

Received: 2015.01.20
Accepted: 2015.09.30
Published: 2016.04.13

Inhibitory PARP1: współczesne próby zastosowania w terapii przeciwnowotworowej i perspektywy na przyszłość*

PARP1 inhibitors: contemporary attempts at their use in anticancer therapy and future perspective

Ewelina Wiśnik^{1*}, Marcin Ryksa^{2*}, Maria Koter-Michalak¹

¹Uniwersytet Łódzki, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Katedra Biofizyki Skażeń Środowiska, Łódź

²Uniwersytet Medyczny w Łodzi, Wydział Nauk Biomedycznych i Kształcenia Podyplomowego, Zakład Biologii Nowotworów, Łódź

Streszczenie

Obecne terapie przeciwnowotworowe polegają głównie na wprowadzaniu związków wywołujących uszkodzenia DNA. Niestety, nawet skojarzone leczenie nie daje satysfakcjonujących wyników ze względu na wydajność mechanizmów naprawy uszkodzeń DNA komórek nowotworowych. Dlatego też obecne badania powinny się skupiać wokół białek zaangażowanych we wszystkie systemy naprawy DNA, a przykładem takiego białka jest polimeraza poli(ADP-rybozy)-1. PARP1 jest powszechnie znana jako enzym odgrywający rolę w detekcji uszkodzeń DNA i jego naprawie. Aktywacja PARP1 w sytuacji uszkodzeń DNA umożliwia poli(ADP-rybozylację) odpowiednich białek wpływając na systemy naprawcze, co pozwala utrzymać stabilność genomu. Inhibicja białka PARP1 prowadzi natomiast do akumulacji uszkodzeń DNA, co przyczynia się do śmierci komórek. Badania nad inhibitorami PARP1 nadal trwają i niektóre z nich są obecnie w III fazie badań klinicznych. Dotychczas wprowadzono na rynek farmaceutyczny Unii Europejskiej oraz Stanów Zjednoczonych tylko jednego przedstawiciela inhibitorów PARP1, jakim jest olaparib. Ponadto, coraz większa liczba doniesień literaturowych wskazuje na udział białka PARP1 w innych niż naprawa DNA procesach wewnątrzkomórkowych, takich jak: metabolizm, proliferacja, regulacja transkrypcji genów, śmierć komórki, czy modulacja odpowiedzi immunologicznej, co daje podstawy do potencjalnego, szerszego wykorzystania inhibitorów PARP1 w innych chorobach, w tym schorzeń o podłożu immunologicznym czy autoimmunologicznym.

Słowa kluczowe:

PARP1 • poli-ADP-rybozylacja • naprawa DNA • inhibitory PARP1 • śmierć komórki • skracanie telomerów

Summary

Current cancer therapies are based mainly on the use of compounds that cause DNA damage. Unfortunately, even the combination therapies do not give rewarding effects, due to the high efficiency of DNA damage repair mechanisms in tumor cells. Therefore, the present studies should be focused on proteins that are involved in DNA repair systems. Poly(ADP-ribose) polymerase-1 is an example of a protein commonly known as an enzyme that plays a role in the detection of DNA damage and repair. Activation of PARP1 in response to DNA damage leads to poly-ADP-ribosylation of proteins contributing to DNA repair systems, therefore facilitating the

* Udział autorów w pracy jest równorzędny.

maintenance of genome stability. On the other hand, inhibition of PARP1 enzyme results in the accumulation of DNA damage, which in turn contributes to cell death. Studies on inhibitors of PARP1 are still ongoing, and some of them are currently in the third phase of clinical trials. To date, only one representative of the PARP1 inhibitors, called olaparib, has been approved for anti-cancer therapy in the EU and the USA. Moreover, a growing body of evidence indicates a role of this protein in various intracellular processes such as bioenergetics, proliferation, regulation of gene expression, cell death as well as immunoregulation. A number of different intracellular processes regulated by PARP1 give rise to potential wider use of PARP1 inhibitors in treatment of other diseases, including immune or autoimmune disorders.

Keywords: PARP1 • poly-ADP-ribosylation • DNA repair • PARP1 inhibitors • cell death • telomere shortening

Full-text PDF: <http://www.phmd.pl/fulltxt.php?ICID=1199303>

Word count: 4732
Tables: 2
Figures: 4
References: 69

Adres autorki: dr Ewelina Wiśnik, Uniwersytet Łódzki, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Katedra Biofizyki Skażeń Środowiska, ul. Pomorska 141/143, 90-236 Łódź; e-mail: ewelina-wisnik@wp.pl

Wykaz skrótów: **AIF** – czynnik indukujący apoptozę; **ATP** – adenozyntrifosforan; **BER** – naprawa DNA przez wycinanie zasad; **BRCA1, 2** – białko, którego defekt predysponuje do rozwoju nowotworów piersi; **BRCT** – C-końcowa domena białka BRCA1; **CSF2** – czynnik stymulujący tworzenie kolonii granulocytów i makrofagów; **HRR** – rekombinacja homologiczna; **IKK** – kinaza podjednostki inhibitorowej NF-κB; **IL-1, -2, -6, -8, -12** – interleukiny-1, -2, -6, -8, -12; **MCP1** – białko chemotaksji monocytów; **MIPβ** – białko procesu zapalnego makrofagów; **MMR** – naprawa błędnie sparowanych zasad; **MRN** – kompleks naprawczy złożony z białek MRE11, RAD50, NBS1; **mTOR** – kinaza serynowo-treoninowa tzw. ssaczego celu rapamycyny; **NAD⁺** – dinukleotyd nikotynoamidoadeninowy; **NER** – naprawa DNA przez wycinanie nukleotydów; **NF-κB** – jądrowy czynnik transkrypcyjny κB; **NHEJ** – naprawa DNA przez niehomologiczne łączenie końców DNA; **NLS** – sygnał lokalizacji jądrowej; **PAR** – polimery poli(ADP-rybozy); **PARP1** – polimeraza poli(ADP-rybozy)-1; **PI3K** – gen kodujący kinazę 3-fosfatydyloinozytolu; **PIASy** – ligaza katalizująca sumoilację; **POT1** – białko chroniące telomery; **PTEN** – gen supresorowy; **RAD50, 51** – ludzki homolog białka Rad50, 51 *S. cerevisiae* i białka RecA *E.coli* uczestniczący w naprawie pęknięć dwuniciowych DNA; **RANKL** – ligand receptora aktywującego jądrowy czynnik NF-κB; **SIRT1, 6** – sirtuina 1, 6; **TCIRG1** – podjednostka α3 ATPazy wakuolarniej; **TIN2** – czynnik jądrowy współdziałający z TRF1; **TPP1** – peptydaza tripeptydylowa 1; **TRACP** – kwaśna fosfataza oporna na winian; **TRF1, 2** – czynniki wiążące powtórzenia telomerów; **VCAM** – cząsteczka adhezji komórkowej naczyń; **XRCC1, 2, 3** – białka związane z naprawą uszkodzeń DNA indukowanych promieniowaniem jonizującym; **ZnI, II, III** – palec cynkowy I, II, III

WSTĘP

Coraz większa liczba chorób, których leczenie w dalszym ciągu nie daje satysfakcjonujących rezultatów z powodu braku skutecznych i swoistych dla nich metod, zmusza naukowców do poszukiwania nowych celów terapeutycznych i dostosowania odpowiedniego podejścia farmaceutycznego. Nowoczesne techniki stosowane w biologii komórki oraz w biologii molekularnej umożliwiły poznanie struktury oraz wewnątrzkomórkowych funkcji białka polimerazy poli(ADP-rybozy)-1 (PARP1), dzięki czemu stało się atrakcyjnym celem terapeutycznym [44]. Enzym ten należący do grupy enzymów przeprowadzających potranslacyjną modyfikację białek

przez przyłączenie reszt ADP-rybozy uczestniczy w wielu ważnych dla komórki procesach [1]. Dotychczas zsyntetyzowano wiele inhibitorów białka PARP1 charakteryzujących się zadowalającą swoistością, a część z nich znajduje się w fazie badań klinicznych analizujących ich zastosowanie w leczeniu chorych z nowotworami wykorzystując to, że białko PARP1 uczestniczy w naprawie DNA. Uwzględniając wielozadaniowość tego białka i udokumentowaną rolę w metabolizmie, śmierci komórki, regulowaniu transkrypcji i wewnątrzkomórkowych szlaków sygnałowych, inhibitory białka PARP1 mogą znaleźć zastosowanie w leczeniu schorzeń, których podstawą są zaburzenia wymienionych procesów komórkowych. Ponadto, wykorzystanie inhibitorów

PARP1 w walce z nowotworami może zostać rozszerzone o modulowanie nie tylko naprawy DNA, ale może obejmować również interwencję w fizjologiczne komórki nowotworowe, w które jest zaangażowane białko PARP1. W pracy omówiono główne, najdokładniej opisane przykłady udziału tego enzymu w funkcjonowaniu komórek, jego inhibitory oraz próby ich zastosowania w terapii przeciwnowotworowej, jak i molekularne przesłanki do ich potencjalnego wykorzystania w przyszłości [11,29].

PARP1 – BUDOWA, FUNKCJA I LOKALIZACJA KOMÓRKOWA

Polimeraza poli(ADP-rybozy)-1 PARP1, nazywana także transferazą lub syntetazą poli(ADP-rybozy)-1 jest najlepiej poznanym członkiem rodziny polimeraz PARP, składającej się z 18 enzymów. Enzym ten wykorzystuje dinukleotyd nikotynoamidoadeninowy (NAD⁺) do katalizy transferu 2'-(5''-fosforybozylo)-5-AMP na miejsce akceptorowe, będące grupą karboksylową glutaminianu czy asparaginianu własnego łańcucha białkowego (cis-) oraz innych białek (trans-poli(ADP-rybozylacja)) (ryc. 1) [66]. Dołączanie kolejnych reszt ADP-rybozy powoduje powstanie polimerów o długości 200-400 jednostek, z rozgałęzieniami co 20-50 cząsteczek ADP-rybozy [27].

