciertos oncogenes y supresores tumorales en sus actividades normales durante la transformación neoplásica. El incremento en la tasa de transcripción de Pol I está asociado con una mala prognosis en pacientes de cáncer (Quin et al., 2014). Importantes investigaciones han llevado a considerar la posibilidad de que las células cancerígenas pueden depender activamente de una biogénesis ribosómica acelerada, haciéndolas así vulnerables a fármacos capaces de bloquear de forma selectiva la transcripción de ADNr (Hein et al., 2013). De esta forma, el desarrollo y aplicación de biomoléculas inhibitoras de la ARN Polymerasa I puede suponer una nueva

estrategia terapéutica al permitir atacar de forma específica células tumorales sin causar daños en las células sanas.

Actualmente, los estudios de adaptación nucleolar y biogénesis de ribosomas como posibles causas del cáncer constituyen una nueva y prometedora rama de investigación para la comprensión de los mecanismos de transformación maligna y el aprovechamiento de este orgánulo como posible marcador en el tratamiento de enfermedades cancerígenas (Carotenuto et al., 2019; Pang et al., 2020).

1.4 Nuevas dianas en terapia contra el cáncer. Ruta PI3K/Akt.

La fosfatidilinositol-3-quinasa (PI3K) es una quinasa lipídica caracterizada por su capacidad de fosforilar el grupo 3'-OH del anillo inositol presente en inositol-fosfolípidos, catalizando la formación de fosfatidilinositol-3,4, 5-trifosfato (PIP3) en la membrana celular. PIP3 actúa como segundo mensajero contribuyendo en el reclutamiento y translocación de la serina/treonina protein quinasa Akt a la membrana plasmática donde es fosforilada y activada por dos quinatas dependientes de fosfoinosítidos, PDK1 y PDK2. La proteína Akt activada está implicada en la regulación de funciones celulares fundamentales como proliferación y supervivencia celular, crecimiento celular y progresión del ciclo celular (Fresno et al., 2004) (Figura 3).

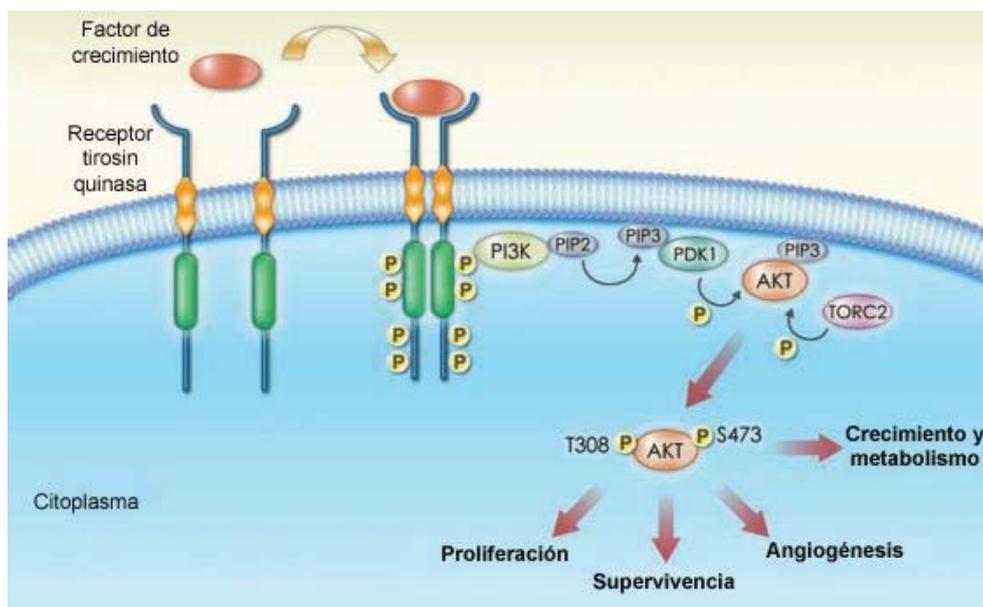


Figura 3. Modelo representando la ruta de señalización PI3K/Akt y los principales componentes que intervienen en ella. Adaptado de (García-Echeverría & Sellers, 2008).

Se ha demostrado que la activación anormal de la ruta de señalización PI3K/Akt es un paso crítico en el desarrollo y progresión de diferentes tumores humanos. Esta alteración de la ruta puede ser debida a fenómenos biológicos como la amplificación de PI3K, sobreexpresión de la quinasa Akt o la presencia de mutaciones de activación e inactivación en los genes PIK3CA y PTEN, que desencadenan procesos de crecimiento, proliferación y supervivencia celular responsables de impulsar la transformación maligna (García-Echeverría & Sellers, 2008).

PTEN (*Phosphatase and Tensin Homolog deleted on Chromosome 10*) es una fosfatasa lipídica que actúa regulando negativamente la proliferación celular por medio de la desfosforilación del sustrato fosfatidilinositol-3,4,5-trifosfato (PIP3),

de modo que alteraciones o pérdidas de su actividad suponen un factor clave en la activación de la ruta PI3K/Akt (Kau et al., 2004). Mutaciones en este gen han sido frecuentemente observadas en pacientes de melanoma, cáncer de tiroides, cáncer de mama, cáncer de colon, glioblastoma multiforme, y cánceres de próstata y útero, entre otros, reforzando así su papel en el proceso de carcinogénesis (Osaki et al., 2004). Algunos supresores tumorales, como la proteína de estudio NOP53, modulan positivamente la estabilidad de PTEN postulándose como antagonistas de la ruta de señalización PI3K/Akt. Contrariamente, la otra proteína abordada en el presente trabajo, HMGB1, contribuye a la ruta PI3K/Akt potenciando la fosforilación de Akt y reduciendo la expresión de p21 y p27 para acelerar la división celular (Zhang et al., 2019).

Estos hechos demuestran la fuerte correlación que existe entre esta ruta de señalización y la proliferación celular, además de otros parámetros clínicos como el grado de invasión, etapa del tumor o el riesgo de metástasis (Fresno et al., 2004). Así, el desarrollo de fármacos destinados a la inhibición específica de componentes implicados en la ruta PI3K/Akt supone un importante enfoque en la lucha contra el cáncer (García-Echeverría & Sellers, 2008).

2. OBJETIVO.

Realizar un estudio bibliográfico centrado en las posibles aplicaciones de la proteína humana, HMGB1, perteneciente al grupo de proteínas de alta movilidad electroforética HMG (*High Mobility Group*) con funciones fundamentalmente oncogénicas, y NOP53, factor de ensamblaje ribosómico y supresor tumoral, en terapia de marcaje contra el cáncer.

3. MATERIAL Y MÉTODOS.

3.1 Diseño.

Para la realización del presente trabajo se ha llevado a cabo una búsqueda bibliográfica a través de diferentes bases de datos científicas y buscadores especializados con el objeto de recopilar y extraer información de múltiples publicaciones, artículos, revistas y páginas web, así como de estudios e informes realizados por organizaciones de renombre en el campo a tratar.

3.2 Estrategia de búsqueda.

En primer lugar, se utilizaron las bases de datos WoS (*Web of Science*), Scopus y MEDLINE para realizar una búsqueda inicial de artículos, publicaciones y documentos científicos relacionados con el tema de estudio. Esta búsqueda se realizó principalmente en inglés, aunque no se descartaron trabajos en otros idiomas como el español. Se utilizaron conceptos clave como “*cancer hallmarks*”, “*cancer statistics*”, “*nuclear proteins*”, “*cancer biomarkers*”, “*target therapy*”, “*ribosomes and cancer*”, “*PI3K/Akt pathway*”, “*HMGB1 protein*” y “*NOP53 protein*” y se seleccionaron aquellas publicaciones con mayor número de citas.

Tras un primer cribado, debido a la abundancia de información encontrada, se llevó a cabo una segunda búsqueda. Esta fue más concreta, centrada en

relacionar cada uno de los conceptos iniciales con el cáncer y limitada principalmente a artículos, tesis e investigaciones publicadas a lo largo de los últimos 15 años.

Por último, se realizó una búsqueda focalizada de manera exclusiva en las proteínas humanas HMGB1 y NOP53. En este caso se centró la búsqueda en aspectos específicos de la estructura, funciones, implicación en el cáncer y posibles aplicaciones en terapia. Los criterios de selección de la información relevante fueron los mismos que en los casos anteriores.

Adicionalmente, se usaron datos extraídos de informes y proyectos como GLOBOCAN de la WHO (*World Health Organization*) o la ACS (*American Cancer Society*).

3.3 Criterios de inclusión y exclusión.

Como criterio de inclusión y exclusión se decidió escoger aquellos artículos con mayor número de citas, publicados en revistas especializadas y que abordasen el tema de estudio desde un enfoque de aplicación terapéutica, descartando las investigaciones más antiguas por ser consideradas desactualizadas.

3.4 Extracción de datos.

El método de selección de los datos se basó en la revisión de los resúmenes, introducciones, resultados, conclusiones y discusiones de los 70 artículos científicos utilizados en la realización del presente trabajo con el objeto de decidir si la información que contenían era adecuada, relevante y estaba suficientemente relacionada con el tema a abordar.

