

**PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DEL ECUADOR  
FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES  
ESCUELA DE CIENCIAS BIOLÓGICAS**

**Funciones de checkpoint kinase 1 (Chk1) entre el ciclo celular y desarrollo de enfermedades**

**Monografía previa a la obtención del título de Biólogo (o Licenciado en Ciencias Biológicas)**

**GIANLUCA MANNELLA OSEJO**

**Quito, 2025**

Certifico que la Monografía de Biología, del Sr. Gianluca Mannella Osejo ha sido concluida de conformidad con las normas establecidas; por lo tanto, puede ser presentada para la calificación correspondiente.

Firma del tutor de la monografía

Andrés Romero-Carvajal, PhD.

Quito, 8 de abril de 2024

## DEDICATORIA

A Danilo y Jenny por haberme apoyado pese a todas las adversidades que se han presentado en el camino y siempre haber creído en mí, especialmente cuando yo no lo podía hacer.

A Sammanta, por inspirarme a ser una mejor persona todos los días, desde mi lado académico hasta mi lado más personal y humano con un amor fraternal gigante.

A Enzo, María y Fanny, por haber llenado de amor toda mi crianza, llenando de valores que me han construido en la persona que soy.

A Joaquín, por haber sido un amigo leal, con el cual pude contar en todo momento y quien me ha hecho saber que sin importar de dónde me encuentre, siempre voy a tener una mano que me pueda ayudar.

A Andrés, por ser un tutor, docente y sobre todo una persona excepcional, siendo él una de mis mayores inspiraciones para llegar a ser algún día un buen científico.

## TABLA DE CONTENIDOS

<b>1. RESUMEN.....</b>	<b>1</b>
<b>2. ABSTRACT.....</b>	<b>2</b>
<b>3. INTRODUCCIÓN .....</b>	<b>3</b>
<b>4. OBJETIVOS .....</b>	<b>5</b>
<b>4.1 OBJETIVO PRINCIPAL .....</b>	<b>5</b>
<b>4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....</b>	<b>5</b>
<b>5. DESARROLLO TEÓRICO .....</b>	<b>6</b>
<b>5.1 DNA DAMAGE RESPONSE (DDR) Y CHK1 .....</b>	<b>6</b>
<b>5.2 CHK1 Y CÁNCER .....</b>	<b>9</b>
<b>5.3 CHK1 Y OTRAS ENFERMEDADES .....</b>	<b>11</b>
<b>5.4 RELACIÓN CON EL DESARROLLO EMBRIONARIO .....</b>	<b>14</b>
<b>5.5 INTERACCIONES CON EL SISTEMA INMUNE Y HEMATOPOYESIS .....</b>	<b>15</b>
<b>5.6 CHK1 Y REGENERACIÓN DE TEJIDOS .....</b>	<b>17</b>
<b>6. CONCLUSIONES .....</b>	<b>20</b>
<b>7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>22</b>
<b>8. FIGURAS .....</b>	<b>26</b>

## 1. RESUMEN

El ciclo celular es la base de la vida en organismos eucariontes. El simple hecho que una célula pueda dividirse es uno de los factores más importantes al momento de pensar en evolución. Por este sistema tan simple y a la vez tan complicado, una célula madre puede dar lugar a dos células hijas en un proceso controlado por diferentes genes y proteínas. Pero también existen eventos que desencadenan una reacción descontrolada, la cual no para en un par de células hijas, sino que se da de manera desenfrenada y, en organismos más complejos llega a generar lo que conocemos como tumores. Los avances en estudios oncológicos desde el siglo pasado han llevado al descubrimiento de varios mecanismos de regulación celular. Uno de estos mecanismos de regulación es mediado mediante la proteína Chk1. Checkpoint quinasa 1 es una proteína encargada de llevar al arresto celular a las células en determinados puntos de control o checkpoints, para permitir una respuesta al daño del ADN por parte de la propia célula y es vital para el desarrollo embrionario. Si bien este es el rol más conocido de esta proteína, debido a la relevancia de estudios oncológicos se ha desestimado el alcance real de los efectos que puede tener la expresión de esta proteína en otros contextos no relacionados al cáncer. Por lo que en esta monografía se va a explorar cuales son algunas de las funciones que cumple Chk1 dentro y fuera del cáncer.

**Palabras clave:** chk1, ciclo celular, desarrollo, enfermedades, neurodegeneración

## 2. ABSTRACT

The cell cycle is the foundation of life in eukaryotic organisms. The mere fact that a cell can divide is one of the most important factors when considering evolution. Through this simple yet complex system, a mother cell can give rise to two daughter cells in a process controlled by various genes and proteins. However, there are also events that trigger an uncontrolled reaction, which does not stop at just a few daughter cells, but proceeds in an unchecked manner that, in more complex organisms, leads to what we know as tumors. Advances in cancer research over the past century have led to the discovery of several cellular regulation mechanisms. One such regulatory mechanism is mediated by the protein Chk1. Checkpoint kinase 1 is a protein responsible for inducing cell cycle arrest at specific checkpoints to allow the cell to respond to DNA damage. Although this is the best-known role of this protein—largely due to the relevance of oncology studies—the broader effects of its expression in non-cancer-related contexts have been underestimated. Therefore, this monograph explores some of the functions that Chk1 performs both within and beyond the scope of cancer.

**Keywords:** cell cycle, chk1, development, diseases, neurodegeneration

### 3. INTRODUCCIÓN

Los procesos de respuesta al daño del ADN (DDR, por sus siglas en inglés) constituyen vías de señalización celular fundamentales para prevenir o reparar la formación de células cancerígenas. Dentro de este sistema, dos proteínas quinasas clave actúan como "iniciadoras" del DDR: ATM (Ataxia Telangiectasia-mutated) y ATR (ATM-Rad3-related), las cuales desempeñan un papel crucial en la activación de la cascada de reacciones del DDR (Liang et al., 2009). En estudios realizados en los últimos años, se ha identificado que tanto los genes supresores de tumores (TSG) como los oncogenes mantienen una relación dinámica durante la proliferación de células cancerígenas (Zhu et al., 2015). Se ha observado que la evolución de varios TSGs en mamíferos está vinculada a lo que se conoce como la Paradoja de Peto, una correlación entre el tamaño de la especie, su esperanza de vida y la incidencia de células que se vuelven cancerígenas (Caulin & Maley, 2011). Al igual que la relación entre el tamaño y la longevidad en grandes vertebrados, los oncogenes tienden a presentar una mayor divergencia en contraste con los genes supresores de tumores (TSGs), los cuales han sido identificados como más conservados entre distintos grupos (MacDonald et al., 2024). La proteína p53, derivada del gen *TP53*, forma parte de la vía de señalización ATM/ATR y es uno de los TSGs más efectivos en el control de células potencialmente cancerígenas, promoviendo su apoptosis o detención del ciclo celular (cell arrest) (Boutelle & Attardi, 2021). Aunque el proceso exacto aún no se comprende completamente, se sabe que diversas señales de estrés celular influyen en la expresión de p53 (Liang et al., 2009). Por otro lado, Chk1 es una proteína asociada a la vía ATM/ATR que, al ser fosforilada, cumple múltiples funciones. Actúa en varios escenarios, regulando diversas etapas del ciclo celular, incluida la transcripción, la detención o el retraso del ciclo celular, la reparación del ADN y, si el daño es irreparable, la inducción de muerte celular (Y. Chen & Sanchez, 2004; Zhang & Hunter, 2014).