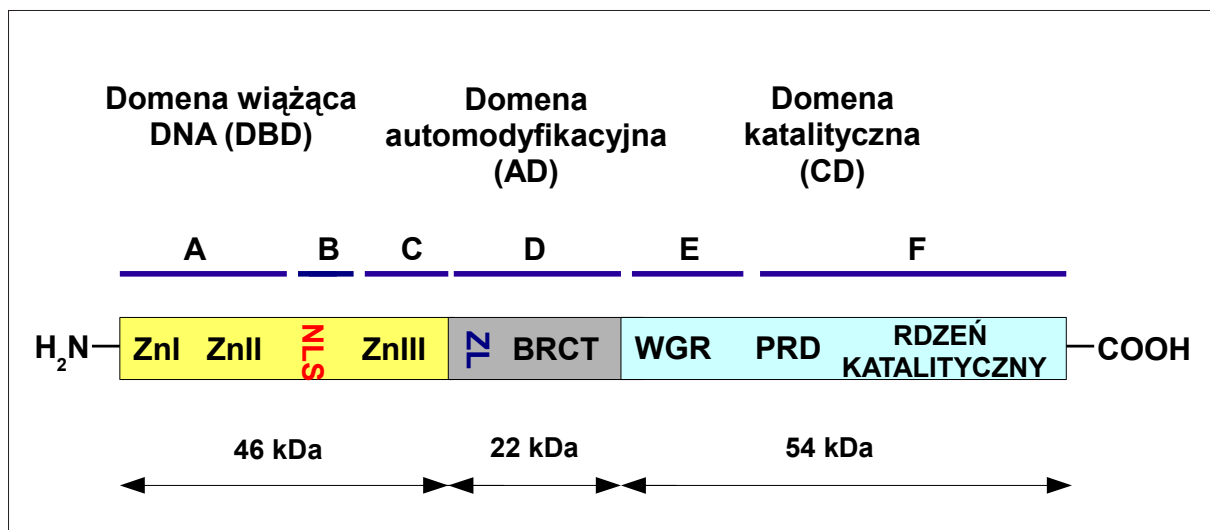
Enzym jest kodowany przez gen *PARP1* o długości 43 kpz (23 eksony) znany również jako *ADPRT/PPOL*, umiejscowiony na chromosomie 1 (1q41q42) [29]. Produktem ekspresji genu *PARP1* w komórkach ludzkich jest białko o masie cząsteczkowej 113 kDa, składające się z 1014 aminokwasów i charakteryzujące się obecnością trzech funkcjonalnych domen: N-końcowej łączącej się z DNA, domeny centralnej – automodyfikacyjnej, która jest miejscem akceptorowym dla powstających w wyniku aktywacji enzymu polimerów oraz domeny C-końcowej – katalitycznej (ryc. 2) [35].

Dzięki obecności fragmentu NLS białko PARP1 jest umiejscowione w jądrze komórkowym, gdzie występuje

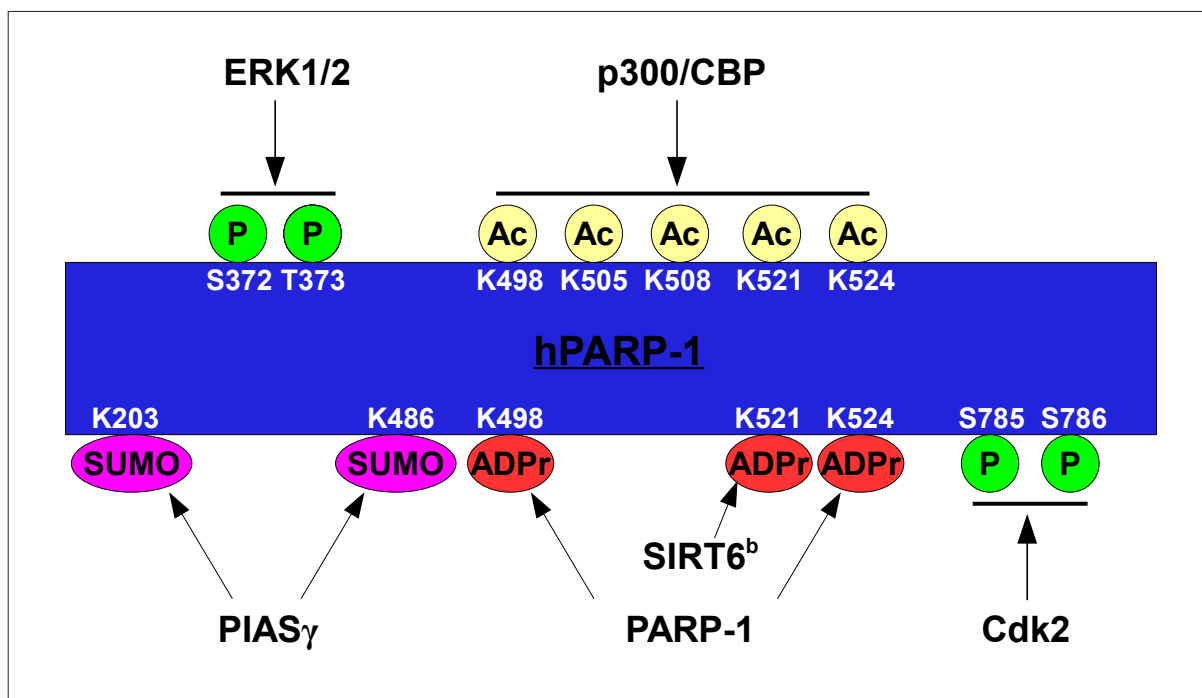
w postaci częściowo zasocjowanej z chromatyną. Niektóre doniesienia wskazują na lokalizację tego enzymu poza jądrem komórkowym, m.in. w mitochondriach [11]. W komórkach nowotworowych białko PARP1 wykryto również w cytoplazmie [13]. W warunkach fizjologicznych aktywność PARP1 jest niewielka, natomiast w chwili pojawienia się stresu oksydacyjnego czy genotoksycznego, prowadzącego do uszkodzeń DNA aktywność enzymu PARP1 gwałtownie wzrasta, co wywołuje akumulację polimerów poli(ADP-rybozy) w obrębie jądra komórkowego oraz ich późniejsze przemieszczenie się do cytoplazmy [28]. Enzym ten pełni w komórce funkcję m.in. sensora zmian struktury DNA, zarówno pęknięć, jak i obecności struktur innych niż B-DNA, takich jak spinki do włosów, pętle czy struktury krzyżowe, które działają jako kofaktory w inicjowaniu automodyfikacji PARP1 oraz poli(ADP-rybozylacji) histonu H1 [10,33]. Zarówno cis-poli(ADP-rybozylacja), jak i mono(ADP-rybozylacja) PARP1 oraz reakcje fosforylacji i acetylacji aktywują enzym, umiejscawiając PARP1 w obrębie złożonej siatki wewnątrzkomórkowych szlaków sygnalizacyjnych i warunkując udział tego białka w wielu fizjologicznych procesach komórki [58].

MOLEKULARNE PODSTAWY INHIBICJI PARP1

Badania nad opracowaniem małych cząsteczek, które miałyby aktywność inhibitorową względem PARP1, trwają od ponad 30 lat. Ciągłe udoskonalanie inhibitorów doprowadziło w ostatnich latach do uzyskania związków odznaczających się dużą wydajnością inhibicji PARP1. Najbardziej skuteczne związki przedstawiono na ryc. 3 [17]. Inhibitory PARP można podzielić ze względu na strukturę chemiczną, powinowactwo do białek z tej rodziny lub typ inhibicji. Chemiczny podział inhibitorów PARP jest oparty o związki, będący szkieletem inhibitora. Spośród inhibitorów PARP1 wyróżnia się pochodne związków: izochinolina, chinozolina, chinolinodion, ftalazyon, fenantrydyna, imidazol, benzimidazol oraz



Ryc. 1. Struktura domenowa białka hPARP1



Ryc. 2. Potranslacyjne modyfikacje białka hPARP-1: fosforylacja (P), acetylacja (Ac), sumoilacja (SUMO) oraz poli(ADP-rybozylacja) i mono(ADP-rybozylacja) (ADPr)

pirolokarbol. Każda z zaproponowanych struktur jest analogiem strukturalnym NAD^+ i wiąże się w centrum aktywnym białka PARP1 [5].

Centra aktywne PARP1 i PARP2 są niemal identyczne. Jedyne różnice, które mogą wpływać na swoistość wiązania inhibitora, znajdują się w domenie katalitycznej reszty Glu763, Gln319 oraz Tyr539 [60]. Konserwatywność reszt aminokwasowych w centrum aktywnym PARP powoduje nieswoistą inhibicję białek PARP i dla większości inhibitorów stała inhibicję różnych białek z tej rodziny mają zbliżoną wartość [17].