4. RESULTADOS.

4.1 Proteína HMGB1.

4.1.1 Características estructurales.

Las proteínas pertenecientes a la superfamilia *High Mobility Group Box* (HMGB) se pueden clasificar en función del grado de especificidad con el que se unen al ADN y el número de dominios HMG-box que presentan. En el ser humano se han identificado cuatro tipos diferentes de proteínas HMGB (HMGB1-4), siendo las HMGB1 y HMGB2 las más abundantes. Estas proteínas cromosómicas no histonas se caracterizan por presentar dos dominios HMG-box en tándem a través de los cuales se unen con poca o ninguna especificidad de secuencia a formas no canónicas de ADN (monocatenario, torsionado, superenrollado y Z-ADN) (Štros, 2010). Estas proteínas HMGB1 y HMGB2 están altamente conservadas en vertebrados mostrando un grado de homología entre secuencias superior al 80%.

HMGB1 contiene 215 residuos aminoacídicos y está compuesta por tres dominios principales: dos dominios de unión al ADN cargados positivamente, HMG-box A (aminoácidos 1-79) y HMG-box B (aminoácidos 89-163), y un dominio o cola ácida C-terminal cargada negativamente (aminoácidos 186-215) (Figura 4). Los motivos de unión al ADN le confieren la capacidad de

reconocer moléculas de ADN torsionado o bien inducir plegamiento en ADN lineal (Ugrinova & Pasheva, 2017). Estos dominios HMG-box están formados por tres α -hélices plegadas para dar una característica forma de L con un ángulo de $\approx 80^\circ$ entre los dos brazos (Vizoso-Vázquez et al., 2017). El brazo más largo incluye la hebra N-terminal extendida y la tercera α -hélice, dando lugar al ala menor, mientras que la primera y segunda α -hélice forman el brazo corto o ala mayor (Figura 5a). Ambos dominios muestran preferencia por orientar sus superficies de unión al ADN en lados opuestos de la molécula (Uewaki et al., 2013) y toda la estructura se encuentra estabilizada por interacciones hidrofóbicas entre los residuos aminoacídicos (McCauley et al., 2005).

Tres importantes residuos de cisteína (Cys23, Cys45 y Cys106) se encuentran situados en los dominios HMG-box, pudiendo ser modificados por oxidación de sus grupos tiol laterales (-SH) a diferentes estados redox reversibles. La cisteína en posición 106 (Cys106) resulta esencial en la interacción de HMGB1 con el receptor de membrana TLR-4 (*Toll-Like Receptor-4*) para la activación de la producción y liberación de citoquinas y estimulación de la inflamación. La formación de un enlace disulfuro entre Cys23 y Cys45 también es requerido para la actividad inflamatoria de HMGB1. De este modo, las modificaciones redox postraduccionales de HMGB1 tienen un papel crucial en el desarrollo de la actividad y funciones extracelulares características de esta proteína (Yang et al., 2012).

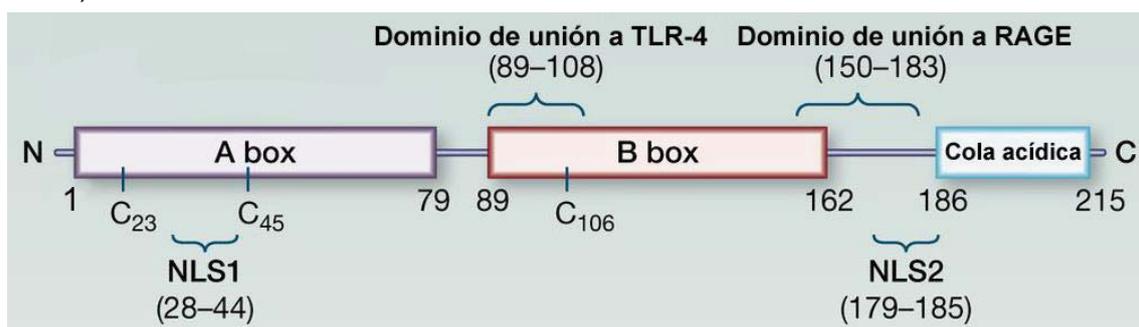


Figura 4. Esquema estructural de HMGB1. Está compuesta por tres dominios diferentes: dos dominios de unión a ADN (A box y B box) y una cola ácida. Los residuos 89-108 y 150-183 son responsables de la interacción con los receptores TLR-4 y RAGE, respectivamente. Presenta dos NLSs (*Nuclear Localization Signals*), NLS1 y NLS2. Adaptado de (Kang et al., 2013).

Paralelamente, la cola ácida C-terminal (aminoácidos 186-215), consistente en una sucesión consecutiva de 30 residuos Glu/Asp, se encarga de mediar interacciones intramoleculares con los dominios HMG-box afectando a su estructura y propiedades de unión al ADN, además de modular interacciones intermoleculares con otras proteínas y participar en la unión directa de HMGB1 con receptores de membrana como RAGE (*Receptor for Advanced Glycation End-Product*) y TLR, principalmente TLR-2, TLR-4 y TLR-9 (Ranzato et al., 2015). La interacción con estos receptores activa la ruta de señalización NF- κ B y estimula la producción de citoquinas y quimioquinas implicadas en la respuesta inmune e inflamación. Varios estudios han señalado la importancia de la cola ácida C-terminal en procesos de translocación núcleo-citoplasma de proteínas HMGB (Štros, 2010).

4.1.2 Principales funciones de HMGB1. Intracelulares y extracelulares.

Las diversas actividades biológicas de HMGB1 están reguladas por su localización (nuclear, citoplasmática o extracelular), el estado redox de sus residuos de cisteína, los diferentes receptores celulares a los que se une y sus modificaciones postraduccionales. Estas modificaciones incluyen acetilación, las formas hiperacetiladas de HMGB1 están asociadas a la secreción por células inmunes mientras que las no-acetiladas corresponden a la liberación pasiva por células necróticas, metilación, fosforilación, oxidación, glicosilación y ADP-ribosilación (Richard et al., 2017).

En el núcleo celular, la principal función de las proteínas con dominios tipo HMG-box es la de unirse al ADN y provocar cambios conformacionales en su estructura (doblar y desenrollar) que facilitan la unión de otras moléculas, principalmente factores de transcripción y cofactores, y/o la aproximación de secuencias reguladoras lejanas al potenciar la flexibilidad del ADN (Figura 5b). La unión se produce por intercalación de residuos aminoacídicos hidrofóbicos de las unidades HMG-box entre pares de bases consecutivos en el surco menor de ADN, provocando así el desenrollamiento de la estructura dúplex, el ensanchamiento del surco menor y una marcada flexión hacia el surco mayor (McCauley et al., 2005; Štros, 2010).

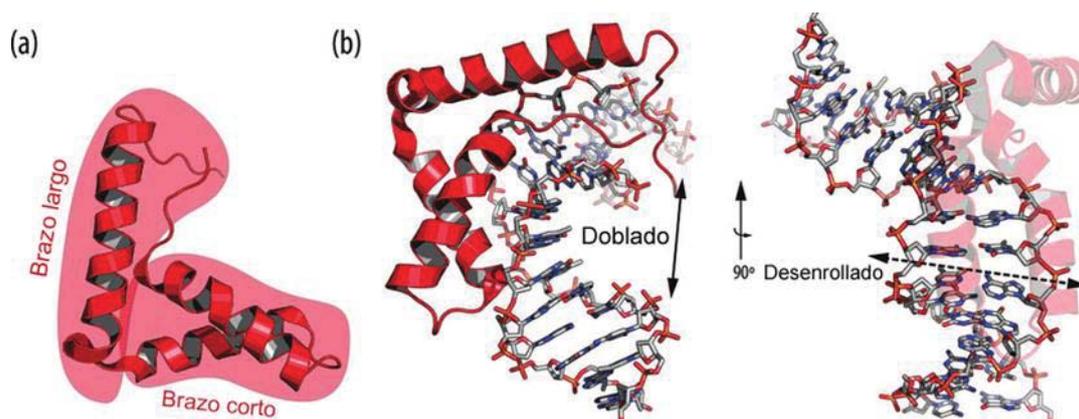


Figura 5. (a) Estructura característica de un dominio HMG-box. (b) Cambios conformacionales producidos en la doble hélice de ADN resultado de la unión con proteínas HMGB (Vizoso-Vázquez et al., 2017).

Por otra parte, el ADN se encuentra compactado formando estructuras complejas, por lo que el acceso mediado por HMGB1 de proteínas implicadas en la regulación de la transcripción, replicación o reparación del ADN requiere procesos de remodelación de la cromatina (Figura 6). Todos estos cambios conformacionales son resultado de la interacción dependiente de ATP con complejos de remodelación como SWI/SNF (Štros, 2010). La regulación de la organización de la cromatina contribuye a la expresión de grupos de genes (regulones) que permiten la adaptación de las células a cambios en el medio ambiente.