Se ha comprobado que *CHK1* es un gen altamente conservado entre especies y, en organismos como *C. elegans* y *Drosophila*, garantiza que las células no entren en mitosis hasta completar la replicación del ADN. En mamíferos, la eliminación de *CHK1* provoca la muerte temprana de los embriones debido a la división celular descontrolada. Aunque en órganos como el hígado las células pueden sobrevivir sin la expresión de la proteína Chk1, en tejidos en desarrollo, como las glándulas mamarias y el intestino delgado, la falta de esta proteína induce apoptosis (Kalogeropoulos et al., 2004; Kuntz & O'Connell, 2009). En *Xenopus*, por ejemplo, se ha encontrado que Chk1 regula procesos del MBT (Mid-blastula-transition) durante el desarrollo embrionario (Petrus et al., 2004). Mientras que, se ha encontrado que, en embriones de ratón con inactividad de la enzima, existe letalidad embrionaria (J. Smith et al., 2010). La relación entre Chk1 y p53 ha sido ampliamente estudiada, encontrándose una fuerte correlación entre la expresión de ambos genes en la tumorigénesis mamaria. En entornos deficientes de p53, la presencia de Chk1 es crucial. En casos de pérdida heterocigótica de *CHK1*, se ha observado proliferación tumoral debido a fallos en el checkpoint del ciclo celular, lo que permite que las células continúen dividiéndose a pesar del daño genético. Sin embargo, cuando la pérdida de *CHK1* es total, la célula acumula genotoxicidad debido a la falta de mecanismos para evaluar los daños genómicos, lo que lleva a la muerte celular y la inhibición de la progresión tumoral (Fishler et al., 2010). Este trabajo propone una revisión más allá del cáncer para Chk1, entendiendo su funcionamiento, rol en diversas enfermedades, así también como su importancia durante el desarrollo embrionario, la regeneración e interacciones con diferentes sistemas del cuerpo.

## **4. OBJETIVOS**

### **4.1 OBJETIVO PRINCIPAL**

Revisar el conocimiento actual sobre Chk1 en la regulación de procesos celulares, su papel en el desarrollo embrionario y su asociación con enfermedades.

### **4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

**4.2.1** Describir la biología molecular y estructural de Chk1, incluyendo su papel en la reparación del ADN y sus interacciones proteicas.

**4.2.2** Examinar el papel de Chk1 en el cáncer, incluyendo su función en la proliferación, apoptosis y señalización tumoral.

**4.2.3** Explorar la implicación de Chk1 en otras enfermedades, como trastornos del desarrollo, enfermedades inmunológicas y neurodegenerativas.

**4.2.4** Revisar la función de Chk1 durante el desarrollo embrionario, particularmente en los procesos de diferenciación y formación de tejidos.

**4.2.5** Evaluar el rol de Chk1 en el sistema inmune, considerando su participación en la regulación de respuestas inmunológicas.

**4.3.6** Analizar la participación de Chk1 en procesos de regeneración de tejidos y órganos, y su potencial relevancia en medicina regenerativa.

## 5. DESARROLLO TEÓRICO

### 5.1 DNA DAMAGE RESPONSE (DDR) Y CHK1

Si bien el ADN es indispensable para el funcionamiento de los organismos vivos, su integridad se ve constantemente amenazada por factores dañinos tanto internos como externos. Se ha revisado que tanto agentes genotóxicos como el estrés de replicación (RS) promueven la formación de ADN monocatenario (ss-DNA), el cual activa las rutas de respuesta al daño genético (DDR) (Saldivar et al., 2017; H. L. Smith et al., 2020; Smits & Gillespie, 2015). El estrés de replicación es un estado de inestabilidad genómica que surge cuando la maquinaria de replicación del ADN encuentra obstáculos que impiden o retrasan el avance normal de las horquillas de replicación, comprometiendo así la duplicación precisa del genoma (Saxena & Zou, 2022). Este fenómeno puede ser desencadenado por múltiples factores, tanto endógenos como exógenos. Entre las causas principales se incluye la presencia de lesiones en el ADN (como aductos químicos o roturas de cadena sencilla), la formación de estructuras secundarias (como los cuádruplex-G) que bloquean físicamente el replisoma, y los conflictos entre la transcripción y la replicación, particularmente en regiones genómicas altamente transcritas (Saxena & Zou, 2022; H. L. Smith et al., 2020; Smits & Gillespie, 2015). Además, alteraciones en componentes esenciales del replisoma (como mutaciones en ADN polimerasas, helicasas MCM o proteínas de unión a ADN de cadena sencilla como RPA) pueden reducir la eficiencia de la replicación (Saxena & Zou, 2022). Otro factor crítico es el desequilibrio en los niveles de desoxinucleótidos (dNTPs), ya sea por su escasez (inducida, por ejemplo, por hidroxiaurea) o por su exceso, lo que afecta la fidelidad y velocidad de la síntesis de ADN (Saxena & Zou, 2022; H. L. Smith et al., 2020).

La regulación defectuosa del inicio de la replicación, ya sea por activación excesiva o insuficiente de orígenes de replicación, también llega a ser RS, generando zonas sub-replicadas o una sobresaturación de horquillas que agotan factores esenciales. Asimismo, intermediarios de reparación del ADN, como sitios abásicos (AP) o R-Loops (híbridos ADN-

ARN), actúan como barreras para el avance de las horquillas (Saxena & Zou, 2022). Finalmente, brechas ss-DNA no reparadas pueden persistir hasta la mitosis o el siguiente ciclo celular, perpetuando el estrés de replicación en un fenómeno conocido como "estrés trans-ciclo celular" (Saxena & Zou, 2022).

En respuesta a estos daños, las células activan mecanismos de control, como la vía de señalización del checkpoint ATR/Chk1, la remodelación de horquillas estancadas (mediante reversión o reprimado) y vías de tolerancia al daño (como la síntesis translesión o el template switching)(Saldivar et al., 2017; Saxena & Zou, 2022; Smits & Gillespie, 2015). Sin embargo, si el RS no se resuelve adecuadamente, puede conducir a la acumulación de roturas de doble cadena (DSBs), inestabilidad cromosómica y, finalmente promover el crecimiento de tumores (Saxena & Zou, 2022).

La vía de señalización ATR/Chk1 es regulada por la proteína ATR, encargada de fosforilar a la checkpoint quinasa 1, volviéndola en su estado activo, lo que permite que esta sea completamente funcional y a su vez pueda mantener su cascada de reacciones, como así también tener un crosstalking con otros pathways (Saldivar et al., 2017; H. L. Smith et al., 2020; Smits & Gillespie, 2015). Checkpoint Kinase 1 o Chk1 es la proteína codificada del gen *CHK1*, el cual se encuentra ubicado en el cromosoma 11q24.2 que cuenta con 476 aminoácidos y 54 kDa, con un dominio N-terminal altamente conservado, un dominio C-terminal menos conservado y una región flexible entre ambos. En ausencia de daño en el ADN, Chk1 se encuentra en un estado de auto inhibición, donde su dominio C-terminal bloquea la actividad quinasa del dominio N-terminal. La fosforilación por ATR alivia esta inhibición, activando la quinasa. Aunque las fosforilaciones en los residuos Ser-345 y Ser-317 se consideran necesarias para la activación, estudios muestran que no son suficientes por sí solas; se requiere una tercera fosforilación, posiblemente una autofosforilación en Ser-296, para lograr una actividad completa (Capasso et al., 2002; Neizer-Ashun & Bhattacharya, 2020).