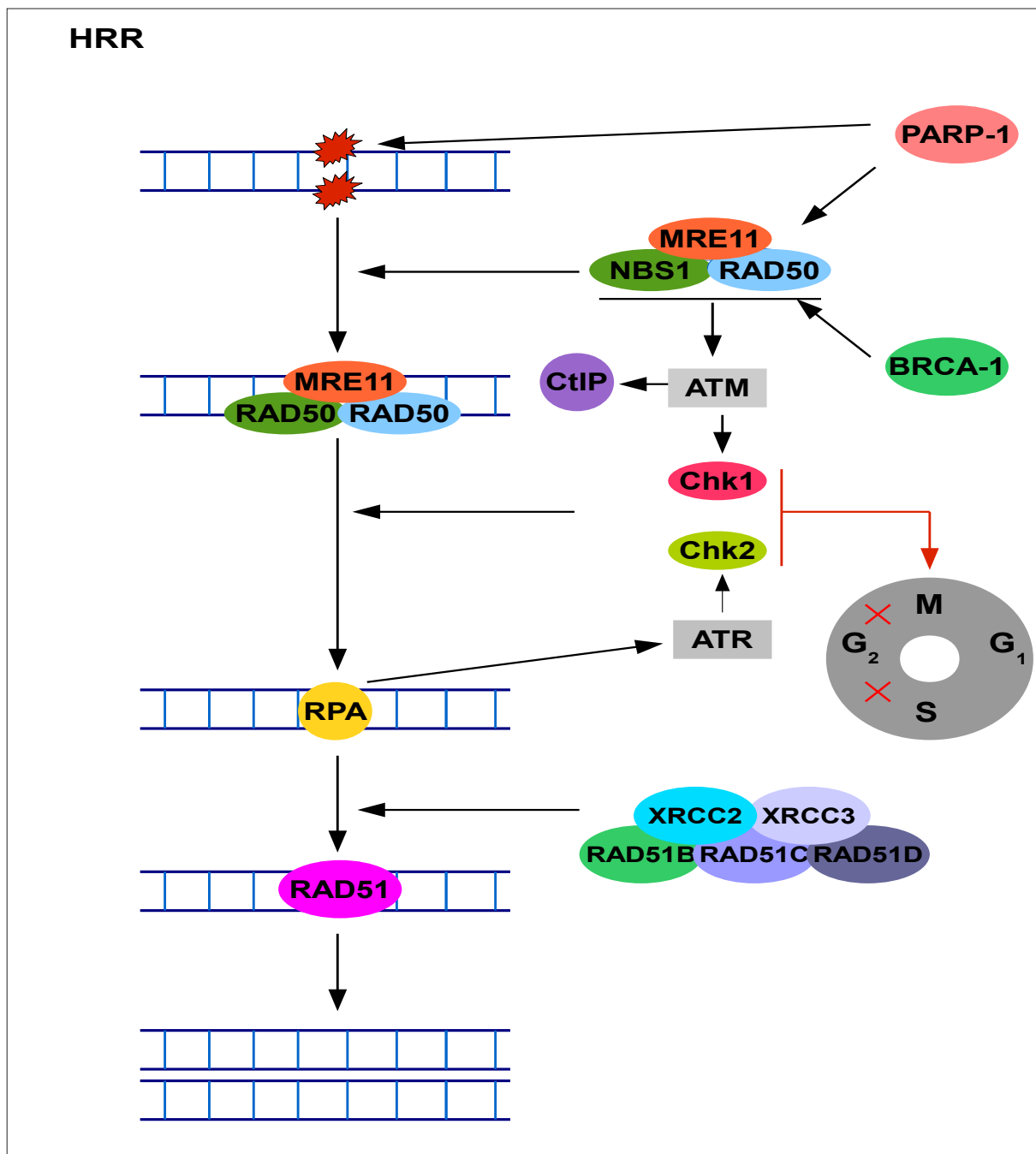
Nikotynamid, który jest naturalnym inhibitorem PARP, odznacza się wysokim powinowactwem do centrum aktywnego dzięki tworzeniu się wiązań wodorowych między Ser904 i Gly863 oraz oddziaływaniom warstwowym π - π między Tyr896 i Tyr907 a aromatycznym pierścieniem inhibitora [17]. Zdecydowana większość inhibitorów PARP działa przez kompetycyjny mechanizm inhibicji, dlatego struktury związków chemicznych są optymalizowane w taki sposób, aby zwiększyć powinowactwo do centrum aktywnego enzymu. Natomiast występują również niekompetycyjne inhibitory PARP1, np. gossypol, będący związkiem pochodzenia roślinnego. Dowiedzono, że gossypol hamuje aktywność PARP1 oraz uniemożliwia tworzenia interakcji z innymi białkami przez dimeryzację cząsteczek PARP1. Gossypol reaguje z resztami lizyny domeny BRCT białka PARP1, tworząc odwracalne wiązanie kowalencyjne. Ten nowy mechanizm oddziaływania z PARP1 umożliwia projektowanie nowych związków hamujących aktywność enzymatyczną PARP1 [51].

Najnowsze badania wskazują na dodatkowy mechanizm działania tej grupy związków. Niektóre inhibitory PARP, mające aktywność kompetycyjną np. talazoparib [50] działają jak trucizny enzymów PARP i uniemożliwiają ich oddysocjowanie od DNA. Tak uwięzione cząsteczki PARP są bardziej cytotoksyczne niż jednoniciowe pęknięcia DNA, powstające w wyniku zahamowania aktywności enzymatycznej PARP. Stwierdzono również, iż zdolność do inhibicji aktywności enzymatycznej nie jest skorelowana z siłą wiązania PARP do nici DNA. Nowy mechanizm działania inhibitorów PARP powinien być uwzględniany w fazie przesiewowych badań przedklinicznych, aby wyłonić związek o najwyższej aktywności [17].

AKTYWNOŚĆ BIAŁKA PARP1 W NAPRAWIE DNA JAKO SŁABY PUNKT KOMÓREK NOWOTWOROWYCH

Obecne terapie przeciwnowotworowe są oparte na wprowadzaniu do komórki nowotworowej związków wywołujących uszkodzenia DNA. W przypadku nieprawidłowego funkcjonowania jednego z typów naprawy DNA, uszkodzenie DNA jest naprawiane przez inny mechanizm naprawy [11]. Ponadto, w wyniku działania mutagenów, geny mutatorowe często ulegają inaktywacji, aby komórki mogły nabyć kolejne mutacje, umożliwiające ich niekontrolowaną proliferację. Dlatego badania nad nowymi celami terapeutycznymi powinny skupiać się wokół białek zaangażowanych w system naprawy DNA, a przykładem takiego białka jest właśnie PARP1 [14].

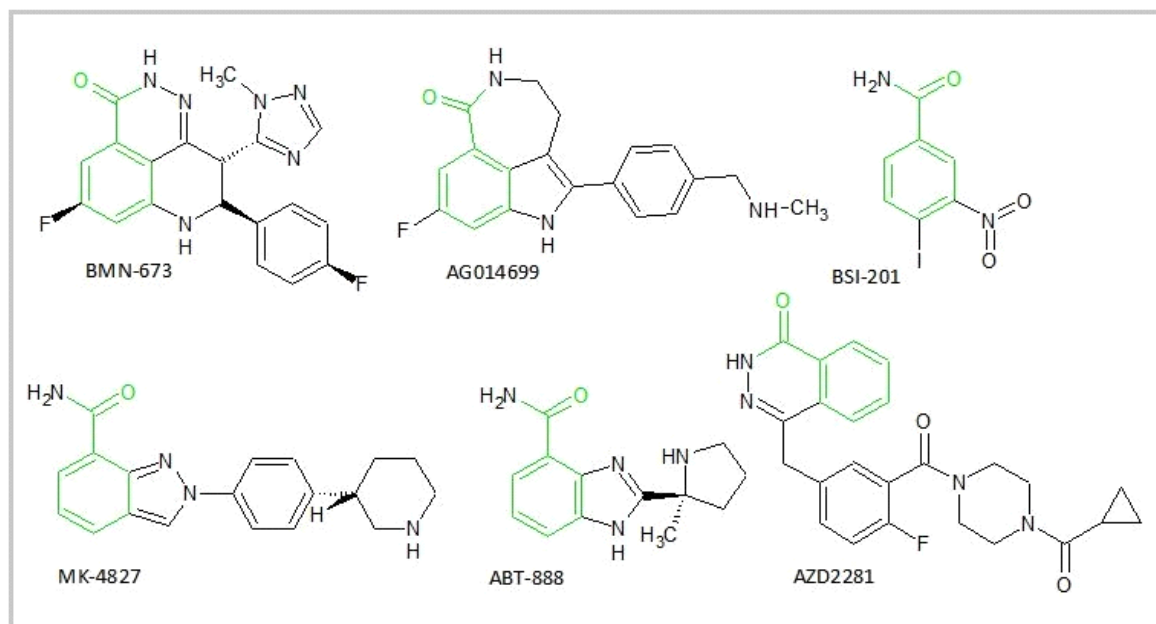
Białko PARP1 jest zaangażowane w detekcję zarówno jedno- jak i dwuniciowych pęknięć DNA. W obrębie domeny wiążącej się z DNA występują trzy palce cynkowe,



Ryc. 3. Mechanizm naprawy DNA przez rekombinację homologiczną

z czego dwa rozpoznają strukturę DNA: ZnII odpowiada za aktywację PARP1 w przypadku jedno- i dwuniciowych pęknięć DNA, podczas gdy ZnII odgrywa istotną rolę w aktywacji PARP1, głównie w jednoniciowych uszkodzeniach DNA [27]. Powstające w następstwie pęknięć nici DNA polimery ADP-rybozy niekwalencyjnie oddziałują z białkami, zawierającymi domenę wiążącą PAR, do których należą m.in. białka będące mediatorami w odpowiedzi komórki na uszkodzenia DNA, takie jak: p53, p21, ligaza III DNA, XRCC1, DNA-PK, Ku70, NF-κB, DN-aza aktywowana kaspazą czy telomeraza [53].

Białko PARP1 uczestniczy we wszystkich mechanizmach naprawy DNA jakimi są: naprawa DNA przez wycinanie zasad azotowych (BER) i nukleotydów (NER), czy błędnie sparowanych zasad (MMR), dzięki którym możliwa jest naprawa jednoniciowych pęknięć DNA [8]. PARP1 bierze udział również w naprawie DNA przez rekombinację homologiczną (HRR) i niehomologiczne łączenie końców DNA (NHEJ). Wyróżnia się dwie odmiany NHEJ: klasyczną (D-NHEJ) oraz alternatywną (A-NHEJ), które należą do procesów umożliwiających usunięcie dwuniciowych pęknięć DNA [67].