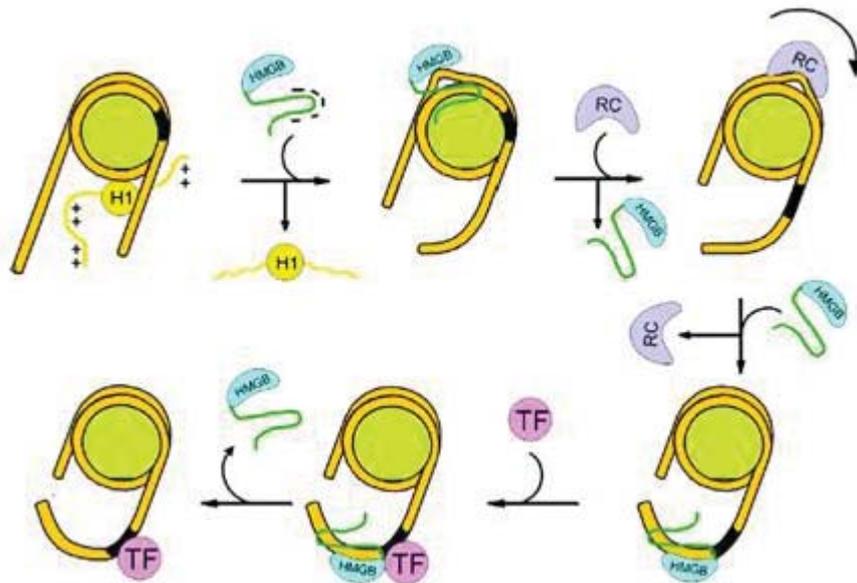


Figura 6. Modelo representando la función de proteínas HMGB en la remodelación de cromatina. Estas promueven el deslizamiento de nucleosomas facilitando el acceso de factores de transcripción (TF) a sitios específicos del ADN (caja negra). La unión de la histona H1 (H1) y HMGB en los puntos de entrada del nucleosoma es excluyente. HMGB puede desplazar a H1 y generar un bucle en el ADN que sirve de anclaje para complejos de remodelación (RC). Adaptado de (Štros, 2010).

Adicionalmente, HMGB1 estimula la unión de p53 a ADN modificado por cisplatino. El supresor tumoral p53 resulta un importante indicador de la sensibilidad celular frente a agentes anticancerígenos y tiene la capacidad de detener el ciclo celular confiriéndoles más tiempo de actuación a los mecanismos de reparación de ADN (Štros et al., 2002).

Además de su importante papel como chaperona de ADN y remodelador de la cromatina, la proteína HMGB1 también desempeña funciones extranucleares, promoviendo la autofagia y limitando la apoptosis (Cámara-Quílez et al., 2019). La generación de ROS (*Reactive Oxygen Species*) producida por estímulos de estrés celular prolongados induce la translocación núcleo-citosol de HMGB1 que depende de la Cys106, permitiendo su unión directa con la proteína autofágica Beclin1 por desplazamiento de Bcl-2.

Por último, en una localización extracelular, HMGB1 actúa como un DAMP (*Damage-Associated Molecular Pattern*) implicado en la señalización de la respuesta inflamatoria e inmune, migración celular, metástasis, diferenciación celular y reparación de tejidos (Tang et al., 2010).

Múltiples estudios han demostrado que la proteína HMGB1 es liberada al medio extracelular por células dañadas o bien en proceso de necrosis, pero no por células apoptóticas. En estas últimas, HMGB1 queda retenida en el interior celular, al encontrarse fuertemente ligada a la cromatina, lo que explica la débil respuesta inflamatoria que estas células inducen en sus tejidos adyacentes (Ranzato et al., 2015). La liberación de HMGB1 se produce por dos mecanismos principales: la liberación pasiva por células dañadas o necróticas y la secreción activa por células inmunes estimuladas (Ugrinova & Pasheva, 2017). En el primer mecanismo, HMGB1 actúa como un marcador reclutado por el sistema inmune innato para detectar el tejido dañado, reconocer el alcance de la lesión e iniciar

las respuestas de reparación tisular y protección frente a posibles infecciones. En el segundo mecanismo, HMGB1 funciona como una citoquina pro-inflamatoria, desencadenando respuestas inflamatorias defensivas e iniciando la regeneración de tejidos (Ulloa & Messmer, 2006). Esta naturaleza de citoquina pro-inflamatoria puede contribuir al desarrollo de afecciones inflamatorias como lupus eritematoso sistémico, artritis reumatoide y sepsis, encontrándose altos niveles de HMGB1 en el serum de pacientes con estas enfermedades. HMGB1 actúa, además, como un conocido mediador tardío de la sepsis (Venereau et al., 2016).

Estudios más recientes han propuesto la contribución de HMGB1 a la patogénesis y fisiopatología de una gran variedad de enfermedades entre las que se incluyen, afecciones inflamatorias no-infecciosas como lesiones de isquemia/reperfusión en hígado, corazón, riñón, cerebro, páncreas e intestino, enfermedades autoinmunes y shock hemorrágico, patologías del sistema nervioso central como la enfermedad de Huntington, Parkinson y Alzheimer, trastornos vasculares, principalmente aterosclerosis, y enfermedades que suponen la muerte celular como diabetes (Ranzato et al., 2015; Ugrinova & Pasheva, 2017). Esta multiplicidad funcional de HMGB1 la convierte en una prometedora diana molecular en terapias contra diversas enfermedades humanas, centrando las investigaciones en el desarrollo de nuevas estrategias que permitan inhibir su secreción (Ulloa & Messmer, 2006).

4.1.3 Relación de HMGB1 con el cáncer. Un papel paradójico.

HMGB1 desempeña un papel dual en el desarrollo del cáncer al promover de forma simultánea tanto la supervivencia como la muerte celular (Kang et al., 2013). En la mayoría de los casos, las funciones pro-oncogénicas están asociadas con las formas extracelulares de HMGB1, las cuales actúan como citoquinas y quimioquinas mediando la comunicación entre los distintos tipos celulares presentes en el microambiente tumoral y favoreciendo el crecimiento, metástasis, movilidad e invasión del tumor. No obstante, esta función pro-oncogénica depende fuertemente del tipo de receptor de membrana y otras proteínas con las que interacciona. Por otra parte, la acción supresora tumoral se atribuye a las formas intracelulares de HMGB1. La pérdida de esta proteína nuclear resulta, debido a su importante actividad como chaperona de ADN, en la inestabilidad genómica y acortamiento telomérico, ambos factores implicados en la promoción de la tumorigénesis. Asimismo, la forma citoplasmática de HMGB1 actúa como regulador positivo de la autofagia vía la proteína Beclin1, siendo la disfunción autofágica otro de los impulsores de tumorigénesis (Figura 7) (Kang et al., 2014; Ugrinova & Pasheva, 2017).

En los últimos años, numerosos estudios han demostrado que la sobreexpresión de HMGB1 está fuertemente asociada con cada uno de los ya comentados rasgos característicos del cáncer. Esto incluye: la evasión de la apoptosis, formas reducidas de HMGB1 han demostrado prevenir la apoptosis de tejidos cancerígenos inhibiendo su inducción vía proteínas proapoptóticas Bax y Bak o radiación ultravioleta; la generación de señales de crecimiento, HMGB1 participa en la activación de rutas de señalización como MAPK o la ruta PIP3/Akt induciendo procesos de crecimiento celular y división en células malignas; la inhibición de la inmunidad antitumoral, HMGB1 es capaz de inducir apoptosis en células presentadoras de antígenos, principalmente células dendríticas, evitando

así una respuesta inmune adaptativa; y la satisfacción de los requerimientos energéticos del cáncer, HMGB1 tiene la habilidad de incrementar la producción mitocondrial de ATP. A mayores, la proteína HMGB1 también participa en la promoción de la angiogénesis por medio de la activación de la ruta NF- κ B, la cual estimula la expresión de factores de crecimiento proangiogénicos que favorecen el crecimiento endotelial, y en la metástasis e invasión tisular, observándose que factores promotores metastásicos como E-selectina aumentan la liberación de HMGB1 (Kang et al., 2013; Pilzweger & Holdenrieder, 2015).

Por el contrario, como ya se ha mencionado anteriormente, esta proteína también exhibe funciones anti-oncogénicas entre las que se incluyen: la estabilidad genómica, HMGB1 contribuye a estabilizar el genoma por medio de mecanismos de reparación de ADN y el mantenimiento y protección de la longitud de los telómeros cromosómicos; la interacción con supresores tumorales, HMGB1 interacciona directamente con el supresor tumoral Rb (*Retinoblastoma protein*) en células de cáncer de mama induciendo el arresto del ciclo celular y la apoptosis; y el incremento de la autofagia, la pérdida de HMGB1 causa una deficiencia autofágica que puede desembocar en inestabilidad genómica, inflamación y finalmente en tumorigénesis (Kang et al., 2013).