Chk1 es una proteína que cumple el papel de punto de control / regulador en el ciclo celular. Para que Chk1 pueda funcionar necesita ser fosforilado por ATR, proceso que está mediado por la proteína Claspin. Al momento de activarse, Chk1 provoca la detención del ciclo celular principalmente al promover la eliminación o inactivación de las fosfatasas Cdc25 (por sus siglas en inglés cell division cycle). Estas enzimas son responsables de eliminar la fosforilación inhibitoria que WEE1 añade a las quinasas dependientes de ciclina (CDKs), lo cual es necesario para que el ciclo celular continúe. En otras palabras, mientras Chk1 se mantenga activo, la célula se mantendrá en arresto celular. Si bien se ha revisado que podría tener algún tipo de inferencia en el checkpoint G1, Chk1 se caracteriza por expresarse durante la fase S y en la transición G2/M. Aun cuando se ha estudiado su rol en la mitosis, todavía no queda muy claro realmente si Chk1 es indispensable para la división celular. Finalmente, para que la célula pueda continuar el ciclo celular, Chk1 se ve desfosforilada a través de la degradación de Claspin por la proteína  $\beta$ -TrCP (Neizer-Ashun & Bhattacharya, 2020; Saldivar et al., 2017, 2018; H. L. Smith et al., 2020; Zhang & Hunter, 2014)

## 5.2 CHK1 Y CÁNCER

Entendiendo la importancia de Chk1 en el ciclo celular, es de esperar que, como todo en la naturaleza, errores puedan ocurrir. Estos errores pueden llegar a ser tan catastróficos que pueden inducir a la oncogénesis. Es por esto por lo que varios estudios oncológicos se centran en comprender cual es la relación entre esta proteína y el cáncer. No solo para entender a fondo de qué manera la mal función de Chk1 puede llevar a la formación de tumores, sino también para poder crear terapias contra esta enfermedad. Para poder entender la visión actual de Chk1, necesitamos regresar en el tiempo.

Entre las décadas de los 80s y 90s, surgen los primeros estudios enfocados en el daño y el ciclo celular, dónde se encuentra en experimentos con cafeína, que este químico incrementaba la letalidad de agentes dañinos para el ADN (mostaza nitrogenada) en células mamíferas, ya que este compuesto es un inhibidor de ATM y de ATR (Lau & Pardee, 1982; Sarkaria et al., 1999). Este trabajo abrió las puertas a que iniciara una ola de experimentación con análogos de la cafeína, siendo uno de estos UCN-01, una estaurosporina, la cual fue identificada directamente como inhibidor de Chk1. UCN-01 posteriormente fue descrito como un anulador de la fase G2 en el ciclo celular en células defectuosas en la proteína p53, asociada comúnmente con la vía ATM/Chk2, la cual se encarga de inducir a la apoptosis y que se ha visto que sus errores en expresión conllevan al cáncer (Q. Wang et al., 1996). El trabajo de Q. Wang et al., 1996 demostró que células tumorales o mutantes de p53 podrían verse selectivamente destruidas inhibiéndolas en la fase G2 junto a radioterapias, lo que disminuiría en gran medida la cantidad de daño que se produce en el paciente al momento de darle radioterapias. Entendiendo que la inhibición de Chk1 junto a radioterapias y quimioterapias en conjunto podría ser un mecanismo más efectivo al momento de tratar con individuos con cáncer, (Graves et al., 2000) finalmente identifican terminalmente a UCN-01 como un inhibidor efectivo de Chk1 para terapias de cáncer, sin embargo, en este estudio se menciona como en ese momento, se conocía muy poco del mecanismo Chk1, únicamente entendiendo su funcionamiento en modelos de levaduras. Cabe en este momento recalcar

que muchas de estas investigaciones fueron financiadas por farmacéuticas y grupos externos a la academia, por lo que más que artículos científicos, son publicidades para sus compuestos científicos. Sin embargo, estos “anuncios” fueron bastante útiles para sentar las bases del estudio de Chk1, puesto que estos financiamientos fueron lo que permitieron que futuros experimentos tuvieran bases en las cuales fundamentarse para seguir entendiendo el rol de Chk1 en el cáncer. Las investigaciones y revisiones de Chk1 lo ponen en una posición controversial, puesto que algunos autores afirman que es un gen supresor de tumores, mientras que otros indican que es la sobreexpresión de Chk1 lo que promueve la formación y desarrollo de tumores.

### 5.3 CHK1 Y OTRAS ENFERMEDADES

A pesar de la importancia de Chk1 al momento del ciclo celular y la tumorigénesis, también se lo puede asociar a otras enfermedades. Como se ha revisado anteriormente en este trabajo, el gen que codifica a Chk1 se encuentra en el cromosoma 11q24.2 (H. L. Smith et al., 2020). También se ha revisado ya que la delección absoluta de Chk1 lleva a la letalidad embrionaria en modelos animales y en humanos (Desmarais et al., 2012; J. Smith et al., 2010). Sin embargo ¿Que pasa en los casos dónde existen cromosomopatías? Por ejemplo, en el caso del síndrome de Jacobsen, donde se presenta una monosomía parcial en el cromosoma 11, el cual pierde su brazo largo y dónde se sitúa el gen *CHK1*. Este es un síndrome extremadamente raro, que cuando se presenta las deleciones no llegan a la región q24.2 del cromosoma y por ende no se está dando una delección de *CHK1* como tal, puesto que lo más común es que el síndrome de Jacobsen se presente en deleciones que llegan hasta q23.3 (Mattina et al., 2009). Sin embargo, se ha registrado casos de deleciones 11q24.2 y sorprendentemente, dentro de los cuadros médicos, en ninguno se ha registrado casos de cáncer o tumorigénesis acelerada, sino más bien errores en el momento del desarrollo craneofacial, sistema sanguíneo, sistema inmune y trastornos psicológicos (J. Wang et al., 2022). Esto deja varias interrogantes que requieren de más estudios, pero se podría decir que es posible la monosomía de *CHK1* sin llegar a ser letal en etapas embrionarias. Cabe añadir que estos estudios se basan en casos de estudio bastante recientes, lo que puede ser un sesgo al momento de escribir esta revisión y que la deficiencia de Chk1 se pueda llegar a expresar con el tiempo de manera negativa en los individuos que la presentan. Se necesita de más investigación. Otra enfermedad relacionada con la quinasa de checkpoint 1 es el síndrome de Werner. El síndrome de Werner (WS) es una enfermedad autosómica recesiva ocasionada por mutaciones en el gen *WRN*, el cuál cumple un rol de mantenimiento de estabilidad genómica, así también como en la reparación de horquillas de replicación detenidas, y se ha encontrado que funciona como un regulador de la vía del ATR-Chk1 (Basile et al., 2014; David et al., 2017; Marabitti et al., 2019). Naturalmente existen sitios más frágiles

al daño (CFS), los cuales suelen ser objetivos de lesiones precancerosas y han sido directamente vinculados a la pérdida en la función de Chk1 (Durkin et al., 2006).