Ryc. 4. Wybrane inhibitory PARP1/2; strukturę nikotynamidu wyróżniono kolorem zielonym

BER – MECHANIZM NAPRAWY DNA PRZEZ WYCINANIE ZASAD

Podczas działania mechanizmu naprawy typu BER dochodzi do rozpoznania i usunięcia uszkodzenia przez glikozylazę DNA [32]. Wytworzone miejsce AP (apurynowo/apirymidynowe) zostaje trawione przez endonukleazę, tworząc pojedyncze pęknięcie nici DNA, które następnie zostaje naprawione [42]. Istotną rolę w tym rodzaju naprawy DNA odgrywa domena BRCT białka PARP1, znajdująca się w rejonie automodyfikacyjnym enzymu, która ulega poli(ADP-rybozylacji) w wyniku aktywacji PARP, będącej następstwem rozpoznania przez ten enzym pęknięcia nici DNA. Cis-poli(ADP-rybozylacja) tej domeny umożliwia interakcje PARP1 z białkiem XRCC1 [29]. Ponadto, trans-poli(ADP-rybozylacja) XRCC1 zwiększa jego powinowactwo do innych białek naprawczych wchodzących w skład kompleksu PLX, uczestniczącego w mechanizmie naprawy typu BER [67].

HRR – MECHANIZM NAPRAWY DNA PRZEZ REKOMBINACJĘ HOMOLOGICZNĄ

Białka PARP1 i BRCA1 regulują aktywność głównego kompleksu MRN, który uczestniczący w naprawie DNA przez rekombinację homologiczną, rozpoznając dwuniciowe pęknięcia DNA oraz aktywując kinazę ATM, która wpływa na aktywność nukleazy CtIP umożliwiającą oddzielenie uszkodzonych końców 5'-3' i utworzenie pojedynczej nici DNA. Wykazano, że PARP1 w odpowiedzi na dwuniciowe pęknięcia DNA zwiększa aktywność białek wchodzących w skład kompleksu MRN: MRE11, NBS1 oraz kinazy ATM [27]. Aktywacja zarówno kinazy ATM, jak i ATR prowadzi do fosforylacji kinazy serynowo-treoninowej Chk1 czy Chk2, czego skutkiem jest unieruchomienie punktów kontrolnych S/G₂ oraz

G₂/M i zatrzymanie cyklu komórkowego [11]. Następnie kompleks MRN przycina końce DNA odsłaniając zakończenie 3', z którymi łączy się białko A replikacji DNA (RPA), aktywując kinazę ATR. Białko RAD51 tworzy nukleoproteinowy kompleks, dokonujący inwazji na nieuszkodzony, homologiczny fragment DNA [48]. Paralogi białka RAD51, takie jak: RAD51B, RAD51C, RAD51D, XRCC2 i XRCC3 wchodzą w skład białkowych kompleksów, dzięki którym możliwe jest zastąpienie białka RPA przez RAD51 na pojedynczej nici DNA [20]. Białko RAD51 uczestniczy w poszukiwaniu homologicznych sekwencji oraz bierze udział w inwazji drugiej nici DNA w połączeniach typu Holliday [67]. Istniejące dane literaturowe dotyczące udziału PARP1 w HRR są niejednoznaczne (ryc. 4) [33].

NHEJ – MECHANIZM NAPRAWY DNA PRZEZ NIEHOMOLOGICZNE ŁĄCZENIE KOŃCÓW DNA

PARP1 rozpoznaje dwuniciowe pęknięcia DNA i razem z podjednostkami kinazy DNA-PK (Ku70 oraz Ku80) wiąże się z wolnymi końcami DNA. Ponadto, PARP1 pobudza kinazę DNA-PK, która na zasadzie sprzężenia zwrotnego hamuje aktywność polimerazy poli(ADP-rybozy) [11]. Jak dotąd nie poznano mechanizmów kontrolujących wybór ścieżki naprawy w przypadku dwuniciowych pęknięć DNA [64]. Istniejące dane literaturowe wskazują, że PARP1 pełni rolę przełącznika między klasyczną a alternatywną naprawą NHEJ [67].

ZJAWISKO SYNTETYCZNEJ LETALNOŚCI W TERAPII PRZECIWNOWOTWOROWEJ A INHIBITORY PARP1

Syntetyczna letalność charakteryzuje się jednoczesnym brakiem aktywności co najmniej dwóch produktów biał-

Tabela 1. Badania kliniczne analizujące efektywność leczenia inhibitorami PARP1

	Data rozpoczęcia i zakończenia badania klinicznego	Faza badań klinicznych	Rodzaj interwencji	Zastosowanie
Olaparib	07.2011- 09.2015	I	AZD2281 + temozolomid	Nawracający glejak wielopostaciowy
	09.2012- 12.2016	I	AZD2281 + inhibitor PI3K	Potrójnie negatywny rak piersi lub surowiczy rak jajnika
	10.2014- 06.2017	I	AZD2281 + trabectedyna	Nieoperacyjny, zaawansowany mięsak
	11.2014- 11.2020	I/II	AZD2281 + inhibitor mTORC1/2 vs. AZD2281 + inhibitor kinazy Akt	Nawracający rak endometrium oraz rak jajnika
	08.2011- 06.2016	I/II	AZD2281 + gefatinib vs. gefatinib	Niedrobnokomórkowy rak płuc
	03.2015- 03.2016	II	AZD2281 + maleinian cediranibu	Nawracający rak jajnika, rak otrzewnej lub rak jajowodu
	08.2013- 01.2022	III	Monoterapia AZD2281 vs. placebo	Rak jajnika z mutacją genu <i>BRCA1/2</i> po chemioterapii opartej na związkach platyny
	04.2014- 02.2028	III	Monoterapia AZD2281 vs. placebo	Terapia adiuwantowa HER2(-) raka piersi z germinálną mutacją genu <i>BRCA1/2</i>
	12.2014- 07.2016	III	Monoterapia AZD2281 vs. placebo	Rak trzustki z germinálną mutacją genu <i>BRCA1/2</i>
	09.2013- 12.2017	III	AZD2281 + paklitaksel vs. paklitaksel	Zaawansowany rak żołądka
Weliparib	11.2011- 08.2019	I/II	ABT-888 + temozolomid + radioterapia	Rozlany glejak mostu
	10.2012- 10.2017	I/II	ABT-888 + chemioterapia + radioterapia vs. chemioterapia + radioterapia	Rak głowy i szyi
	10.2014- 08.2017	II	ABT-888 + karboplatyna + etopozyd	Drobnokomórkowy rak płuc
	11.2014- 01.2017	II	ABT-888 + chemioterapia +/- bewacizumab vs. chemioterapia +/-bewacizumab	Rak jelita grubego
	03.2012- 06.2015	II	ABT-888 + octan abirateronu + prednizon vs. octan abirateronu + prednizon	Przerzutowy rak prostaty oporny na leczenie hormonalne
	04.2012- 07.2017	II	gemcytabina+ cisplatyna + ABT-888 vs. gemcytabina+ cisplatyna	Rak trzustki z mutacją genu <i>BRCA1/2</i>
	12.2014- 06.2022	II/III	ABT-888 + temozolomid vs. temozolomid	Glejak wielopostaciowy z hipermetylacją promotora genu <i>MGMT</i>
	04.2014- 11.2016	III	ABT-888 + karboplatyna + paklitaksel vs. karboplatyna + paklitaksel	Zaawansowany lub przerzutowy niedrobnokomórkowy płaskonabłonkowy rak płuc
	07.2014- 01.2017	III	ABT-888 + karboplatyna+ paklitaksel vs. karboplatyna + paklitaksel	HER2(-) przerzutowy rak piersi lub nieoperacyjny rak piersi z mutacją genu <i>BRCA1/2</i>
	04.2014- 06.2016	III	ABT-888 + karboplatyna + paklitaksel + chemioterapia vs. karboplatyna + paklitaksel + chemioterapia	Potrójnie negatywny rak piersi
Rucaparib	11.2011- 03.2015	I/II	Monoterapia AG-014699 vs. placebo	Guzy lite, rak jajnika, rak jajowodu lub pierwotny rak otrzewnej wrażliwy na alkilujące związki platyny z mutacją germinálną genu <i>BRCA1/2</i>
	04.2014- 08.2016	II	Monoterapia AG-014699 vs. placebo	Rak trzustki z mutacją genu <i>BRCA1/2</i>
	02.2010- 05.2015	II	AG-014699 + cisplatyna vs. cisplatyna	Potrójnie negatywny rak piersi z mutacją genu <i>BRCA1/2</i>
	09.2012- 11.2016	II/III	Monoterapia AG-014699 vs. placebo	Nabłonkowy rak jajnika, rak jajowodu lub pierwotny rak otrzewnej wrażliwy na alkilujące związki platyny

	Data rozpoczęcia i zakończenia badania klinicznego	Faza badań klinicznych	Rodzaj interwencji	Zastosowanie
Niraparib	05.2014- 01.2016	I	MK-4827 + temozolomid	Oporny na leczenie mięsak Ewinga
	01.2015- 12.2019	I/II	MK-4827 + bewacizumab	Nabłonkowy rak jajnika, rak jajowodu oraz pierwotny rak otrzewnej wrażliwy na związku platyny
	03.2015- 01.2016	II	Monoterapia MK-4827	Zaawansowany, nawracający surowiczy rak jajnika, rak jajnika lub pierwotny rak otrzewnej po zastosowaniu trzech cykli chemioterapii
	06.2013- 10.2016	III	Monoterapia MK-4827 vs. placebo	Rak jajnika z mutacją germinálną genu <i>BRCA1/2</i> lub guzem wrażliwym na alkilujące związku platyny
	10.2013- 03.2016	III	MK-4827 vs. lek z wyboru lekarza	HER2(-) zaawansowany lub przerzutowy rak piersi z mutacją germinálną genu <i>BRCA1/2</i>
Talizoparib	05.2014- 01.2017	I/II	BMN-673 + temozolomid	Guzy lite oraz nawracające nowotwory u młodych pacjentów
	03.2015- 09.2017	II	Monoterapia BMN-673	Nieoperacyjny, zaawansowany lub przerzutowy rak endometrium
	12.2014- 12.2017	II	Monoterapia BMN-673	Terapia neoadiuwantowa raka piersi z mutacją genu <i>BRCA1/2</i>
	05.2015- 03.2018	II	BMN-673 + paklitaksel + karboplatyna	Przerzutowy lub nieoperacyjny guz lity
	04.2015- 04.2019	II	Monoterapia BMN-673	Potrójnie negatywny rak piersi z mutacją w genach naprawy DNA (z wyłączeniem genu <i>BRCA1/2</i>)
	10.2013- 06.2016	III	BMN-673 vs. lek z wyboru lekarza	Zaawansowany lub przerzutowy rak piersi z germinálną mutacją genu <i>BRCA1/2</i>