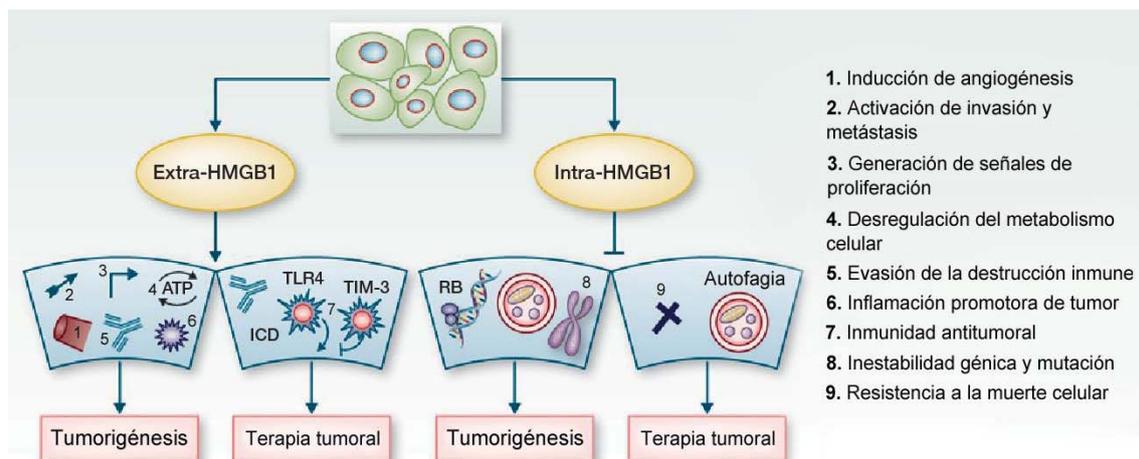


Figura 7. Esquema de los distintos procesos asociados al cáncer en los que está implicada la proteína HMGB1. Adaptado de (Kang et al., 2013).

Los distintos receptores de HMGB1 también presentan múltiples funciones en la regulación tumoral. RAGE promueve la supervivencia celular en cáncer de páncreas y el bloqueo de la unión HMGB1-RAGE ha demostrado ser capaz de suprimir la proliferación tumoral en gliomas y carcinomas cutáneos. Por otra parte, la interacción de HMGB1 con TLR-4 potencia la naturaleza de células dendríticas como presentadoras de antígenos, favoreciendo en este caso la respuesta inmune antitumoral (Yu et al., 2012). Nuevamente, el papel de HMGB1 en el cáncer parece ser dual, dependiendo de la combinación concreta de condiciones y sustancias que se den en el microambiente tumoral.

La sobreexpresión de HMGB1 en tejido tumoral y su alta concentración en serum es una característica común a una gran variedad de cánceres humanos, incluyendo cáncer de pulmón, colorrectal, pancreático, carcinoma hepatocelular, melanoma, cáncer de mama (Sohun & Shen, 2016), cáncer gástrico (Chung et

al., 2009), cáncer de ovario (Paek et al., 2016), próstata (Gnanasekar et al., 2013) y carcinoma de cabeza y cuello (Liu et al., 2010). En la mayoría de los casos, los elevados niveles de expresión de HMGB1 están significativamente relacionados con la invasión, tamaño del tumor, recurrencia, estadificación avanzada, metástasis nodal linfática y una mala prognosis (Liu et al., 2010; Ranzato et al., 2015). La sobreexpresión de HMGB1 también altera la transcripción de ciertos genes cruciales para el desarrollo neoplásico.

Múltiples investigaciones han reportado que el silenciamiento de la proteína HMGB1 reduce la proliferación celular, invasión y migración, interfiere en la actividad telomerasa, promueve la apoptosis y la radiosensibilidad y suprime la reparación de ADN dañado en células de cáncer de mama (Ke et al., 2015; Sohun & Shen, 2016). Adicionalmente, HMGB1 se une de forma estable a aductos de ADN generados por compuestos derivados de platino, principalmente cisplatino, por medio de los cuales estos fármacos interfieren en la replicación y transcripción del ADN en diversos cánceres humanos. La corrección y/o eliminación de estas lesiones compromete la efectividad de la quimioterapia y permite la supervivencia de las células neoplásicas. Así, la unión específica de HMGB1 al ADN dañado bloquea el reconocimiento y reparación de las lesiones por parte de los mecanismos NER (*Nucleotide Excision Repair*), resensibilizando las células a estos fármacos antitumorales y potenciando su efectividad (Shu, 2018; Ugrinova & Pasheva, 2017). Todo ello, convierte a HMGB1 en una importante herramienta en el pronóstico del cáncer y un potencial candidato como diana en terapia de marcaje de diversas enfermedades humanas entre las que se incluyen, trastornos neurodegenerativos, como Alzheimer, Parkinson o la enfermedad de Huntington, patologías vasculares, principalmente vasculitis sistémicas, aterosclerosis, insuficiencia cardíaca y lesiones de isquemia/reperfusión en miocardio, y otras afecciones como artritis reumatoide, lupus eritematoso o diabetes (Dumitriu et al., 2005; Ugrinova & Pasheva, 2017).

4.1.4 HMGB1 como biomarcador del cáncer y diana molecular en terapia de marcaje.

De acuerdo con el NCI (*National Cancer Institute*), un biomarcador molecular pueden definirse como “una molécula biológica que se encuentra en la sangre, en otros fluidos corporales o en los tejidos y que es un signo de un proceso normal o anormal, o de una condición o enfermedad” (Henry & Hayes, 2012), permitiendo así la diferenciación entre pacientes afectados por una enfermedad y personas sanas. Al mismo tiempo, las terapias de marcaje consisten en el diseño y desarrollo de fármacos que interfieren de forma específica con un diana molecular cuya función se cree crucial para el avance y crecimiento del tumor (Sawyers, 2004). Numerosas investigaciones han demostrado que la proteína HMGB1 puede resultar de gran utilidad en ambos papeles.

Como biomarcador del cáncer, HMGB1 permite estimar el riesgo de enfermedad, determinar la prognosis, evaluar la probabilidad de recurrencia y la respuesta a tratamientos, supervisar el progreso de la enfermedad e incluso diferenciar la naturaleza maligna o benigna del tumor. Todo ello facilita un diagnóstico temprano del cáncer y la selección de tratamientos adecuados y personalizados, contribuyendo a identificar la terapia más efectiva para cada paciente individual (Henry & Hayes, 2012). En cuanto a su papel como diana molecular, actualmente ya existen numerosos agentes de marcaje de la proteína HMGB1 que han sido

empleados en estudios preclínicos con el fin de contener la evolución del cáncer. Entre los más destacados se encuentran: receptor RAGE soluble (sRAGE), proteína “A-box”, anticuerpos neutralizadores de HMGB1, agentes derivados de platino y productos de origen natural como quercetina, piruvato de etilo o glicirricina (Kang et al., 2013).

Los anticuerpos neutralizadores de HMGB1 inhiben de forma específica la actividad extracelular de HMGB1 conduciendo a una mejora significativa en cáncer de colon y próstata (Srinivasan et al., 2014). sRAGE actúa a modo de señuelo permitiendo el bloqueo de la ruta de señalización HMGB1-RAGE y como resultado, la disminución del crecimiento y metástasis del tumor. En cuanto al dominio N-terminal “A-box” derivado de HMGB1, este compite directamente con la forma completa de la proteína atenuando su actividad inflamatoria (Srinivasan et al., 2014; Ulloa & Messmer, 2006).

El piruvato de etilo, primer inhibidor de HMGB1 aplicado en modelos animales, inhibe la secreción de HMGB1 por macrófagos estimulados y atenúa la ruta de señalización NF- κ B reduciendo el crecimiento tumoral y la inflamación. Estudios recientes han señalado la capacidad del piruvato de etilo para revertir la progresión de afecciones inflamatorias como la sepsis (Ulloa & Messmer, 2006). A mayores, otros productos naturales como la glicirricina y quercetina contribuyen a reducir la expresión génica de HMGB1 y potenciar la efectividad de agentes anticancerígenos. Finalmente, como ya se ha explicado, los agentes derivados de platino tienen la capacidad de retener a la proteína HMGB1 en el interior del núcleo por medio de la formación de aductos con el ADN a los cuales HMGB1 se une de forma estable (Kang et al., 2013; Ranzato et al., 2015). Así pues, se puede concluir que el marcaje de HMGB1 o de sus distintos receptores supone un importante enfoque en terapia contra el cáncer.

4.2 Proteína NOP53.

4.2.1 Papel en la biogénesis de ribosomas.

NOP53 (GLTSCR2) es una proteína nucleolar, altamente conservada y esencial en la biogénesis de la subunidad ribosomal mayor 60S y la maduración del ARNr 5.8S. La biogénesis de ribosomas en eucariotas es un proceso complejo, dinámico y de gran demanda energética que tiene lugar principalmente en un compartimento especializado del núcleo, el nucléolo, y que supone la actuación conjunta de múltiples proteínas ribosomales, ~200 factores de actuación en trans y más de 66 snoARNs (*small nucleolar ARNs*) para construir precursores de las subunidades ribosomales 40S y 60S que finalmente son exportados al citoplasma para completar su maduración (Sydorsky et al., 2005).

La actuación de NOP53 como factor de ensamblaje depende de su interacción con múltiples proteínas implicadas en la biogénesis de ribosomas, como Cbf5p o Nop2p, y con partículas precursoras de la subunidad 60S (Sydorsky et al., 2005). La secuencia motivo AIM (*Arch-Interacting Motif*) situada en el dominio N-terminal de NOP53 se acopla de forma específica con el dominio KOW de la ARN helicasa Mtr4 asociada al exosoma (Figura 8). Esta interacción NOP53-Mtr4 actúa como puente físico entre el exosoma nuclear y las partículas pre-60S permitiendo el procesamiento del precursor de ARNr 7S para obtener el ARNr

maduro 5.8S (Cepeda et al., 2019). De esta forma, NOP53 es considerado un adaptador encargado de reclutar al exosoma nuclear para el procesamiento de pre-60S (Thoms et al., 2015). Además del reclutamiento, NOP53 está involucrado en funciones de posicionamiento y liberación del exosoma y su silenciamiento conlleva defectos celulares como la deficiencia de subunidades 60S, abundancia de ribosomas 80S o acumulación de pre-ARNr 35S y 27S indicativo de una incorrecta maduración del ARNr 25S (Sydorsky et al., 2005).