Un punto relevante en este trabajo es revisar todas las funciones que puede cumplir Chk1 dentro de un organismo. Ahora vamos a recapitular un poco lo que se ha revisado hasta ahora. Chk1 es una quinasa fosforilada por la proteína relacionada con ataxia-telangiectasia y Rad3 o ATR por sus siglas en inglés. Esta proteína ha sido tradicionalmente estudiada por su papel en el ciclo celular. Chk1 se expresa en diferentes partes del ciclo celular para asegurar la estabilidad genómica y que no se dé lugar a errores que puedan comprometer a las células hijas. Pero ¿Qué sucede en células terminalmente diferenciadas? Para esta parte de la revisión, nos vamos a enfocar en las neuronas. Estas son células bastante interesantes, puesto que son el ejemplo clásico de células que no hacen mitosis. Aquí es donde entra nuevamente Chk1 y el estudio de Zhang et al., 2006. Lo que hicieron los investigadores fue poner a prueba si la vía de señalización Chk1/Cdc25A interfiere en la muerte neuronal utilizando camptotecina como un inductor de apoptosis en neuronas corticales embrionarias cultivadas. Encontraron que, durante la muerte celular inducida por este químico, se reactivó el ciclo celular por el aumento de la presencia de Cdc25A y la disminución de Chk1. Esto significa que, en neuronas sanas, Chk1 mantiene siempre una expresión alta que regula la expresión de Cdc25A. Los autores mencionaron que podría ser este mismo mecanismo el que permite que las neuronas sean neuronas y no sigan diferenciándose en más células. Estos resultados son muy interesantes, pero nos hacen cuestionar ¿Si la expresión de Chk1 es lo que mantiene en arresto celular a las neuronas, ¿Qué pasa cuando por cualquier motivo esta proteína falla? En este trabajo se señaló que se reanuda el ciclo celular en las neuronas, lo que lleva eventualmente a neurodegeneración y/o apoptosis.

El Alzheimer es justamente un desorden que presenta exactamente esas características. El daño y muerte neuronal son características inherentes del Alzheimer y dentro de la literatura, se ha revisado que Chk1 podría tener un rol dentro de este contexto. Se ha revisado que, dentro de los primeros eventos del Alzheimer, se encuentra la

acumulación de DSBs, eventos de doble ruptura de hélice en el ADN, los cuales son altamente genotóxicos y aumentan en gran cantidad la inestabilidad genómica, por lo cual se ve activado el DDR y las respectivas vías del ATR/ATM (Shanbhag et al., 2019). Bajo este contexto Hu et al., 2022 hipotetizaron que, debido a estos daños, se podría estar expresando también Chk1, ya que adicionalmente al daño celular, Chk1 también se encarga de fosforilar otras proteínas altamente expresados en neuronas de individuos con Alzheimer como CIP2A en el Hipocampo de ratones APP/PS1 y neuronas primarias tratadas con A $\beta$ . Por lo que proponen una vía de señalización Chk1-CIP2A-PP2A que podría estar mediando, en parte, al Alzheimer y proponen utilizar fármacos inhibidores de Chk1 que se utilizan en oncología, para también poder combatir esta enfermedad, puesto que encontraron que inhibiendo Chk1, las células deterioradas tuvieron una recuperación exitosa en sus experimentos.

#### 5.4 RELACIÓN CON EL DESARROLLO EMBRIONARIO

Para esta parte de la revisión se consideró relevante también revisar que relaciones tiene Chk1 al momento del desarrollo embrionario. Siendo estas etapas iniciales de la vida, resulta lógico imaginar que el papel del ciclo celular cumple un rol importante, sin embargo, estos estudios son relativamente recientes. Petrus et al., 2004 sentaron las bases para entender que esta quinasa si tiene una correlación en el desarrollo embrionario de, en el caso de este estudio, *Xenopus laevis*. En este trabajo de investigación se caracterizó a Chk1 como una proteína esencial en el desarrollo temprano de los embriones de *X. laevis*, y se encontró que su actividad es baja hasta la transición mid-blastula (Mid blastula transition en inglés o MBT), dónde se activa para la degradación del Cdc25a materno y también para prevenir la muerte celular, por lo que algunos autores han propuesto que Chk1 es fundamental para la supervivencia embrionaria de todos los vertebrados (Carter & Sible, 2003; Petrus et al., 2004). Esta relación con ciclinas e inhibición de CDKs es importante, debido a que es en sí lo que permite que el embrión ponga en funcionamiento su propia maquinaria celular y también controla la sobreexpresión de ciclina E1 y Cdc25a, que pueden generar estrés replicativo (Brantley & Di Talia, 2021; Kok et al., 2020). Si bien esto es información que puede llegar a ser útil para futuras investigaciones, todavía encuentro yo que existen varios vacíos de conocimiento que deberían ser revisados. Durante la realización de esta revisión, fue inexistente la información acerca de que sucede a nivel embrionario con organismos con deleciones monocromosómicas del gen *Chk1*. Considero que no se puede entender del todo la función real de este gen en el desarrollo de enfermedades como las revisadas anteriormente, sin estudiar las “zonas grises” de la expresión de este gen. Entendiendo bien las limitaciones médicas considero que, bajo modelos animales, también se podrían hacer este tipo de investigaciones, las cuales serían útiles para desarrollar terapias adecuadas para portadores de estos síndromes y enfermedades.

## 5.5 INTERACCIONES CON EL SISTEMA INMUNE Y HEMATOPOYESIS

Evaluar el rol de Chk1 en el sistema inmune es uno de los ejes más difíciles dentro de esta monografía, puesto que ya de por sí el funcionamiento del sistema inmune es bastante complejo. Sin embargo, existe información en la literatura que indica que Chk1 también tiene relación con el sistema inmune. En el estudio de fosfoproteómica de Z. Chen et al., 2020, se encontró que Chk1 podría estar regulando la activación de la respuesta inmune innata mediando la fosforilación de IRF3 en cultivos de HEK293A, y fibroblastos pulmonares de ratón. Los investigadores en su estudio, a través de la inhibición de Chk1 utilizando el químico SCH 900776 e hidroxurea redujeron la fosforilación de IRF3 en los sitios Ser173 y Ser175. Los resultados de este trabajo indican que Chk1 regula negativamente a IRF3, ya que al momento de inhibir a Chk1, aumentó la capacidad transcripcional de IRF3, potenciando la expresión de genes proinflamatorios y antivirales como IFNB1, CXCL10, CXCL1, CXCL2 e ISG56. En condiciones de estrés replicativo o daño al ADN (inducido por hidroxurea), la inhibición de Chk1 potencia la respuesta inmune innata al liberar la represión sobre IRF3. Esto sugiere que Chk1 actúa como un "freno" para evitar una activación excesiva de la respuesta inmune en situaciones de estrés genómico. Por otro lado, tenemos la producción de células sanguíneas. Un proceso bastante interesante al momento de estudiar biología del desarrollo. En el estudio de Zaugg et al. (2007) se experimentó en ratones jóvenes de líneas cruzadas con mutaciones en Chk1 mediante la técnica floxed, lo que significa que el gen está delimitado por secuencias loxP, lo que permite su eliminación específica por la enzima Cre recombinasa, que aquí es dirigida por el promotor Lck (activo en células T). De esta manera pudieron trabajar con organismos con deleciones en Chk1 únicamente en las células T y lo que encontraron fue que Chk1 se expresa a través del desarrollo de células T en la glándula del Timo y que Chk1 es haploinsuficiente para el correcto desarrollo de este tipo de células. Un punto importante que se menciona en este trabajo de investigación es que, al momento de desarrollar terapias para el cáncer, el utilizar inhibidores de Chk1 podría tener efectos negativos en las células no cancerosas, por lo que esta visión no es aceptable para terapias.