W tabeli znalazły się najważniejsze aktualnie prowadzone lub planowane badania kliniczne nad inhibitorami PARP1. Źródło: <https://www.clinicaltrials.gov/>

kowych określonych genów, czego skutkiem jest śmierć komórki, podczas gdy każdy z nich wyciszony indywidualnie nie wywołuje efektu letalnego. Podczas braku produktu białkowego jednego z genów, jego funkcja rekompensowana jest przez produkt białkowy drugiego genu, który uczestniczy w alternatywnym szlaku procesu, w którym uczestniczył pierwszy. Dlatego też bardzo często uszkodzenie aktywności jednego genu nie wpływa na żywotność komórki. Komórki nowotworowe przeważnie charakteryzują się obecnością mutacji w jednym z systemów naprawy DNA, alternatywnych względem siebie, powodując jego unieczynnienie, co może zostać wykorzystane w celu wywołania syntetycznej letalności w tych komórkach [62].

Badania prowadzone przez zespół H. E. Bryanta na liniach komórkowych chomika chińskiego z defektem w genach kodujących białka naprawy HRR (*XRCC2* lub *XRCC3*), wykazały efekt letalny w tych komórkach po zastosowaniu inhibitorów polimerazy poli(ADP-rybozy)-1. Inhibicja tego enzymu w komórkach z mutacjami w genach *BRCA1* i *BRCA2* powoduje zatrzymanie naprawy DNA przez system BER, czego skutkiem jest konwersja pęknięcia jednoniciowego do dwuniciowego, naprawianego przez niefunkcjonalny system naprawy HRR [9,16]. Dochodzi wówczas do nagromadzenia uszkodzeń DNA, na skutek niewydajnie zachodzącego procesu ich

naprawy, a następnie do śmierci komórki. Wykorzystanie inhibitorów PARP1 w celu wywołania zjawiska syntetycznej letalności może się okazać nowatorską terapią przeciwnowotworową w walce z nowotworami piersi czy jajnika, charakteryzujące się defektem genów *BRCA1* i *BRCA2* [23]. Zespół A. Ashwortha w badaniach prowadzonych na liniach komórkowych z mutacjami w genie supresorowym *PTEN* wykazał natomiast ich dużą śmiertelność po zastosowaniu olaparibu. Mutacje w genie *PTEN* występują w wielu rakach, takich jak rak jelita grubego, endometrium, piersi czy stercza. Występujące w nim defekty mogą zupełnie pozbawić komórkę naprawy DNA przez system naprawy HRR, w którym istotną rolę odgrywa białko RAD51, którego zmniejszony poziom ekspresji jest skorelowany z obniżonym poziomem ekspresji białka *PTEN*. Wówczas zastosowanie inhibitorów PARP1 wywołuje niefunkcjonalność szlaku BER, czego skutkiem jest przekonwertowanie jednoniciowych uszkodzeń DNA w dwuniciowe, które ze względu na niefunkcjonalność szlaku HRR pozostają nienaprawione, doprowadzając do śmierci komórki [46]. Późniejsze badania prowadzone na liniach komórkowych niedrobnokomórkowego raka płuca z niedoborem białka *ERCC1*, potwierdziły skuteczność zastosowania inhibitorów PARP1/2, takich jak olaparib, niraparib czy talizoparib, jako narzędzi do walki z tym typem nowotworu. Białko *ERCC1* należy do białek naprawczych sys-

Tabela 2. Wyniki zakończonych badań klinicznych, w których wykazano pozytywne efekty zastosowania inhibitorów białka PARP1. Do analizy włączono badania z grupą kontrolną. Natomiast badania oceniające bezpieczeństwo terapii oraz badania kliniczne nieposiadające grup kontrolnych nie zostały włączone do tabeli

Inhibitor PARP	Faza badań klinicznych	Rodzaj interwencji	Zastosowanie	Wyniki
Olaparib	II	AZD2281+ paklitaksel + karboplatyna vs. paklitaksel + karboplatyna	Nawracający surowicy rak jajnika po chemioterapii opartej na związkach platyny	Czas wolny od progresji: 12,2 vs. 9,6 miesięcy. Brak istotnie statystycznej różnicy w długości życia pacjentów [25]
	II	AZD2281 + cediranib vs. monoterapia AZD2281	Nawracający rak jajnika wrażliwy na związki platyny	Czas wolny od progresji: 17,7 vs. 9 miesięcy [37]
	II	AZD2281 vs. placebo	Nawracający surowicy rak jajnika po chemioterapii opartej na związkach platyny	Czas wolny od progresji: mutacja <i>BRCA1/2</i> : 11,2 vs. 4,3 miesięcy brak mutacji <i>BRCA1/2</i> : 7,4 vs. 5,5 miesięcy Brak istotnie statystycznej różnicy w długości życia pacjentów [36]
	II	AZD2281 (200 mg) vs. AZD2281 (400 mg) vs. pegylowana doksorubicyna liposomalna	Nawracający rak piersi z germinálną mutacją <i>BRCA1/2</i> po chemioterapii opartej na związkach platyny	Brak istotnie statystycznych różnic w czasie wolnym od progresji [26]
	II	AZD2281 + paklitaksel vs. paklitaksel	Nawracający lub przerzutowy rak żołądka	Długość życia: 13,1 vs. 8,3 miesięcy. Brak istotnie statystycznych różnic w czasie wolnym od progresji [6]
Weliparib	I	ABT-888 (20 mg) + temozolomid vs. ABT-888 (40mg) + temozolomid vs. temozolomid	Przerzutowy czerniak	Czas wolny od progresji: 113 vs. 110 vs. 60 dni [2]

temu naprawy DNA przez NER, mutacja genu kodującego to białko w połączeniu z jednym z inhibitorów PARP1/2 spowodowała zatrzymanie cyklu komórkowego w fazie G₂/M i skierowanie komórki na drogę apoptozy [55].

Połączenia inhibitorów PARP1 wywołujących zjawisko syntetycznej letalności z cytostatykami, takimi jak cisplatylna, karboplatyna czy temozolomid, stało się podstawą większości terapii przeciwnowotworowych w bieżących badaniach klinicznych opisanych niżej. Wymienione cytostatyki wywołują dodatkowe uszkodzenia DNA, a нефункционалне системы naprawy DNA w komórkach nowotworowych nie mogą ich usunąć, kumulacja nieprawidłowości wywołuje efekt letalny komórek nowotworowych. Tego typu skojarzone terapie pozwalają na jak najbardziej wybiórcze, celowane działanie, wywołujące jak najmniej działań niepożądanych [46,47,55].

OBCENIE STOSOWANE INHIBITORY PARP1 W BADANIACH KLINICZNYCH

Skuteczność inhibitorów PARP1 ocenia się w wielu badaniach klinicznych. Bezpieczeństwo i skuteczność leczenia z wykorzystaniem inhibitorów PARP1 są analizowane w badaniach obejmujących terapię skojarzoną z lekami alkilującymi, inhibitorami kinaz, antagonistami receptorów wzrostu lub jako samodzielny lek w monoterapii. W tabeli 1 przedstawiono informacje o prowadzonych lub planowanych badaniach klinicznych inhibitorów PARP1, a w tab. 2 wyniki badań klinicznych, które już ukończono.

Obecnie na rynku znajduje się jedyny przedstawiciel tej grupy leków – olaparib. W grudniu 2014 r. został warunkowo dopuszczony do obrotu, po uzyskaniu zgody Amerykańskiej Agencji Żywności i Leków oraz Europejskiej Agencji Leków. W dalszej części artykułu omówiono inhibitory, które znajdują się w II lub III fazie badań klinicznych [17].

AZD2281

Olaparib (AstraZeneca) jest przedstawicielem inhibitorów PARP opartych na strukturze ftalazynonu. Modyfikacje szkieletu ftalazynonu poprawiły profil farmakokinetyczny tej cząsteczki: atom fluoru w cząsteczce olaparibu zwiększa aktywność inhibicyjną względem PARP1, a ugrupowanie diacylopiperydynowe oraz przyłączony do niego alkil cyklopropylowy zwiększają rozpuszczalność i biodostępność związku po podaniu doustnym [14]. Stała inhibicji dla PARP1 i PARP2 wynosi odpowiednio 5 i 1 nM [17]. Zastosowanie preparatu Lynparza (nazwa handlowa olaparibu) w leczeniu nabłonkowego raka jajnika, jajowodu oraz pierwotnego raka otrzewnej z mutacją w genie *BRCA1/2*, wrażliwych na alkilujące związki platyny, uzyskało pozytywną opinię Komitetu ds. Produktów Lecznictw Stosowanych u Ludzi. Lynparza może być stosowana w monoterapii zaawansowanego raka jajnika u osób z germinálną mutacją genu *BRCA1/2*, które uprzednio zostały poddane trzem cyklom chemioterapii. Jeśli kolejne dwa badania kliniczne będące w III fazie potwierdzą skuteczność leku Lynparza, to otrzyma zgodę na dalsze stosowanie w terapii przeciwnowotworowej [17,40,41].