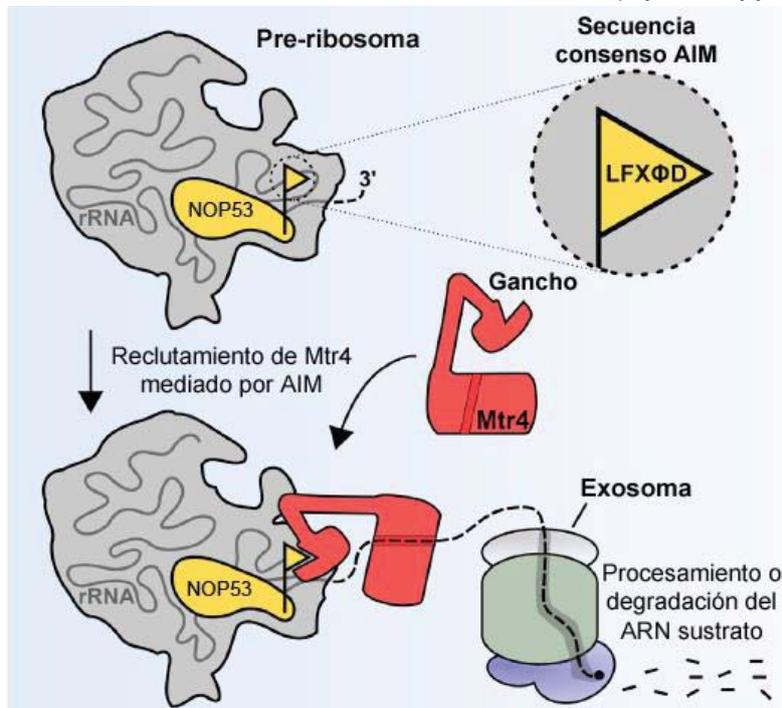


Figura 8. Modelo representando NOP53 como adaptador encargado de reclutar al exosoma nuclear para el procesamiento de partículas pre-ribosomales. Adaptado de (Thoms et al., 2015).

4.2.2 Relación con el cáncer y posible aplicación en terapia de marcaje.

La proteína NOP53 está involucrada, además de en la comentada biogénesis ribosomal, en procesos de regulación del crecimiento y progresión del ciclo celular, muerte celular y oncogénesis y supresión tumoral de diferentes tipos de cáncer. Asimismo, múltiples estudios han demostrado su participación en el mantenimiento de la morfología nuclear, la estabilidad cromosómica y la integridad del núcleo durante la mitosis (Orois et al., 2019).

Investigaciones recientes centradas en la localización de NOP53 durante el proceso de mitosis han confirmado que esta proteína se mueve de forma coordinada con los cromosomas, concentrándose mayoritariamente en la periferia de los mismos y reforzando las suposiciones de un importante papel de NOP53 en la estabilidad cromosomal durante la división celular. Por otra parte, células en las que se ha llevado a cabo un proceso de *knockdown* de NOP53 han mostrado un incorrecto alineamiento de los cromosomas durante la metafase, activación del punto de control de la mitosis y el subsiguiente retraso de la mitosis celular como consecuencia de un aumento en el tiempo entre la prometafase y la anafase (Lee et al., 2020). Estos hechos confirman que una expresión irregular de NOP53 está fuertemente asociada con diversas

patologías humanas como el cáncer, observándose una rápida proliferación celular en caso de sobreexpresión de esta proteína nucleolar (Lee et al., 2012).

Paradójicamente, aunque muestra una función de supresor tumoral en carcinomas renales y ciertos cánceres como el cerebral o el de mama, los niveles de expresión de NOP53 son superiores en cáncer de esófago, colón y tiroides que en células de tejidos sanos, asociándose en muchas ocasiones a una mala prognosis, lo que sugiere que esta proteína también puede ejercer un papel pro-oncogénico. Este comportamiento está corroborado por diversos estudios en los que el *knockdown* de NOP53 en tejidos de FNMTTC (*Nonsyndromic Familial Non-Medullary Thyroid Cancer*) ha resultado en una reducción de la proliferación celular (Orois et al., 2019). Todo ello sugiere que esta proteína podría servir como biomarcador predictivo de prognosis y posible diana molecular en terapias de marcaje contra el cáncer.

En cuanto a su actividad como supresor tumoral, NOP53 se transloca al nucleoplasma bajo condiciones de estrés ribosomal, hipoxia o daño del ADN, dónde interacciona directamente y estabiliza el supresor tumoral p53 inhibiendo la progresión del ciclo celular y suprimiendo el crecimiento del tumor. Adicionalmente, NOP53 también participa en múltiples rutas de señalización implicadas en la iniciación y desarrollo del cáncer, destacando entre ellas la ruta PI3K/Akt, en la que ejerce como antagonista al modular positivamente la estabilidad de la proteína PTEN (Yoshimoto et al., 2018). Actualmente se teoriza que esta función dual de NOP53 en la carcinogénesis puede ser dependiente del tipo celular.

El descubrimiento y estudio de nuevos genes responsables de codificar homólogos de la proteína nucleolar NOP53, como el gen SMO4 (*Small Organ 4*) de *Arabidopsis*, ha demostrado que todos ellos comparten la capacidad de intervenir en la proliferación y progresión celular (Zhang et al., 2015).

5. DISCUSIÓN.

Pese a ser uno de los principales métodos de tratamiento contra el cáncer, los problemas asociados a la quimioterapia convencional, como son el desarrollo de resistencia tumoral a ciertos fármacos anticancerígenos, la citotoxicidad mostrada por los mismos o la destrucción de células sanas, hacen que sean necesarias nuevas formas de terapia más selectivas. Actualmente, esta mayor selectividad y reducción de los efectos secundarios puede conseguirse por medio de terapias moleculares de marcaje (Pérez-Herrero & Fernández-Medarde, 2015). Este tipo de terapias actúan bloqueando de forma específica procesos fisiológicos, rutas de señalización celular y proteínas implicadas en el progreso y diferenciación tumoral, ejerciendo un efecto anti-cancerígeno por medio de mecanismos de inhibición de la proliferación, supresión de metástasis, estimulación del sistema inmune o reversión de la resistencia a agentes quimioterapéuticos (Ke & Shen, 2017).

Las proteínas abordadas en el presente trabajo, HMGB1 y NOP53, desempeñan una actividad biológica dual en el proceso de tumorigénesis, pudiendo actuar como supresores tumorales o proteínas oncogénicas en función de su

localización celular, modificaciones postraduccionales y condiciones concretas del microambiente en el que se encuentran.

En el núcleo, HMGB1 ejerce como chaperona de ADN y remodelador de cromatina, interviniendo en procesos de regulación de la transcripción, reparación del ADN y estabilidad genómica. En el citoplasma, su función principal es la de promover la autofagia, mientras que en el medio extracelular actúa como un DAMP, desencadenando la respuesta inmune e inflamatoria al tiempo que participa en procesos de migración celular, diferenciación, invasión y reparación de tejidos (Pellegrini et al., 2019). Esta pleiotropía hace que durante la aplicación de tratamientos de radioterapia, quimioterapia o inmunoterapia, la liberación de HMGB1 pueda tanto promover como reducir el desarrollo del cáncer (Guo et al., 2013).

En el caso de NOP53, su función como supresor tumoral está respaldada por la participación de esta proteína nucleolar en procesos de inhibición de la progresión del ciclo celular, contención del desarrollo tumoral y estimulación de la apoptosis. Asimismo, la regulación negativa de su expresión conduce a la proliferación celular en diversos tipos de cáncer como glioblastoma, cáncer de piel o cáncer de mama y causa una anormal morfología del núcleo, inestabilidad cromosomal y retraso de la mitosis celular (Moon et al., 2013).

No obstante, a lo largo de los últimos años numerosos estudios han confirmado una fuerte correlación entre los elevados niveles de expresión de estas dos proteínas y una gran variedad de cánceres, incluyendo cáncer de pulmón, pancreático, melanoma, carcinoma hepatocelular, cáncer de mama y de ovario, cáncer de próstata o cáncer gástrico, en el caso de HMGB1, y cáncer de colón, esófago y tiroides, en el caso de NOP53. Esta sobreexpresión suele estar asociada, además, con la capacidad invasiva, tamaño del tumor, recurrencia y mala prognosis. Todo ello constituye un claro indicativo del papel pro-oncogénico que pueden llevar a cabo las proteínas HMGB1 y NOP53 y de su potencial como dianas moleculares en terapia de marcaje para la prevención y reversión del cáncer.

Adicionalmente, estudios del interactoma de proteínas con dominios HMG-box por medio de la técnica de doble híbrido (Y2H: *Yeast Two Hybrid*) han reportado que la proteína NOP53 puede interactuar físicamente con miembros de esta familia, principalmente con HMGB2 (Barreiro-Alonso et al., 2019).