Por otro lado Boles et al. (2010) realizaron también un estudio de haploinsuficiencia en base a esta relación de Chk1 con las células T. Hipotetizaron que, si Chk1 cumple un rol al momento del desarrollo de las células T, podría también estar teniendo un efecto en la eritropoyesis y la diferenciación de diferentes células sanguíneas. Para esto se utilizaron líneas transgénicas de ratones y encontraron que la pérdida parcial de la función de Chk1 en ratones conduce a anemia en el 30% de los casos, asociada a alteraciones en la arquitectura del bazo y la médula ósea, así como a un aumento de focos de daño espontáneo en el ADN en los progenitores eritroides. Estos ratones presentaron un desequilibrio en la diferenciación eritroide, con una acumulación anormal de proeritroblastos (etapas I-II) y defectos en la formación del anillo contráctil de actina (CAR), esencial para la enucleación de los eritroblastos maduros. Además, se observó una disminución significativa en la expresión de Chk1 en pacientes con anemia refractaria, lo que sugiere un papel conservado de esta quinasa en la eritropoyesis humana. Los autores proponen que Chk1 regula críticamente la producción de glóbulos rojos no solo a través de su función clásica en el control del ciclo celular y la reparación del ADN, sino también mediante la modulación de la citocinesis durante la enucleación. La acumulación de daño genómico y los fallos en la formación del CAR en los eritroblastos Chk1 - haploinsuficientes explican parcialmente, la anemia observada. Estos hallazgos tienen implicaciones clínicas relevantes, ya que los inhibidores de Chk1, actualmente en ensayos como terapias antitumorales, podrían inducir efectos hematológicos adversos.

## 5.6 CHK1 Y REGENERACIÓN DE TEJIDOS

Entendiendo el ciclo celular como el ciclo de vida de la célula, es interesante pensar en organismos con capacidades regenerativas. Por ejemplo, se conoce que, en anfibios, las neoplasias son una rareza y se ha revisado que una potencial razón es su capacidad de regeneración de tejidos, lo que mantiene siempre un estricto orden celular y alta expresión en las vías de señalización TGF- $\beta$  y p53 (Torres-Dimas et al., 2022). Si tenemos expresión de p53 quiere decir que en algún momento debió verse involucrada la expresión de Chk1. Es un poco intuitivo, si regeneramos células quiere decir que estas se están sometiendo en si a pasar por el ciclo celular y por ende estas deben pasar por los diferentes checkpoints para asegurar estabilidad genómica. Para estudiar cómo Chk1 está relacionado con la regeneración Song et al., 2023 realizaron un experimento con células hepáticas de *Danio rerio*. En este estudio, los autores investigaron los mecanismos moleculares que permiten la supervivencia de hepatocitos regenerados a partir de células epiteliales biliares (BECs) tras una lesión hepática extrema. Utilizando este modelo de regeneración hepática en pez cebra, identificaron una mutación en el gen *nbn*, parte del complejo MRN (Mre11-Rad50-Nbn) que se encuentra asociado con la DDR, y que resultó clave para este proceso (Duursma et al., 2013). Los autores demostraron que la disfunción del complejo MRN, específicamente mediante la mutación en el gen *nbn*, impide la activación de la vía ATR-Chk1, lo que conlleva una acumulación de daño en el ADN, activación de p53 y apoptosis celular. La inhibición farmacológica de Chk1 replicó estos defectos, mientras que la vía ATM-Chk2 permaneció funcional, de manera que se demostró la especificidad del eje ATR-Chk1 en este contexto (Song et al., 2023). Por lo que se concluye que la vía ATR-Chk1 es esencial para mantener la viabilidad de células regeneradas durante procesos de regeneración hepática. Este estudio ayudó a entender que efectivamente el DDR cumple un papel importante en la regeneración de células y tejidos en vertebrados. De igual manera otros autores han estudiado esta relación entre el DDR/ATR-Chk1 y la regeneración de extremidades. Sousounis et al., 2020 parten en su artículo de una primicia que ha sido bastante analizada por colegas y que también se está

realizando en este trabajo de revisión literaria: ¿Cómo regulan los anfibios el estrés genotóxico y la respuesta al daño del ADN (DDR) mientras aseguran la regeneración de tejidos? En este estudio se escogió al ajolote como modelo de estudio, debido a su destacada regeneración en extremidades amputadas. Lo que se encontró fue que en las extremidades que fueron amputadas existió un aumento en la presencia del DDR, por lo que destacaría la presencia de Chk1 en el momento de la regeneración de tejidos. Encontraron también a través de ensayos de inhibición de Chk1 que cuando esta quinasa no se encuentra activa al momento de la regeneración, se reduce el número de células del blastema y aumenta la tasa de muerte celular.

Otros autores han encontrado en estudios con *Drosophila* que el papel de Chk1 también es relevante al momento de la neuro regeneración, sin embargo, no como un agente del DDR, sino más bien como parte de un mecanismo externo al ADN. En el artículo de Li et al., 2021 encontraron que la vía ATR/Chk1 tiene una función de regulación negativa en la regeneración de neuronas. Si bien no se entiende completamente cómo funciona esta vía, se hipotetiza que las interacciones físicas de los axones durante su regeneración (específicamente del cono de crecimiento) interactúan con su ambiente, lo que genera una cascada de reacciones iniciada con los canales Piezo que eventualmente llevan a la fosforilación de ATR, la cual fosforila a Chk1 y esta inactiva a Cdc25, consecuentemente esta no puede activar a Cdk1, por lo que este se mantiene inactivo. Cdk1 es importante debido a que es una proteína encargada de regular otros procesos regenerativos. En el artículo se menciona que esto podría explicar por qué individuos con el síndrome de Seckel, individuos con mutaciones en proteínas del DDR como la ATR, llegan a presentar errores en el desarrollo cerebral, como microcefalia, disfunción en el desarrollo cognitivo (Alderton et al., 2004; Li et al., 2021). Este descubrimiento podría explicar porque los individuos que presentan deleciones del cromosoma 11q24.2 no presentan tumores indiscriminados, pero sí problemas cognitivos y fallas en el desarrollo craneofacial. Li et al., 2021 no logran explicar realmente cuál es el mecanismo molecular por el cual el óxido nítrico activa ATR para

comenzar esta vía de señalización y más aún cuál es, si existe, una relación directa con Chk1, por lo que se requiere de más investigación.

En conclusión, Chk1 cumple un rol que va más allá del que se lo ha dado tradicionalmente. Si bien es una proteína vital para el correcto ciclo celular, se ha encontrado suficiente evidencia para darle más importancia en estudios regenerativos. Algo que se menciona en el artículo de Li et al., 2021 es que si bien, se ha vuelto casi que una “moda” estudiar inhibidores de Chk1 para estudios oncológicos, se podría más bien utilizar estos químicos ya existentes en estudios neurológicos, puesto que al inhibir químicamente a Chk1, Cdk1 se mantendría activo y podría funcionar como regulador positivo de la regeneración en neuronas. Cabe añadir que esto último es netamente especulación, puesto que no existen estudios que puedan respaldar esta hipótesis y adicionalmente a esto, no se conoce bien si la expresión de ATR en las neuronas sea netamente mecánica o exista una intervención del ADN, que de ser el caso abriría la puerta a más preguntas. Lo que si podemos asegurar es que la vía ATR/Chk1 cumple un rol activo en la regeneración de otro tipo de tejidos como se revisó en los artículos de Song et al., 2023 y Sousounis et al., 2020. Nuevamente estos estudios los considero pioneros y todavía hace falta mucho por estudiar con relación a la regeneración celular.