ABT-888

Weliparib (AbbVie) jest inhibitorem PARP1/2, opartym na strukturze benzimidazolu, występującym w postaci dwóch chiralnych enancjomerów. Dzięki oporności na rozkład w przewodzie pokarmowym, może być przyjmowany doustnie [12]. Stałe inhibicji dla PARP1 i PARP2 wynoszą odpowiednio 5,2 i 2,9 nM [64].

AG-014699

Rucaparib (Pfizer/ClovisOncology) jest pochodną trójcyklicznego indolu, zawierającego pierścień δ -laktamowy. Stała inhibicji dla PARP1 wynosi 1,4 nM, a dla PARP2 nie przekracza 5 nM. Podobnie jak weliparib może być podawany doustnie. Rucaparib był pierwszym inhibitorem PARP, który stosowano z temozolomidem w I fazie badań klinicznych [64].

MK-4827

Szkielec cząsteczki niraparibu (Merck) jest pochodną indazolu. IC_{50} (stężenie inhibitora niezbędne do połowicznego zahamowania aktywności enzymu) wynosi 3,8 nM dla PARP1 oraz 2,1 nM dla PARP2 [17].

BMN-673

Początkowo talazoparib (BioMarin) będący pochodną ftalazyfonu, zakwalifikowano do badań klinicznych, mających na celu określić jego skuteczność w złośliwych nowotworach krwi. Jest szczególnie skuteczny wobec komórek zawierających mutację w genie *PTEN*. Stała inhibicji dla PARP 1 wynosi 1,2 nM, a dla PARP2 – 0,9 nM. Obecnie prowadzone są badania nad skutecznością talazoparibu w walce z rakiem piersi i jajnika [17].

CEP-9722

CEP-9722 jest nieaktywnym prekursorem CEP-8983 (pochodna pirolokarbazolu), silnego inhibitora PARP1 i PARP2 (IC_{50} odpowiednio 20 i 6 nM). Mimo niskich wartości IC_{50} , CEP-8983 odznaczał się małą aktywnością *in vivo*. Główną przyczyną była niewielka biodostępność CEP-8983 po podaniu doustnym wynikająca ze słabej rozpuszczalności związku. Substytucja 1-metylopiperazyną azotu ugrupowania pirolowego CEP-8983 zwiększyła rozpuszczalność proleku, umożliwiając jego zastosowanie w badaniach klinicznych. CEP-9722 był testowany pod kątem skuteczności w guzach litych. W badaniu I fazy zrekrutowano 26 osób cierpiących m.in. na raka piersi, jajnika, jelita grubego i poddano je 14-dniowej monoterapii CEP-9722, a następnie terapii skojarzonej z temozolomidem przez 28 dni. Pomimo zwiększonej biodostępności w porównaniu do CEP-8983, skuteczność kliniczna CEP-9722 ograniczyła się do poprawy zdrowia jednego pacjenta i zatrzymania rozwoju choroby u czterech innych pacjentów [54].

BSI-201

Iniparib (Sanofi), mimo posiadanego farmakoforu nikotynamidu (pochodna benzamidu), nie jest skutecznym inhibitorem PARP. Wbrew zachęcającym wynikom II fazy badań klinicznych, badających bezpieczeństwo i efektywność leczenia chorych z potrójnie negatywnym rakiem piersi, faza III wykazała, że iniparib nie wydłuża czasu przeżycia uczestników badania klinicznego, u których rozwinął się potrójnie negatywny rak piersi albo niedrobnokomórkowy rak płuca. Początkowo uważano, że iniparib jest inhibitorem niekompetycyjnym, wypierającym atom cynku z palca cynkowego ZnI cząsteczki PARP1. Późniejsze analizy wskazywały na brak aktywności inhibitorowej względem PARP1 [52,60].

Powyższe związki są najczęściej omawianymi w literaturze przedstawicielami inhibitorów PARP1. Oprócz wymienionych inhibitorów PARP1 znajduje się wiele małych cząsteczek, których struktury są nieustannie udoskonalane. Dzięki postępom technik krystalizacji białek, struktura białek jest oznaczana w bardziej precyzyjny sposób. Otrzymane dane mogą posłużyć do projektowania nowych małych cząsteczek hamujących aktywność enzymatyczną białek z rodziny PARP, które będą się charakteryzowały lepszą biodostępnością, aktywnością biologiczną, swoistością działania a zarazem obniżoną kumulacją w organizmie i niską toksycznością.

MOLEKULARNE PODSTAWY UDZIAŁU BIAŁKA PARP1 W METABOLIZMIE KOMÓRKI, TRANSKRYPCJI, STARZENIU, ŚMIERCI KOMÓRKI JAKO CELE TERAPEUTYCZNE DLA FARMAKOLOGII

Ważnym elementem metabolizmu komórkowego są reakcje enzymatyczne wykorzystujące NAD^+ , będący również substratem PARP1. Aktywacja tego enzymu, w następstwie pojawienia się bodźca genotoksycznego, powoduje obniżenie stężenia NAD^+ o 80-90% w ciągu kilku minut [4]. Zubożenie puli NAD^+ upośledza podstawowe procesy metaboliczne komórki, m.in. glikolizę i cykl Krebsa, co doprowadza do zahamowania łańcucha oddechowego, który jest głównym źródłem adenozyntrifosforanu (ATP) w komórce. Ponadto, nagły wzrost zapotrzebowania na NAD^+ wymusza jego syntezę przez reakcje endoergiczne wykorzystujące ATP. Przewlekła aktywacja PARP1 wyczerpuje zatem dwójako wewnętrzne zasoby ATP, tworząc mechanizm sprzężenia zwrotnego [24].

Przewlekły deficyt energetyczny komórki może doprowadzić do jej nekrozy. Spadek mitochondrialnej syntezy ATP jest również charakterystyczną cechą parthanatos – śmierci komórki wywołanej aktywacją PARP1. Parthanatos, którego nazwa pochodzi od słów „par” – polimer ADP-rybozy i „thanatos” – śmierć komórki jest wynikiem syntezy polimeru PAR, który ulega przemieszczeniu do mitochondriów, gdzie powoduje uwolnienie czynnika indukującego apoptozę (AIF) [3,65]. W fizjologicznych warunkach AIF bierze udział w fos-

forylacji oksydacyjnej w mitochondrium, jednak jego obecność w jądrze komórkowym powoduje kondensację oraz fragmentację chromatyny. Stosunkowo często parthanatos był obserwowany w czasie śmierci komórek nerwowych zachodzącej w następstwie ich podania działaniu reaktywnych form tlenu, czynników alkilujących czy agonistów receptora *N*-metylo-*D*-asparaginowego w warunkach *in vitro*. W mysich modelach choroby Parkinsona, ogniskowym niedokrwieniu mózgu czy udarze, neurony wykazywały typowe dla parthanatos cechy, takie jak aktywacja PARP1 i przemieszczenie AIF do mitochondriów, a delecja genu *PARP1* lub inhibicja aktywności enzymatycznej PARP1 zapobiegała ich śmierci, dlatego też inhibitory PARP1 są brane pod uwagę jako potencjalne czynniki terapeutyczne wymienionych chorób [65].

Jednym z inhibitorów PARP, który był przebadany pod kątem zastosowania w stanach niedotlenienia tkanek oraz reperfuzy, jest INO-1001. Po zachęcających badaniach na zwierzętach, zaproponowano użycie tego związku w przypadku zawału mięśnia sercowego oraz jako leku ograniczającego występowanie możliwych komplikacji po operacjach z użyciem płucoserca. Niestety, mimo dobrych rezultatów badań I fazy, producent zaniechał dalszych badań klinicznych z udziałem INO-1001 [49,61]. Pomimo braku efektywności tego związku w pierwszych badaniach klinicznych, udział białka PARP1 w szlakach odpowiedzialnych za śmierć komórki sprawia, że inhibitory PARP1 nadal są obiecującymi związkami w leczeniu schorzeń związanych z nadmierną śmiercią komórek [3].

W komórkach nowotworowych często dochodzi do mutacji genów odpowiedzialnych za koordynację sygnałów w metabolizmie komórki, np. genu kodującego kinazę 3-fosfatydyloinozytolu (*PI3K*), mających na celu usprawnienie podziałów komórek przez skierowanie strumieni metabolicznych do szlaków anabolicznych [24]. Przewaga przemian anabolicznych faworyzuje szybsze podziały mitotyczne, aczkolwiek uniemożliwia prawidłowe reagowanie na stres metaboliczny, jakim jest brak składników odżywczych w mikrośrodowisku rozwijającego się guza. Komórki nowotworowe, chcąc uniknąć nekrozy spowodowanej brakiem podstawowych substratów do biosyntezy, wykorzystują proces autofagii. Autofagia to proces obejmujący reakcje degradacji organelli komórkowych oraz składników cytoplazmy przez enzymy lizosomalne. Degradacja organelli jest stopniowa i we wczesnym stadium całkowicie odwracalna [18]. PARP1 jest jednym z białek wpływających na zjawisko autofagii: przez obniżenie stężenia ATP aktywuje kinazę AMPK, fosforylującą kompleks mTOR1 [15]. Fosforylacja białka mTOR wiąże się z utratą jego funkcji hamowania autofagii, co stymuluje powstawanie autofagosomu. Inhibitory PARP1 blokują pośrednio fosforylację kompleksu mTOR1, czego rezultatem jest zablokowanie powstawania autofagosomu [15]. Inhibicja autofagii uniemożliwiłaby pozyskiwanie metabolitów niezbędnych do dalszej proliferacji, czego skutkiem jest

zatrzymanie rozwoju nowotworu. Zastosowanie inhibitorów PARP1 oraz leków-antymetabolitów może się charakteryzować bardzo dobrą skutecznością leczenia wielu nowotworów przez hamowanie zdolności komórek nowotworowych do autofagii [24].