En los últimos años se han desarrollado gran variedad de agentes de marcaje, sin embargo, los nuevos fármacos y estrategias destinados a actuar sobre una única diana molecular todavía presentan grandes limitaciones. Así, individuos con una misma patología pueden responder de forma diferente al mismo tratamiento y/o adquirir resistencia tras la aplicación del mismo. Actualmente, las terapias combinadas contra el cáncer, conjugado tratamientos convencionales con terapias de marcaje molecular, han demostrado una mayor efectividad que los tratamientos individuales, aumentando la supervivencia del paciente y reduciendo los síntomas de la enfermedad (Bashraheel et al., 2020). Mirando hacia el futuro, la mayor comprensión de los mecanismos celulares que subyacen al cáncer permitirá el desarrollo de una medicina de precisión destinada a seleccionar tratamientos específicos basados en las alteraciones genéticas observadas en los tumores de cada paciente individual.

6. CONCLUSIONES.

El conjunto de enfermedades que conocemos como cáncer constituyen, a día de hoy, una de las principales causas de mortalidad y morbilidad a nivel global. Por ello, la identificación de biomarcadores capaces de determinar la prognosis, predecir la respuesta a tratamientos y supervisar el progreso de la enfermedad, así como de nuevas dianas con utilidad clínica en terapia de marcaje se ha convertido en un reto de gran urgencia.

Las proteínas HMGB1 y NOP53 desempeñan un papel dual en el desarrollo del cáncer, exhibiendo funciones pro- o anti-oncogénicas dependiendo del tipo y localización celular y de las condiciones concretas del ambiente tumoral. Como proteína oncogénica, HMGB1 actúa favoreciendo el crecimiento, metástasis, movilidad e invasión del tumor, estado su sobreexpresión fuertemente asociada con los rasgos característicos del cáncer. Por su parte, el *knockdown* de NOP53 resulta en la reducción de la proliferación celular, incorrecto alineamiento cromosómico y retraso de la mitosis celular. En lo referente a la actividad supresora tumoral, HMGB1 contribuye a la estabilidad genómica y protección telomérica, incrementa la autofagia y bloquea la reparación del ADN dañado por compuestos antitumorales de platino, mientras que NOP53 interacciona y estabiliza supresores tumorales como p53 y PTEN inhibiendo la progresión del ciclo celular y conteniendo el desarrollo del cáncer.

Todo ello convierte a HMGB1 y NOP53 en futuras dianas moleculares en terapia de marcaje antitumoral, existiendo actualmente agentes de marcaje de HMGB1 empleados en estudios preclínicos, y potenciales biomarcadores para el diagnóstico temprano del cáncer, contribuyendo así a la selección de las terapias más efectivas para cada paciente y a desarrollar una medicina más específica, personalizada y menos tóxica.

6. CONCLUSIÓNS.

O conxunto de enfermidades que coñecemos como cancro constitúen, a día de hoxe, unha das principais causas de mortalidade e morbilidade a nivel global. Por iso, a identificación de biomarcadores capaces de determinar a prognose, predicir a resposta a tratamentos e supervisar o progreso da enfermidade, así como de novas dianas con utilidade clínica en terapia de marcaxe converteuse nun reto de gran urxencia.

As proteínas HMGB1 e NOP53 desempeñan un papel dual no desenvolvemento do cancro, exhibindo funcións pro- ou anti-oncoxénicas dependendo do tipo e localización celular e das condicións concretas do ambiente tumoral. Como proteína oncoxénica, HMGB1 actúa favorecendo o crecemento, metástase, mobilidade e invasión do tumor, estado a súa sobreexpresión fortemente asociada cos trazos característicos do cancro. Pola súa banda, o *knockdown* de NOP53 resulta na redución da proliferación celular, incorrecto aliñamento cromosómico e atraso da mitosis celular. No referente á actividade supresora tumoral, HMGB1 contribúe á estabilidade xenómica e protección telomérica, incrementa a autofaxia e bloquea a reparación do ADN danado por compostos antitumorais de platino, mentres que NOP53 interacciona e estabiliza

supresores tumorais como p53 e PTEN inhibindo a progresión do ciclo celular e contendo o desenvolvemento do cancro.

Todo iso converte a HMGB1 e NOP53 en futuras dianas moleculares en terapia de marcaxe antitumoral, existindo actualmente axentes de marcaxe de HMGB1 empregados en estudos preclínicos, e potenciais biomarcadores para a diagnose precoz do cancro, contribuíndo así á selección das terapias máis efectivas para cada paciente e a desenvolver unha medicina máis específica, personalizada e menos tóxica.

6. CONCLUSIONS.

The group of diseases that we know as cancer constitute, nowadays, one of the main causes of mortality and morbidity at a global level. Therefore, the identification of biomarkers capable of determining prognosis, predicting response to treatment and monitoring the progress of the disease, as well as new targets with clinical uses in targeted therapy has become an urgent challenge.

HMGB1 and NOP53 proteins play a dual role in the development of cancer, exhibiting either pro- or anti-oncogenic functions depending on the type and location of the cell and the specific conditions of the tumor environment. As an oncogenic protein, HMGB1 acts promoting growth, metastasis, mobility and invasion of the tumor, being its overexpression strongly associated with the characteristic features of cancer. The knockdown of NOP53 results in the reduction of cell proliferation, incorrect chromosomal alignment and delay of cell mitosis. In terms of tumor suppressor activity, HMGB1 contributes to genomic stability and telomeric protection, increases autophagy and blocks the repair of DNA damaged by antitumor platinum compounds, while NOP53 interacts and stabilizes tumor suppressors such as p53 and PTEN inhibiting cell cycle progression and containing cancer development.

All of this makes HMGB1 and NOP53 future molecular targets in antitumor targeted therapy, with HMGB1-targeting agents currently being used in preclinical studies, and potential biomarkers for early cancer diagnosis, thus contributing to the selection of the most effective therapies for each patient and to the development of a more specific, personalized and less toxic medicine.

7. BIBLIOGRAFÍA.

Alam, E., Maaliki, L., & Nasr, Z. (2020). Ribosomal protein S3 selectively affects colon cancer growth by modulating the levels of p53 and lactate dehydrogenase. *Molecular Biology Reports*, 47, 6083–6090. <https://doi.org/10.1007/s11033-020-05683-1>

Arthurs, C., Murtaza, B. N., Thomson, C., Dickens, K., Henrique, R., Patel, H. R. H., Beltran, M., Millar, M., Thrasivoulou, C., & Ahmed, A. (2017). Expression of ribosomal proteins in normal and cancerous human prostate tissue. *PLoS ONE*, 12(10), 1–14, Artículo e0186047. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0186047>

Barreiro-Alonso, A., Cámara-Quílez, M., Salamini-Montemurri, M., Lamas-

- Maceiras, M., Vizoso-Vázquez, Á., Rodríguez-Belmonte, E., Quindós-Varela, M., Martínez-Iglesias, O., & Cerdán, M. E. (2019). Characterization of HMGB1/2 Interactome in Prostate Cancer by Yeast Two Hybrid Approach: Potential Pathobiological Implications. *Cancers*, *11*, 1–21.
- Bashraheel, S. S., Domling, A., & Goda, S. K. (2020). Update on targeted cancer therapies, single or in combination, and their fine tuning for precision medicine. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, *125*(September 2019). <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2020.110009>
- Bray, F., Ferlay, J., Soerjomataram, I., Siegel, R. L., Torre, L. A., & Jemal, A. (2018). Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, *68*(6), 394–424. <https://doi.org/10.3322/caac.21492>
- Cámara-Quílez, M., Barreiro-Alonso, A., Rodríguez-Bemonte, E., Quindós-Varela, M., Cerdán, E., & Lamas-Maceiras, M. (2019). Differential characteristics of HMGB2 versus HMGB1 and their perspectives in ovary and prostate cancer. *Current Medicinal Chemistry*, *26*, 1–17. <https://doi.org/10.2174/0929867326666190123120338>
- Carotenuto, P., Pecoraro, A., Palma, G., Russo, G., & Russo, A. (2019). Therapeutic Approaches Targeting Nucleolus in Cancer. *Cells*, *8*(9), 1–20. <https://doi.org/10.3390/cells8091090>
- Cepeda, L. P. P., Bagatelli, F. F. M., Santos, R. M., Santos, M. D. M., Nogueira, F. C. S., & Oliveira, C. C. (2019). The ribosome assembly factor Nop53 controls association of the RNA exosome with pre-60S particles in yeast. *Journal of Biological Chemistry*, *294*(50), 19365–19380. <https://doi.org/10.1074/jbc.RA119.010193>
- Chung, H., Lee, S. G., Kim, H., Hong, D., Chung, J., Stroncek, D., & Lim, J. B. (2009). Serum high mobility group box-1 (HMGB1) is closely associated with the clinical and pathologic features of gastric cancer. *Journal of Translational Medicine*, *7*, 1–11. <https://doi.org/10.1186/1479-5876-7-38>
- Cui, G., Cai, F., Ding, Z., & Gao, L. (2019). HMGB2 promotes the malignancy of human gastric cancer and indicates poor survival outcome. *Human Pathology*, *84*, 133–141. <https://doi.org/10.1016/j.humpath.2018.09.017>
- Dumitriu, I. E., Baruah, P., Manfredi, A. A., Bianchi, M. E., & Rovere-Querini, P. (2005). HMGB1: Guiding immunity from within. *Trends in Immunology*, *26*(7), 381–387. <https://doi.org/10.1016/j.it.2005.04.009>
- Ebright, R. Y., Lee, S., Wittner, B. S., Niederhoffer, K. L., Nicholson, B. T., Bardia, A., Truesdell, S., Wiley, D. F., Wesley, B., Li, S., Mai, A., Aceto, N., Vincent-Jordan, N., Szabolcs, A., Chirn, B., Kreuzer, J., Comaills, V., Kalinich, M., Haas, W., ... Micalizzi, D. S. (2020). Deregulation of ribosomal protein expression and translation promotes breast cancer metastasis. *Science*, *367*(6485), 1468–1473. <https://doi.org/10.1126/science.aay0939>
- Fleming, F., Hill, A., McDermott, E., O'Higgins, N., & Young, L. (2002). Nuclear regulatory proteins may modify endocrine therapy in breast cancer. *Irish Journal of Medical Science*, *171*(4), 201–253.