## 6. CONCLUSIONES

En este trabajo monográfico se abordó el rol molecular que cumple Chk1 desde diferentes perspectivas. A manera de introducción se describió el conocimiento más básico que es su rol molecular y estructural, comprendiendo el rol tradicional que se le ha dado por mucho tiempo a esta serina/treonina quinasa, entendiendo que es una proteína bastante compleja, puesto que se encarga de modular y es modulada por varios sistemas diferentes, como se pudo examinar con el papel asociado al cáncer que se le ha dado durante muchas décadas. Se exploró también su rol en diferentes enfermedades, se revisó su función durante el desarrollo embrionario, se logró evaluar el rol que cumple en el sistema inmune y la hematopoyesis y finalmente se revisó su participación en la regeneración de tejidos. Este trabajo de investigación fue concebido con la finalidad de comprender a mayor escala cuales son los roles que cumple Chk1 dentro de todos los eucariontes (Figura 1.) Considerando que es un gen altamente conservado en casi todas las especies debido a su importancia al momento del ciclo celular, resulta bastante desconcertante el hecho de que el enfoque que se le da a este gen sea únicamente oncológico. Pero revisada la historia que tiene dentro de la literatura logró elucidarse la razón del por qué. Los inhibidores de Chk1 han tenido un gran impacto en el mercado de los tratamientos contra el cáncer y de este punto de partida ha nacido la mayor parte del financiamiento a los estudios que se le han realizado a este. Pero es inevitable el cuestionarse que el impacto que puede estar teniendo esta proteína en los seres vivos, y en especial en los humanos es mucho más grande del que se le atribuye en la literatura. En la mayoría de los artículos que se utilizaron para esta revisión la palabra cáncer o tumor es recurrente, pero como se ha demostrado en este trabajo monográfico, Chk1 cumple un rol gigante en muchas de las funciones básicas de la vida que aún ignoramos. Los estudios de biología del desarrollo, regeneración y evolución son vitales para poder seguir comprendiendo la magnitud de lo que representa la expresión de esta proteína más allá de ser parte de las vías DDR. Futuros estudios deberían enfocarse más en estos puntos, puesto que, como se mencionó en el apartado de regeneración neuronal y Alzheimer, los mismos químicos e inhibidores que se llevan empleando en la industria farmacéutica durante años

para combatir el cáncer, podrían llegar a ser más efectivos al momento de tratar otras enfermedades. Si bien el cáncer es uno de los mayores retos a los que se ha enfrentado la ciencia y la medicina, el volver a revisar estos esfuerzos y enfocarlos desde otras perspectivas podría ser el inicio para comprender mucho mejor cómo funciona la vida a nivel molecular. El hecho que se hayan abordado seis diferentes ramas en este trabajo indica que existen más subramas las cuales se pueden llegar a revisar e investigar, porque aún se desconoce bastante. La biología es la ciencia encargada de entender la vida, de descubrir sus secretos y para poder clasificar sistemáticamente sus mecanismos de manera eficiente y, sin embargo, siendo Chk1 uno de los principales motores de vida, es aún todo un misterio.

## 7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

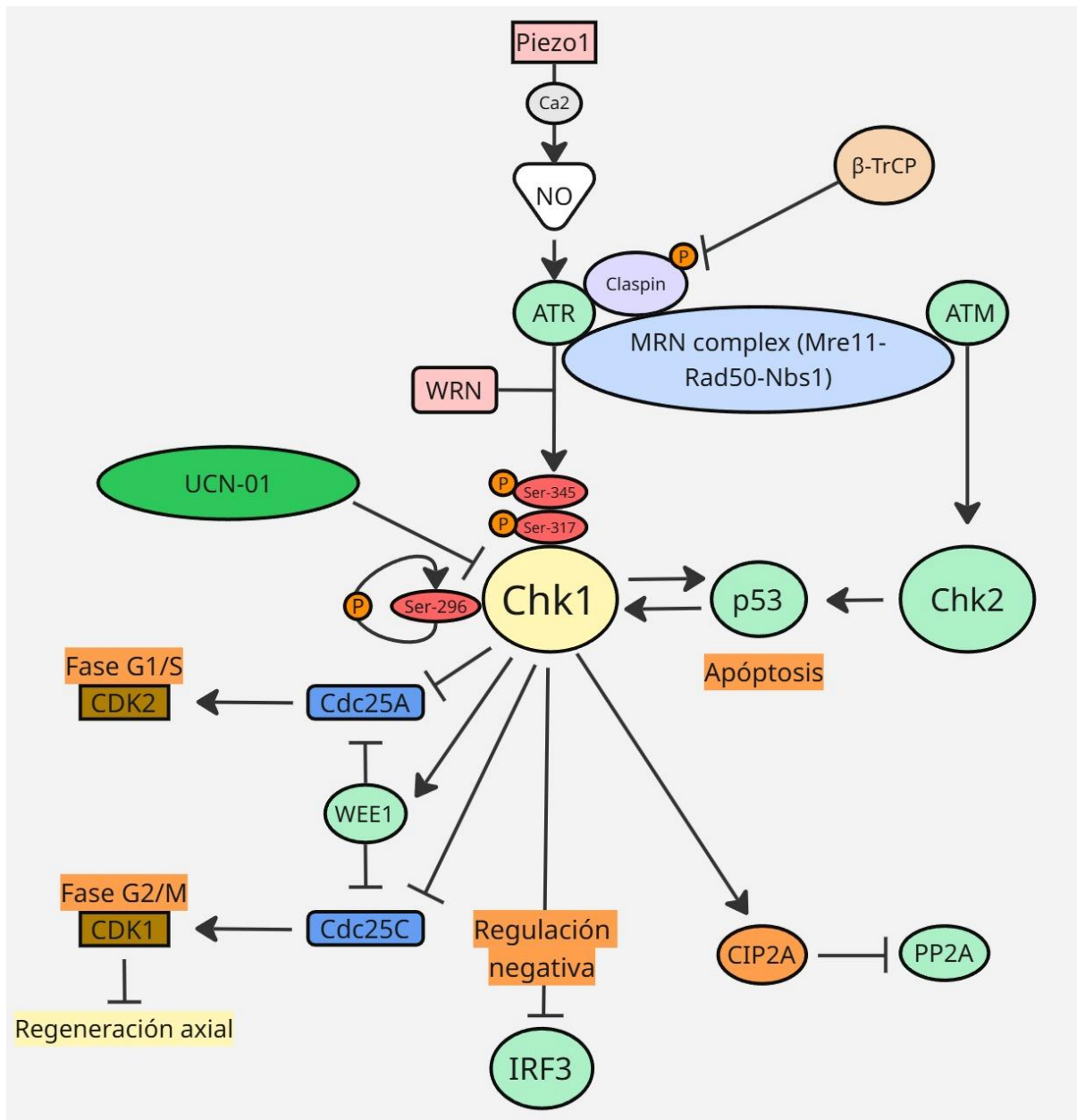
- Alderton, G. K., Joenje, H., Varon, R., Børglum, A. D., Jeggo, P. A., & O'Driscoll, M. (2004). Seckel syndrome exhibits cellular features demonstrating defects in the ATR-signalling pathway. *Human Molecular Genetics*, *13*(24), 3127–3138. <https://doi.org/10.1093/HMG/DDH335>
- Basile, G., Leuzzi, G., Pichierri, P., & Franchitto, A. (2014). Checkpoint-dependent and independent roles of the Werner syndrome protein in preserving genome integrity in response to mild replication stress. *Nucleic Acids Research*, *42*(20), 12628–12639. <https://doi.org/10.1093/NAR/GKU1022>
- Boles, N. C., Peddibhotla, S., Chen, A. J., Goodell, M. A., & Rosen, J. M. (2010). Chk1 Haploinsufficiency Results in Anemia and Defective Erythropoiesis. *PLOS ONE*, *5*(1), e8581. <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0008581>
- Boutelle, A. M., & Attardi, L. D. (2021). p53 and Tumor Suppression: It Takes a Network. *Trends in cell biology*, *31*(4), 298–310. <https://doi.org/10.1016/J.TCB.2020.12.011>
- Brantley, S. E., & Di Talia, S. (2021). Cell cycle control during early embryogenesis. *Development (Cambridge)*, *148*(13). <https://doi.org/10.1242/DEV.193128/269267>
- Capasso, H., Palermo, C., Wan, S., Rao, H., John, U. P., O'Connell, M. J., & Walworth, N. C. (2002). Phosphorylation activates Chk1 and is required for checkpoint-mediated cell cycle arrest. *Journal of Cell Science*, *115*(23), 4555–4564. <https://doi.org/10.1242/JCS.00133>
- Carter, A. D., & Sible, J. C. (2003). Loss of XChk1 function triggers apoptosis after the midblastula transition in *Xenopus laevis* embryos. *Mechanisms of Development*, *120*(3), 315–323. [https://doi.org/10.1016/S0925-4773\(02\)00443-4](https://doi.org/10.1016/S0925-4773(02)00443-4)
- Caulin, A. F., & Maley, C. C. (2011). Peto's Paradox: Evolution's Prescription for Cancer Prevention. *Trends in ecology & evolution*, *26*(4), 175. <https://doi.org/10.1016/J.TREE.2011.01.002>
- Chen, Y., & Sanchez, Y. (2004). Chk1 in the DNA damage response: Conserved roles from yeasts to mammals. *DNA Repair*, *3*(8–9), 1025–1032. <https://doi.org/10.1016/j.dnarep.2004.03.003>
- Chen, Z., Wang, C., Lei, C., Lei, C., Feng, X., Li, C., Jung, S. Y., Qin, J., & Chen, J. (2020). Phosphoproteomics Analysis Reveals a Potential Role of CHK1 in Regulation of Innate Immunity through IRF3. *Journal of Proteome Research*, *19*(6), 2264–2277. <https://doi.org/10.1021/ACS.JPROTEOME.9B00829>
- David, A., Vincent, M., Arrigoni, P. P., Barbarot, S., Pistorius, M. A., Isidor, B., & Frampas, E. (2017). Werner syndrome: Clinical features, pathogenesis and potential therapeutic interventions. *Ageing Research Reviews*, *33*(5), 105–114. <https://doi.org/10.1016/J.ARR.2016.03.002>
- Desmarais, J. A., Hoffmann, M. J., Bingham, G., Gagou, M. E., Meuth, M., & Andrews, P. W. (2012). Human Embryonic Stem Cells Fail to Activate CHK1 and Commit to Apoptosis in Response to DNA Replication Stress. *Stem Cells*, *30*(7), 1385–1393. <https://doi.org/10.1002/STEM.1117>