PARP1 reguluje aktywność innych enzymów, które do uzyskania optymalnej aktywności katalitycznej wymagają obecności NAD⁺ np. sirtuin. PARP1 i SIRT1 (białko z rodziny sirtuin) wzajemnie hamują swoją aktywność. SIRT1 to deacetylaza histonów typu III [5]. PARP1 zużywa duże ilości NAD⁺ w czasie katalizy, co zmniejsza dostępność substratu dla SIRT1 [4]. Aktywność PARP1 jest zdecydowanie wyższa dlatego też SIRT1 hamuje aktywność PARP1 prawdopodobnie przez deacetylację cząsteczki niż przez współzawodniczenie o dostęp do substratu [4,34]. Aktywność SIRT1 jest dodatnio skorelowana z długością życia myszy, na których przeprowadzono badania - nadekspresja białka spowodowała wydłużenie długości życia myszy [59,69]. Ponadto mysie modele nadekspresji SIRT1 charakteryzują się szczuplejszą budową ciała, szybszym metabolizmem, zwiększoną tolerancją glukozy, zmniejszonym stanem zapalnym oraz mniejszą podatnością zachorowania na raka jelita grubego [42]. W mysich modelach *PARP1*^{-/-} zaobserwowano wzrost stężenia NAD⁺ oraz nadekspresję SIRT1. Takie myszy przypominały te z nadekspresją SIRT1 – stwierdzono obniżenie masy ciała, zwiększoną aktywność metaboliczną i obniżone ryzyko zachorowania na choroby metaboliczne [42]. Aktywacja PARP1 hamuje aktywność SIRT1, przez co przyczynia się do zmniejszonej przemiany metabolicznej, a to wpływa na procesy związane ze starzeniem się myszy [5]. Inhibicja farmakologiczna może się przyczynić do poprawy stanu pacjentów cierpiących na choroby metaboliczne. Dalsze badania z wykorzystaniem modeli zwierzęcych powinny określić perspektywy inhibicji PARP1 w procesie starzenia [69].

PARP1 oprócz bezpośredniego wpływu na metabolizm, bierze także udział w regulacji transkrypcji genów. Możliwymi mechanizmami regulacji transkrypcji przez PARP1 jest modulacja struktury chromatyny, wiązanie się do sekwencji wzmacniających lub regulowanie transkrypcji. Immunoprecypitacja chromatyny linii MCF-7 (linia komórek gruczolakoraka piersi) z mikromacierzową analizą sekwencji DNA komórek wykazała, że PARP1 jest związany z 90% sekwencji promotorowych genów (miejsce wiązania znajduje się około 120 pz przed miejscem startu transkrypcji), których ekspresja jest zależna od polimerazy RNA II. Nie jest to jednak rzeczywiste odzwierciedlenie wpływu PARP1 na ekspresję poszczególnych genów, ponieważ transkrypcja tylko 3,5% genów jest zależna od wiązania się PARP1 do promotora [31]. W modulowaniu struktury chromatyny w obrębie sekwencji promotorowych genów, których ekspresja zależy od PARP1 wymagana jest aktywność enzymatyczna tego białka. Enzym ten modyfikuje histony, dołączając reszty ADP-rybozy. Silnie ujemny ładunek PAR powoduje osłabienie interakcji histon-DNA, co rozluźnia strukturę chromatyny i umożliwia dostęp

czynników transkrypcyjnych, aktywując transkrypcję. Ponadto, PARP1 może wpływać na zmianę składu chromatyny m.in. przez rywalizację z histonem łącznikowym H1 o miejsce wiązania z DNA. Dużą gęstością histonu H1 charakteryzują się nieaktywne transkrypcyjnie rejony heterochromatyny. Wyparcie histonu H1 z chromatyny zawierającej sekwencje promotorowe genów jest związane z aktywacją transkrypcji genów [32].

Umiejscowione w jądrze komórkowym białko PARP1, ulegające aktywacji w wyniku różnego rodzaju wewnątrzkomórkowych procesów, takich jak transkrypcja, replikacja, jak również w wyniku odpowiedzi komórki na bodźce zewnątrzkomórkowe (cytokiny, morfogeny) uczestniczy także w kontrolowaniu prawidłowego rozwoju organizmów oraz procesie specyfikacji i różnicowania komórek. Akumulacja polimerów poli(ADP-rybozy) oraz aktywacja PARP1 odgrywają ważną rolę w rozwoju muszki owocowej (*Drosophila melanogaster*), gdzie kontrolują stadium przedpoczwarkowe i proces przeobrażenia [30,63] oraz w czasie dojrzewania mysich oocytów, kontrolując prawidłowy przebieg mejozy [68]. Aktywność PARP1 jest związana również z różnicowaniem komórek w różne typy. Proces różnicowania embrionalnych komórek macierzystych w komórki fibroblastów obejmuje ADP-rybozylację czynnika transkrypcyjnego SOX2 (SRY-box2), który reguluje ekspresję czynnika wzrostu fibroblastów 4 (FGF4) [19], a różnicowanie się w kierunku ektodermy wymaga ADP-rybozylacji białka heterochromatynowego 1 α , umożliwiającego ekspresję genów swoistych dla tego listka zarodkowego [56].

Lodhi i wsp. wykazali, że PARP1 może kontrolować reaktywację transkrypcji po zakończeniu mitozy. W czasie podziału komórki PARP1 jest związany z chromatyną, głównie w pobliżu miejsca startu transkrypcji. Kiedy podział zostaje ukończony, aktywność PARP1 wzrasta, a powstające PAR powodują rozluźnienie chromatyny. Zauważono, że PARP1 wiąże się do innych genów w czasie mitozy niż w przebiegu interfazy. Geny, które były związane z PARP1 w czasie mitozy, ale nie w czasie interfazy, należały do genów aktywnie transkrybowanych. Sugeruje to, że PARP1 może być epigenetycznym znacznikiem aktywnych genów w czasie różnicowania komórek i jest niezbędny do szybkiej reaktywacji transkrypcji po podziale [38].

Opublikowane niedawno badania wskazują również na aktywację PARP1 w procesie różnicowania się mezenchymalnych komórek macierzystych w komórki osteoblastów, sugerując możliwą rolę w procesie przebudowy kości. Inne doniesienia również wskazują na udział PARP1 w metabolizmie kości. PARP1 pełni funkcję represora genów kodujących czynniki uczestniczące w resorpcji kości (TRACP oraz TCIRG1) w czasie osteoklastogenezy indukowanej przez RANKL. Modulowanie aktywności PARP1 potencjalnie umożliwia kontrolę nad procesem różnicowania się różnych typów komórek. Inhibicja PARP1 może być przydatna w przyszłych zastosowaniach medycyny regeneracyjnej [57,58].

Ponadto, PARP1 bierze udział w regulacji ekspresji genów przez współdziałanie z różnymi czynnikami transkrypcyjnymi, m.in. Sp1, HES1, B-Myb i Oct-1, jednak rola białka PARP1 jest najlepiej poznana w kanonicznym szlaku NF- κ B [32]. Pierwsze doniesienia o modulacji odpowiedzi immunologicznej przez PARP1 zostały oparte o badania *in vivo*. Mysi model pozbawiony obu alleli genu *PARP1* odznacza się niższym stężeniem mediatorów prozapalnych, które są regulowane przez kanoniczny szlak NF- κ B. Czynnikiem transkrypcyjny NF- κ B składa się z dwóch podjednostek: p65 i p50, które ulegają ekspresji w prawie wszystkich typach komórek zwierzęcych [22]. Aktywacja tego szlaku towarzyszy stanom zapalnym oraz uczestniczy w regulowaniu odpowiedzi immunologicznej. Aktywacja NF- κ B obejmuje fosforylację podjednostki inhibitorowej I κ B przez kinazę IKK, czego wynikiem jest degradacja I κ B i przemieszczenie czynnika transkrypcyjnego do jądra. Jego wiązanie z chromatyną umożliwia ekspresję wielu genów, których produkty białkowe uczestniczą w nieswoistej odpowiedzi immunologicznej m.in. cytokiny prozapalne (interleukiny IL-1, -2, -6, -12 i czynnik martwicy nowotworów – TNF- α), chemokiny (IL-8, MCP1) oraz cząsteczki adhezyjne (ICAM1, VCAM-1 i selektyny) [1,42].

Białko PARP1 aktywowane w wyniku uszkodzeń DNA, będących następstwem wzmożonego wytwarzania reaktywnych form tlenu i azotu towarzyszącym stanom zapalnym, tworzy heteromultimeryczny kompleks z ligazą PIASy, kinazą IKK γ oraz ATM, które mają miejsca wiążące PAR i uczestniczą w degradacji podjednostki inhibitorowej I κ B. Aktywowany NF- κ B ulega translokacji do jądra, gdzie PARP1 oddziałuje z jego dwiema podjednostkami. Interakcja jest niezbędna do inicjacji transkrypcji kontrolowanej przez oba białka. Acetylacja PARP1 przez acetylazę histonów p300/CBP, w wyniku transdukcji sygnałów prozapalnych, wzmacnia te oddziaływania [22]. ADP-rybozylacja nukleosomów przez PARP1, wywołana przez stymulację lipopolisacharydem, obejmująca regiony promotorowe genów *IL1*, *MIP β* , *TNF α* oraz *CSF2*, ułatwia wiązanie się NF- κ B do promotorów powyższych genów w jądrach komórkowych makrofagów i mikrogleju. Dlatego też inhibicja aktywności PARP1 umożliwia obniżanie ekspresji genów, dla których białko to pełni funkcję aktywatora w procesie ich transkrypcji [43,44]. Powstające mediatory prozapalne zwiększają wytwarzanie wysoce reaktywnych czynników uszkadzających DNA, będących częścią sprzężenia zwrotnego, utrzymującego przewlekły stan zapalny, w którym główną rolę może odgrywać PARP1. Przewlekły stan zapalny odgrywa ważną rolę w patogenezie chorób o podłożu immunologicznym lub autoimmunologicznym. Jednym z prawdopodobnych mechanizmów tłumaczącym udział tego białka w autoagresji układu immunologicznego jest udział w apoptozie limfocytów regulatorowych, których zadaniem jest wyciszenie nieprawidłowej odpowiedzi immunologicznej. Modele zwierzęce chorób autoimmunologicznych, takich jak reumatoidalne zapalenie stawów, stwardnienie rozsiane, alergja oraz

cukrzyca typu 1, ujawniły, że stosowanie inhibitorów PARP1 wiąże się z poprawą stanu tych zwierząt [45]. Jeśli dalsze badania na zwierzętach oraz na ludzkich liniach komórkowych przyniosą zadawalające rezultaty, inhibitory PARP1 mogą się okazać doskonałym narzędziem modulowania odpowiedzi immunologicznej we wspomnianych chorobach [7].