<https://doi.org/10.1007/s11845-019-02073-w>

- Fresno, J. Á., Casado, E., de Castro, J., Cejas, P., Belda-Iniesta, C., & González-Barón, M. (2004). P13K/Akt signalling pathway and cancer. *Cancer Treatment Reviews*, 30(2), 193–204. <https://doi.org/10.1016/j.ctrv.2003.07.007>
- Garcia-Echeverria, C., & Sellers, W. R. (2008). Drug discovery approaches targeting the PI3K/Akt pathway in cancer. *Oncogene*, 27(41), 5511–5526. <https://doi.org/10.1038/onc.2008.246>
- Global Cancer Observatory (2019). *World: Source: Globocan 2018* [Fact sheet] World Health Organization, International Agency for Research on Cancer. <https://gco.iarc.fr/today/data/factsheets/populations/900-world-factsheets.pdf>
- Gnanasekar, M., Kalyanasundaram, R., Zheng, G., Chen, A., Bosland, M. C., & Kajdacsy-Balla, A. (2013). HMGB1: A Promising Therapeutic Target for Prostate Cancer. *Prostate Cancer*, 2013, 1–8. <https://doi.org/10.1155/2013/157103>
- Guo, Z. S., Liu, Z., Bartlett, D. L., Tang, D., & Lotze, M. T. (2013). Life after death: targeting high mobility group box 1 in emergent cancer therapies. *American Journal of Cancer Research*, 3(1), 1–20. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23359863> <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=PMC3555201>
- Hanahan, D., & Weinberg, R. A. (2011). Hallmarks of cancer: The next generation. *Cell*, 144(5), 646–674. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2011.02.013>
- Hein, N., Hannan, K. M., George, A. J., Sanij, E., & Hannan, R. D. (2013). The nucleolus: An emerging target for cancer therapy. *Trends in Molecular Medicine*, 19(11), 643–654. <https://doi.org/10.1016/j.molmed.2013.07.005>
- Henry, N. L., & Hayes, D. F. (2012). Cancer biomarkers. *Molecular Oncology*, 6(2), 140–146. <https://doi.org/10.1016/j.molonc.2012.01.010>
- Kang, R., Chen, R., Zhang, Q., Hou, W., Wu, S., Cao, L., Huang, J., Yu, Y., Fan, X. G., Yan, Z., Sun, X., Wang, H., Wang, Q., Tsung, A., Billiar, T. R., Zeh, H. J., Lotze, M. T., & Tang, D. (2014). HMGB1 in health and disease. *Molecular Aspects of Medicine*, 40, 1–116. <https://doi.org/10.1016/j.mam.2014.05.001>
- Kang, R., Zhang, Q., Zeh, H. J., Lotze, M. T., & Tang, D. (2013). HMGB1 in cancer: Good, bad, or both? *Clinical Cancer Research*, 19(15), 4046–4057. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-13-0495>
- Kau, T. R., Way, J. C., & Silver, P. A. (2004). Nuclear transport and cancer: From mechanism to intervention. *Nature Reviews Cancer*, 4(2), 106–117. <https://doi.org/10.1038/nrc1274>
- Ke, S., Zhou, F., Yang, H., Wei, Y., Gong, J., Mei, Z., Wu, L., Yu, H., & Zhou, Y. (2015). Downregulation of high mobility group box 1 modulates telomere homeostasis and increases the radiosensitivity of human breast cancer cells. *International Journal of Oncology*, 46(3), 1051–1058. <https://doi.org/10.3892/ijo.2014.2793>

- Ke, X., & Shen, L. (2017). Molecular targeted therapy of cancer: The progress and future prospect. *Frontiers in Laboratory Medicine*, 1(2), 69–75. <https://doi.org/10.1016/j.flm.2017.06.001>
- Konety, B. R., & Getzenberg, R. H. (1999). Nuclear structural proteins as biomarkers of cancer. *Journal of Cellular Biochemistry*, 75(S32), 183–191. [https://doi.org/10.1002/\(sici\)1097-4644\(1999\)75:32+<183::aid-jcb22>3.3.co;2-1](https://doi.org/10.1002/(sici)1097-4644(1999)75:32+<183::aid-jcb22>3.3.co;2-1)
- Lee, S., Kim, J. Y., Kim, Y. J., Seok, K. O., Kim, J. H., Chang, Y. J., Kang, H. Y., & Park, J. H. (2012). Nucleolar protein GLTSCR2 stabilizes p53 in response to ribosomal stresses. *Cell Death and Differentiation*, 19(10), 1613–1622. <https://doi.org/10.1038/cdd.2012.40>
- Lee, Sun, Ahn, Y. M., Kim, J. Y., Cho, Y. E., & Park, J. H. (2020). Downregulation of NOP53 Ribosome Biogenesis Factor Leads to Abnormal Nuclear Division and Chromosomal Instability in Human Cervical Cancer Cells. *Pathology and Oncology Research*, 26(1), 453–459. <https://doi.org/10.1007/s12253-018-0531-4>
- Leman, E. S., & Getzenberg, R. H. (2002). Nuclear matrix proteins as biomarkers in prostate cancer. *Journal of Cellular Biochemistry*, 86(2), 213–223. <https://doi.org/10.1002/jcb.10218>
- Leman, E. S., & Getzenberg, R. H. (2008). Nuclear structure as a source of cancer specific biomarkers. *Journal of Cellular Biochemistry*, 104(6), 1988–1993. <https://doi.org/10.1002/jcb.21363>
- Liu, Y., Xie, C., Zhang, X., Huang, D., Zhou, X., Tan, P., Qi, L., Hu, G., Tian, Y., & Qiu, Y. (2010). Elevated expression of HMGB1 in squamous-cell carcinoma of the head and neck and its clinical significance. *European Journal of Cancer*, 46(16), 3007–3015. <https://doi.org/10.1016/j.ejca.2010.07.016>
- Maggi, L. B., & Weber, J. D. (2005). Nucleolar adaptation in human cancer. *Cancer Investigation*, 23(7), 599–608. <https://doi.org/10.1080/07357900500283085>
- McCauley, M., Hardwidge, P. R., Maher, L. J., & Williams, M. C. (2005). Dual binding modes for an HMG domain from human HMGB2 on DNA. *Biophysical Journal*, 89(1), 353–364. <https://doi.org/10.1529/biophysj.104.052068>
- Montanaro, L., Treré, D., & Derenzini, M. (2008). Nucleolus, ribosomes, and cancer. *American Journal of Pathology*, 173(2), 301–310. <https://doi.org/10.2353/ajpath.2008.070752>
- Moon, A., Lim, S. J., Jo, Y. H., Lee, S., Kim, J. Y., Lee, J., & Park, J. H. (2013). Downregulation of GLTSCR2 expression is correlated with breast cancer progression. *Pathology Research and Practice*, 209(11), 700–704. <https://doi.org/10.1016/j.prp.2013.07.010>
- Orois, A., K. Gara, S., Mora, M., Halperín, I., Martínez, S., Alfayate, R., Kebebew, E., & Oriola, J. (2019). NOP53 as A Candidate Modifier Locus for Familial Non-Medullary Thyroid Cancer. *Genes*, 10(11), e899.