- Durkin, S. G., Arlt, M. F., Howlett, N. G., & Glover, T. W. (2006). Depletion of CHK1, but not CHK2, induces chromosomal instability and breaks at common fragile sites. *Oncogene*, *25*(32), 4381–4388. <https://doi.org/10.1038/SJ.ONC.1209466;KWRD=MEDICINE>
- Duursma, A. M., Driscoll, R., Elias, J. E., & Cimprich, K. A. (2013). A role for the MRN complex in ATR activation through TOPBP1 recruitment. *Molecular cell*, *50*(1), 116. <https://doi.org/10.1016/J.MOLCEL.2013.03.006>
- Fishler, T., Li, Y. Y., Wang, R. H., Kim, H. S., Sengupta, K., Vassilopoulos, A., Lahusen, T., Xu, X., Lee, M. H., Liu, Q., Elledge, S. J., Ried, T., & Deng, C. X. (2010). Genetic instability and mammary tumor formation in mice carrying mammary-specific disruption of Chk1 and p53. *Oncogene*, *29*(28), 4007–4017. <https://doi.org/10.1038/ONC.2010.163>
- Graves, P. R., Yu, L., Schwarz, J. K., Gales, J., Sausville, E. A., O'Connor, P. M., & Piwnicka-Worms, H. (2000). The Chk1 Protein Kinase and the Cdc25C Regulatory Pathways Are Targets of the Anticancer Agent UCN-01. *Journal of Biological Chemistry*, *275*(8), 5600–5605. <https://doi.org/10.1074/JBC.275.8.5600>
- Hu, W., Wang, Z., Zhang, H., Mahaman, Y. A. R., Huang, F., Meng, D., Zhou, Y., Wang, S., Jiang, N., Xiong, J., Westermarck, J., Lu, Y., Wang, J., Wang, X., Shentu, Y., & Liu, R. (2022). Chk1 Inhibition Ameliorates Alzheimer's Disease Pathogenesis and Cognitive Dysfunction Through CIP2A/PP2A Signaling. *Neurotherapeutics*, *19*(2), 570–591. <https://doi.org/10.1007/S13311-022-01204-Z>
- Kalogeropoulos, N., Christoforou, C., Green, A. J., Gill, S., & Ashcroft, N. R. (2004). chk-1 is an Essential Gene and is Required for an S-M Checkpoint During Early Embryogenesis. *Cell Cycle*, *3*(9), 1194–1198. <https://doi.org/10.4161/CC.3.9.1116>
- Kok, Y. P., Guerrero Llobet, S., Schoonen, P. M., Everts, M., Bhattacharya, A., Fehrmann, R. S. N., van den Tempel, N., & van Vugt, M. A. T. M. (2020). Overexpression of Cyclin E1 or Cdc25A leads to replication stress, mitotic aberrancies, and increased sensitivity to replication checkpoint inhibitors. *Oncogenesis* *2020 9:10*, *9*(10), 1–15. <https://doi.org/10.1038/s41389-020-00270-2>
- Kuntz, K., & O'Connell, M. J. (2009). The G(2) DNA damage checkpoint: could this ancient regulator be the Achilles heel of cancer? *Cancer biology & therapy*, *8*(15). <https://doi.org/10.4161/CBT.8.15.9081>
- Lau, C. C., & Pardee, A. B. (1982). Mechanism by which caffeine potentiates lethality of nitrogen mustard. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *79*(9 1), 2942–2946. <https://doi.org/10.1073/PNAS.79.9.2942>,
- Li, F., Lo, T. Y., Miles, L., Wang, Q., Noristani, H. N., Li, D., Niu, J., Trombley, S., Goldshteyn, J. I., Wang, C., Wang, S., Qiu, J., Pogoda, K., Mandal, K., Brewster, M., Rompolas, P., He, Y., Janmey, P. A., Thomas, G. M., ... Song, Y. (2021). The Atr-Chek1 pathway inhibits axon regeneration in response to Piezo-dependent mechanosensation. *Nature Communications* *2021 12:1*, *12*(1), 1–20. <https://doi.org/10.1038/s41467-021-24131-7>
- Liang, Y., Lin, S. Y., Brunicardi, F. C., Goss, J., & Li, K. (2009). DNA damage response pathways in tumor suppression and cancer treatment. *World Journal of Surgery*, *33*(4), 661–666. <https://doi.org/10.1007/S00268-008-9840-1/FIGURES/2>