doi:10.3390/genes10110899

- Osaki, M., Oshimura, M., & Ito, H. (2004). PI3K-Akt pathway: Its functions and alterations in human cancer. *Apoptosis*, 9(6), 667–676. <https://doi.org/10.1023/B:APPT.0000045801.15585.dd>
- Paek, J., Lee, M., Nam, E. J., Kim, S. W., & Kim, Y. T. (2016). Clinical impact of high mobility group box 1 protein in epithelial ovarian cancer. *Archives of Gynecology and Obstetrics*, 293(3), 645–650. <https://doi.org/10.1007/s00404-015-3864-1>
- Pang, W., Jiang, P., Ding, S., Bao, Z., Wang, N., Wang, H., Qu, J., Wang, D., Gu, B., & Wei, X. (2020). Nucleolus-Targeted Photodynamic Anticancer Therapy Using Renal-Clearable Carbon Dots. *Advanced Healthcare Materials*, 2000607, 2000607. <https://doi.org/10.1002/adhm.202000607>
- Pavlova, N. N., & Thompson, C. B. (2016). The Emerging Hallmarks of Cancer Metabolism. *Cell Metabolism*, 23(1), 27–47. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2015.12.006>
- Pellegrini, L., Foglio, E., Pontemezzo, E., Germani, A., Russo, M. A., & Limana, F. (2019). HMGB1 and repair: focus on the heart. *Pharmacology and Therapeutics*, 196, 160–182. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2018.12.005>
- Pérez-Herrero, E., Fernández-Medarde, A. (2015). Advanced targeted therapies in cancer: Drug nanocarriers, the future of chemotherapy. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 93, 52–79. <https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2015.03.018>
- Pilzweiger, C., & Holdenrieder, S. (2015). Circulating HMGB1 and RAGE as clinical biomarkers in malignant and autoimmune diseases. *Diagnostics*, 5(2), 219–253. <https://doi.org/10.3390/diagnostics5020219>
- Quin, J. E., Devlin, J. R., Cameron, D., Hannan, K. M., Pearson, R. B., & Hannan, R. D. (2014). Targeting the nucleolus for cancer intervention. *Biochimica et Biophysica Acta - Molecular Basis of Disease*, 1842(6), 802–816. <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2013.12.009>
- Ranzato, E., Martinotti, S., & Patrone, M. (2015). Emerging roles for HMGB1 protein in immunity, inflammation, and cancer. *ImmunoTargets and Therapy*, 4, 101–109. <https://doi.org/10.2147/itt.s58064>
- Richard, S. A., Jiang, Y., Xiang, L. H., Zhou, S., Wang, J., Su, Z., & Xu, H. (2017). Post-translational modifications of high mobility group box 1 and cancer. *American Journal of Translational Research*, 9(12), 5181–5196.
- Sawyers, C. (2004). Targeted cancer therapy. *Nature*, 432(7015), 294–297. <https://doi.org/10.1038/nature03095>
- Shu, W. (2018). Downregulation of high mobility group protein box-1 resensitizes ovarian cancer cells to carboplatin. *Oncology Letters*, 16(4), 4586–4592. <https://doi.org/10.3892/ol.2018.9232>
- Sohun, M., & Shen, H. (2016). The implication and potential applications of high-mobility group box 1 protein in breast cancer. *Annals of Translational*

Medicine, 4(11), 1–13. <https://doi.org/10.21037/atm.2016.05.36>

- Srinivasan, M., Banerjee, S., Palmer, A., Zheng, G., Chen, A., Bosland, M. C., Kajdacsy-Balla, A., Kalyanasundaram, R., & Munirathinam, G. (2014). HMGB1 in Hormone-Related Cancer: A Potential Therapeutic Target. *Hormones and Cancer*, 5(3), 127–139. <https://doi.org/10.1007/s12672-014-0175-0>
- Štros, M. (2010). HMGB proteins: Interactions with DNA and chromatin. *Biochimica et Biophysica Acta - Gene Regulatory Mechanisms*, 1799(1–2), 101–113. <https://doi.org/10.1016/j.bbagr.2009.09.008>
- Štros, M., Ozaki, T., Bačiková, A., Kageyama, H., & Nakagawara, A. (2002). HMGB1 and HMGB2 cell-specifically down-regulate the p53- and p73-dependent sequence-specific transactivation from the human Bax gene promoter. *Journal of Biological Chemistry*, 277(9), 7157–7164. <https://doi.org/10.1074/jbc.M110233200>
- Sydorsky, Y., Dilworth, D. J., Halloran, B., Yi, E. C., Makhnevych, T., Wozniak, R. W., & Aitchison, J. D. (2005). Nop53p is a novel nucleolar 60 S ribosomal subunit biogenesis protein. *Biochemical Journal*, 388(3), 819–826. <https://doi.org/10.1042/BJ20041297>
- Tang, D., Kang, R., Livesey, K. M., Cheh, C. W., Farkas, A., Loughran, P., Hoppe, G., Bianchi, M. E., Tracey, K. J., Zeh, H. J., & Lotze, M. T. (2010). Endogenous HMGB1 regulates autophagy. *Journal of Cell Biology*, 190(5), 881–892. <https://doi.org/10.1083/jcb.200911078>
- Thoms, M., Thomson, E., Baßler, J., Gnädig, M., Griesel, S., & Hurt, E. (2015). The Exosome Is Recruited to RNA Substrates through Specific Adaptor Proteins. *Cell*, 162(5), 1029–1038. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2015.07.060>
- Uewaki, J. I., Kamikubo, H., Kurita, J. I., Hiroguchi, N., Moriuchi, H., Yoshida, M., Kataoka, M., Utsunomiya-Tate, N., & Tate, S. I. (2013). Preferential domain orientation of HMGB2 determined by the weak intramolecular interactions mediated by the interdomain linker. *Chemical Physics*, 419, 212–223. <https://doi.org/10.1016/j.chemphys.2013.02.004>
- Ugrinova, I., & Pasheva, E. (2017). HMGB1 Protein: A Therapeutic Target Inside and Outside the Cell. In *Advances in Protein Chemistry and Structural Biology* (1st ed., Vol. 107). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/bs.apcsb.2016.10.001>
- Ulloa, L., & Messmer, D. (2006). High-mobility group box 1 (HMGB1) protein: Friend and foe. *Cytokine and Growth Factor Reviews*, 17(3), 189–201. <https://doi.org/10.1016/j.cytogfr.2006.01.003>
- Venereau, E., De Leo, F., Mezzapelle, R., Careccia, G., Musco, G., & Bianchi, M. E. (2016). HMGB1 as biomarker and drug target. *Pharmacological Research*, 111, 534–544. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2016.06.031>
- Vizoso-Vázquez, Á., Barreiro-Alonso, A., Rico-Díaz, A., Lamas-Maceiras, M., Rodríguez-Belmonte, E., Becerra, M., González-Siso, M. I., & Cerdán, M. E. (2017). HMGB Proteins from Yeast to Human. Gene Regulation, DNA Repair and Beyond. En Lucas, C, & Pais, C. (Eds.), *Old Yeasts - New Questions* (p.

139-165) InTech . <https://doi.org/10.5772/intechopen.70126>

- Vogelstein, B., & Kinzler, K. W. (1993). The multistep nature of cancer. *Trends in Genetics*, 9(4), 138–141. [https://doi.org/10.1016/0168-9525\(93\)90209-Z](https://doi.org/10.1016/0168-9525(93)90209-Z)
- Xu, L., Wang, L., Jiang, C., Zhu, Q., Chen, R., Wang, J., & Wang, S. (2020). Biological effect of ribosomal protein L32 on human breast cancer cell behavior. *Molecular Medicine Reports*, 22(3), 2478–2486. <https://doi.org/10.3892/mmr.2020.11302>
- Yang, H., Lundbäck, P., Ottosson, L., Erlandsson-Harris, H., Venereau, E., Bianchi, M. E., Al-Abed, Y., Andersson, U., Tracey, K. J., & Antoine, D. J. (2012). Redox modification of cysteine residues regulates the cytokine activity of high mobility group box-1 (HMGB1). *Molecular Medicine*, 18(2), 250–259. <https://doi.org/10.2119/molmed.2011.00389>
- Yoshimoto, M., Tokuda, A., Nishiwaki, K., Sengoku, K., & Yaginuma, Y. (2018). Abnormal expression of PICT-1 and Its Codon 389 polymorphism is a risk factor for human endometrial cancer. *Oncology (Switzerland)*, 95(1), 43–51. <https://doi.org/10.1159/000487189>
- Yu, Y., Xie, M., Kang, R., Livesey, K. M., Cao, L., & Tang, D. (2012). HMGB1 is a therapeutic target for leukemia. *American Journal of Blood Research*, 2(1), 36–43. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22432086> <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=PMC3301433>
- Zhang, P., Lu, Y., & Gao, S. (2019). High-mobility group box 2 promoted proliferation of cervical cancer cells by activating AKT signaling pathway. *Journal of Cellular Biochemistry*, 120(10), 17345–17353. <https://doi.org/10.1002/jcb.28998>
- Zhang, X. R., Qin, Z., Zhang, X., & Hu, Y. (2015). Arabidopsis SMALL ORGAN 4, a homolog of yeast NOP53, regulates cell proliferation rate during organ growth. *Journal of Integrative Plant Biology*, 57(10), 810–818. <https://doi.org/10.1111/jipb.12424>
- Zhou, X., Liao, W. J., Liao, J. M., Liao, P., & Lu, H. (2015). Ribosomal proteins: Functions beyond the ribosome. *Journal of Molecular Cell Biology*, 7(2), 92–104. <https://doi.org/10.1093/jmcb/mjv014>
- Zugazagoitia, J., Guedes, C., Ponce, S., Ferrer, I., Molina-Pinelo, S., & Paz-Ares, L. (2016). Current Challenges in Cancer Treatment. *Clinical Therapeutics*, 38(7), 1551–1566. <https://doi.org/10.1016/j.clinthera.2016.03.026>