- MacDonald, N., Raven, N., Diep, W., Evans, S., Pannipitiya, S., Bramwell, G., Vanbeek, C., Thomas, F., Russell, T., Dujon, A. M., Telonis-Scott, M., & Ujvari, B. (2024). The molecular evolution of cancer associated genes in mammals. *Scientific Reports* 2024 14:1, 14(1), 1–14. <https://doi.org/10.1038/s41598-024-62425-0>
- Marabitti, V., Lillo, G., Malacaria, E., Palermo, V., Sanchez, M., Pichierri, P., & Franchitto, A. (2019). ATM pathway activation limits R-loop-associated genomic instability in Werner syndrome cells. *Nucleic Acids Research*, 47(7), 3485–3502. <https://doi.org/10.1093/NAR/GKZ025>
- Mattina, T., Perrotta, C. S., & Grossfeld, P. (2009). Jacobsen syndrome. *Orphanet Journal of Rare Diseases*, 4(1), 1–10. <https://doi.org/10.1186/1750-1172-4-9/FIGURES/2>
- Neizer-Ashun, F., & Bhattacharya, R. (2020). Reality CHEK: Understanding the biology and clinical potential of CHK1. *Cancer Letters*, 497, 202–211. <https://doi.org/10.1016/J.CANLET.2020.09.016>
- Petrus, M. J., Wilhelm, D. E., Murakami, M., Kappas, N. C., Carter, A. D., Wroble, B. N., & Sible, J. C. (2004). Altered Expression of Chk1 Disrupts Cell Cycle Remodeling at the Midblastula Transition in *Xenopus laevis* Embryos. *Cell Cycle*, 3(2), 200–204. <https://doi.org/10.4161/CC.3.2.647>
- Saldivar, J. C., Cortez, D., & Cimprich, K. A. (2017). The essential kinase ATR: ensuring faithful duplication of a challenging genome. *Nature Reviews Molecular Cell Biology* 2017 18:10, 18(10), 622–636. <https://doi.org/10.1038/nrm.2017.67>
- Saldivar, J. C., Hamperl, S., Bocek, M. J., Chung, M., Bass, T. E., Cisneros-Soberanis, F., Samejima, K., Xie, L., Paulson, J. R., Earnshaw, W. C., Cortez, D., Meyer, T., & Cimprich, K. A. (2018). An intrinsic S/G2 checkpoint enforced by ATR. *Science*, 361(6404), 806–810. [https://doi.org/10.1126/SCIENCE.AAP9346/SUPPL\\_FILE/AAP9346\\_SALDIVAR\\_SM.PDF](https://doi.org/10.1126/SCIENCE.AAP9346/SUPPL_FILE/AAP9346_SALDIVAR_SM.PDF)
- Sarkaria, J. N., Busby, E. C., Tibbetts, R. S., Roos, P., Taya, Y., Karnitz, L. M., & Abraham, R. T. (1999). Inhibition of ATM and ATR Kinase Activities by the Radiosensitizing Agent, Caffeine 1. En *CANCER RESEARCH* (Vol. 59). <https://aacrjournals.org/cancerres/article/59/17/4375/505493/Inhibition-of-ATM-and-ATR-Kinase-Activities-by-the>
- Saxena, S., & Zou, L. (2022). Hallmarks of DNA replication stress. *Molecular Cell*, 82(12), 2298–2314. <https://doi.org/10.1016/J.MOLCEL.2022.05.004/ASSET/4F710102-6398-43D0-A914-9E973DF0DEAA/MAIN.ASSETS/GR2.JPG>
- Shanbhag, N. M., Evans, M. D., Mao, W., Nana, A. L., Seeley, W. W., Adame, A., Rissman, R. A., Masliah, E., & Mucke, L. (2019). Early neuronal accumulation of DNA double strand breaks in Alzheimer's disease. *Acta Neuropathologica Communications* 2019 7:1, 7(1), 1–18. <https://doi.org/10.1186/S40478-019-0723-5>
- Smith, H. L., Southgate, H., Tweddle, D. A., & Curtin, N. J. (2020). DNA damage checkpoint kinases in cancer. *Expert Reviews in Molecular Medicine*, 22, e2. <https://doi.org/10.1017/ERM.2020.3>
- Smith, J., Mun Tho, L., Xu, N., & Gillespie, D. (2010). The ATM–Chk2 and ATR–Chk1 Pathways in DNA Damage Signaling and Cancer. *Advances in Cancer Research*, 108(C), 73–112. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-380888-2.00003-0>

- Smits, V. A. J., & Gillespie, D. A. (2015). DNA damage control: Regulation and functions of checkpoint kinase 1. *FEBS Journal*, *282*(19), 3681–3692. <https://doi.org/10.1111/FEBS.13387>;WEBSITE:WEBSITE:FEBS;PAGE:STRING:ARTICLE/CHAPTER
- Song, J., Ma, J., Liu, X., Huang, Z., Li, L., Li, L., Luo, L., Ni, R., & He, J. (2023a). The MRN complex maintains the biliary-derived hepatocytes in liver regeneration through ATR-Chk1 pathway. *npj Regenerative Medicine* *2023* *8*:1, *8*(1), 1–14. <https://doi.org/10.1038/s41536-023-00294-3>
- Song, J., Ma, J., Liu, X., Huang, Z., Li, L., Li, L., Luo, L., Ni, R., & He, J. (2023b). The MRN complex maintains the biliary-derived hepatocytes in liver regeneration through ATR-Chk1 pathway. *npj Regenerative Medicine* *2023* *8*:1, *8*(1), 1–14. <https://doi.org/10.1038/s41536-023-00294-3>
- Sousounis, K., Bryant, D. M., Fernandez, J. M., Eddy, S. S., Tsai, S. L., Gundberg, G. C., Han, J., Courtemanche, K., Levin, M., & Whited, J. L. (2020). Eya2 promotes cell cycle progression by regulating DNA damage response during vertebrate limb regeneration. *eLife*, *9*. <https://doi.org/10.7554/ELIFE.51217>
- Torres-Dimas, E., Cruz-Ramírez, A., & Bermúdez-Cruz, R. M. (2022). Cancer in Amphibia, a rare phenomenon? *Cell Biology International*, *12*. <https://doi.org/10.1002/CBIN.11888>
- Wang, J., Zhao, T., Tan, Z., Gong, X., Yiliya Ahemaiti, Wei, L., & Hu, S. (2022). Deletion of 11q24.2-qter in a male child with cleft lip and palate: an atypical feature of Jacobsen syndrome. *Journal of Genetics*, *101*(2), 1–6. <https://doi.org/10.1007/S12041-022-01380-Z/FIGURES/3>
- Wang, Q., Fan, S., Eastman, A., Worland, P. J., Sausville, E. A., & O'Connor, P. M. (1996). UCN-01: A potent abrogator of G2 checkpoint function in cancer cells with disrupted p53. *Journal of the National Cancer Institute*, *88*(14), 956–965. <https://doi.org/10.1093/JNCI/88.14.956>,
- Zhang, Y., & Hunter, T. (2014). Roles of Chk1 in cell biology and cancer therapy. *International Journal of Cancer*, *134*(5), 1013–1023. <https://doi.org/10.1002/IJC.28226>
- Zhang, Y., Qu, D., Morris, E. J., O'Hare, M. J., Callaghan, S. M., Slack, R. S., Geller, H. M., & Park, D. S. (2006). The Chk1/Cdc25A Pathway as Activators of the Cell Cycle in Neuronal Death Induced by Camptothecin. *Journal of Neuroscience*, *26*(34), 8819–8828. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2593-06.2006>
- Zhu, K., Liu, Q., Zhou, Y., Tao, C., Zhao, Z., Sun, J., & Xu, H. (2015). Oncogenes and tumor suppressor genes: Comparative genomics and network perspectives. *BMC Genomics*, *16*(7), 1–11. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-16-S7-S8/FIGURES/6>

## 8. FIGURAS



**Figura 1. Interacciones celulares de Chk1.** Interpretación gráfica de todos los mecanismos revisados en este trabajo monográfico.