Starzenie się organizmu jest procesem wieloetapowym, kontrolowanym przez wiele czynników, wśród głównych wymienia się m.in. stres oksydacyjny, mutacje DNA oraz niestabilność genomową. Skutki działania wymienionych czynników muszą być nieustannie eliminowane w komórce, aby umożliwić skuteczną ochronę informacji genetycznej. Strukturami odpowiedzialnymi za utrzymanie stabilności genomu są telomery, na których długość ma wpływ białko PARP1. Ich zadaniem jest ochrona informacji genetycznej w procesie replikacji, gdzie każdorazowo traczone są nukleotydy znajdujące się na końcu nici oraz uniemożliwienie niekontrolowanego łączenia się wolnych końców DNA. Sekwencje telomerowe są związane z białkami niehistonowymi, które tworzą kompleks zwany szeltryną składający się z dwóch rodzajów białek: bezpośrednio wiążących DNA (TRF1, TRF2, POT1) oraz stabilizujących strukturę kompleksu (RAP1, TPP1, TIN2) [7,21]. Szeltryna reguluje strukturę telomerów przez interakcje z białkami naprawy DNA oraz telomerazą, która ma właściwości odwrotnej transkryptazy [7]. Telomeraza wydłużająca końce telomerów na bazie matrycy RNA jest aktywna w niewielkiej liczbie komórek, m.in. w komórkach macierzystych. Po określonej liczbie podziałów komórek somatycznych, telomery są za krótkie, aby uczestniczyć w interakcjach z innymi białkami i komórka ulega starzeniu.

PIŚMIENNICTWO

- [1] Altmeyer M., Messner S., Hassa P., Fey M., Hottiger M.O.: Molecular mechanism of poly(ADP-ribosylation) by PARP1 and identification of lysine residues as ADP-ribose acceptor sites. *Nucleic Acids Res.*, 2009; 37: 3723-3738
- [2] Azvolinsky A.: EMCC: veliparib plus temozolomide in metastatic melanoma trends toward increased PFS but results are not statistically significant. <http://www.cancernetwork.com/oncology-journal/emcc-veliparib-plus-temozolomide-metastatic-melanoma-trends-toward-increased-pfs-results-are-not> (12.04.2015)
- [3] Baek S.H., Bae O.N., Kim E.K., Yu S.W.: Induction of mitochondrial dysfunction by poly(ADP-ribose) polymer: Implication for neuronal cell death. *Mol. Cells*, 2013; 36: 258-266
- [4] Bai P., Canto C.: The role of PARP-1 and PARP-2 enzymes in metabolic regulation and disease. *Cell Metab.*, 2012; 16: 290-295
- [5] Bai P., Canto C., Oudart H., Brunyanszki A., Cen Y., Thomas C., Yamamoto H., Huber A., Kiss B., Houtkooper R.H., Schoonjans K., Schreiber V., Sauve A.A., Menissier-de Murcia J., Auwerx J.: PARP-1 inhibition increases mitochondrial metabolism through SIRT1 activation. *Cell Metab.*, 2011; 13: 461-468
- [6] Bang Y.J., Im S.A., Lee K.W., Cho J.Y., Song E.K., Lee K.H., Kim Y.H., Park J.O., Chun H.G., Zang D.Y., Fielding A., Rowbottom J., Kim W.H.: Olaparib plus paclitaxel in patients with recurrent or metastatic gastric cancer: a randomized, double-blind phase II study [abstract]. *J. Clin. Oncol.*, 2013; 31 (Suplement): a4013
- [7] Beneke S., Cohausz O., Malanga M., Boukamp P., Althaus F., Bürkle A.: Rapid regulation of telomere length is mediated by poly(ADP-ribose) polymerase-1. *Nucleic Acids Res.*, 2008; 36: 6309-6317
- [8] Brandsma I., van Gent D.C.: Pathway choice in DNA double strand break repair: observations of a balancing act. *Genome Integr.*, 2012; 3: 9
- [9] Bryant H.E., Schultz N., Thomas H.D., Parker K.M., Flower D., Lopez E., Kyle S., Meuth M., Curtin N.J., Helleday T.: Specific killing of BRCA2-deficient tumours with inhibitors of poly(ADP-ribose) polymerase. *Nature*, 2005; 434: 913-917
- [10] Citarelli M., Teotia S., Lamb R.S.: Evolutionary history of the poly(ADP-ribose) polymerase gene family in eukaryotes. *BMC Evol. Biol.*, 2010; 10: 308
- [11] Dębska S., Kubicka J., Czyżykowski R., Habib M., Potemski P.: Inhibitory PARP – podstawy teoretyczne i zastosowanie kliniczne. *Postępy Hig. Med. Dośw.*, 2012; 66: 311-321
- [12] Donawho C.K., Luo Y, Luo Y, Penning T.D., Bauch J.L., Bouska J.J., Bontcheva-Diaz V.D., Cox B.F., DeWeese T.L., Dillehay L.E., Ferguson D.C., Ghoreishi-Haack N.S., Grimm D.R., Guan R., Han E.K. i wsp.: ABT-888, an orally active poly(ADP-ribose) polymerase inhibitor that potentiates DNA-damaging agents in preclinical tumor models. *Clin. Cancer Res.*, 2007; 13: 2728-2737
- [13] Donizy P., Pietrzyk G., Halon A., Kozyra C., Gansukh T., Lage H., Surowiak P., Matkowski R.: Nuclear-cytoplasmic PARP-1 expression

Linie komórkowe, w których aktywność PARP1 jest farmakologicznie hamowana albo ekspresja PARP1 została wyciszona w wyniku interferencji RNA, charakteryzują się krótszymi sekwencjami telomerowymi. Aktywność telomerazy w tych komórkach nie ulega obniżeniu, a za skrócenie długości telomerów jest odpowiedzialna modyfikacja białka TRF2 [21]. Po przyłączeniu polimeru PAR, siła wiązania kompleksu szeltryny ulega osłabieniu, czego rezultatem jest rozpad telomerów. Jeśli inhibicja PARP1 ustanie, długość telomerów powróci do wyjściowego stanu. Odwracalność tego procesu wskazuje, że białko PARP pełni niezwykle ważną funkcję w regulacji długości telomerów [7,21].

PODSUMOWANIE

Rodzina białek PARP charakteryzuje się pleiotropowym działaniem. Poszczególne białka PARP biorą udział w naprawie DNA, modulacji struktury chromatyny, transkrypcji genów, utrzymaniu stabilności genomu oraz innych procesach metabolicznych. Dotychczasowe badania wskazują, że inhibicja PARP1 przynosi korzystne skutki w walce z nowotworami oraz chorobami związanymi ze stresem oksydacyjnym i odpowiedzią immunologiczną. W ciągu trzech dekad zaprojektowano wiele struktur chemicznych, umożliwiających hamowanie aktywności enzymatycznej PARP1. Prowadzone są badania kliniczne nad inhibitorami PARP1, głównie w kontekście nowotworów, aczkolwiek prowadzone przez kolejne lata badania mogą potwierdzić ich skuteczność w innych schorzeniach. W wyniku coraz większej zachorowalności na choroby wieku starczego, inhibitory PARP1 coraz częściej są rozpatrywane jako jeden ze sposobów ich leczenia.

as an unfavorable prognostic marker in lymph node-negative early breast cancer: 15-year follow-up. *Oncol. Rep.*, 2014; 31: 1777-1787

[14] Ekblad T., Camaioni E., Schüler H., Macchiarulo A.: PARP inhibitors: polypharmacology versus selective inhibition. *FEBS J.*, 2013; 280: 3563-3575

[15] Ethier C., Tardif M., Arul L., Poirier G.G.: PARP-1 modulation of mTOR signaling in response to a DNA alkylating agent. *PLOS One*, 2012; 7: e47978

[16] Farmer H., McCabe N., Lord C.J., Tutt A.N., Johnson D.A., Richardson T.B., Santarosa M., Dillon K.J., Hickson I., Knights C., Martin N.M., Jackson S.P., Smith G.C., Ashworth A.: Targeting the DNA repair defect in *BRCA* mutant cells as a therapeutic strategy. *Nature*, 2005; 434: 917-921

[17] Ferraris D.V.: Evolution of poly(ADP-ribose) polymerase-1 (PARP-1) inhibitors. From concept to clinic. *J. Med. Chem.*, 2010; 53: 4561-4584

[18] Galluzzi L., Vitale I., Abrams J.M., Alnemri E.S., Baehrecke E.H., Blagosklonny M.V., Dawson T.M., Dawson V.L., El-Deiry W.S., Fulda S., Gottlieb E., Green D.R., Hengartner M.O., Kepp O., Knight R.A. i wsp.: Molecular definitions of cell death subroutines: recommendations of the Nomenclature Committee on Cell Death 2012. *Cell Death Differ.*, 2012; 19: 107-120

[19] Gao F., Kwon S.W., Zhao Y., Jin Y.: PARP1 poly(ADP-ribosyl)ates Sox2 to control Sox2 protein levels and *FGF4* expression during embryonic stem cell differentiation. *J. Biol. Chem.*, 2009; 284: 22263-22273

[20] Golmard L., Caux-Moncoutier V., Davy G., Ageeli E.A., Poirat B., Tirapo C., Michaux D., Barbaroux C., d'Enghien C.D., Nicolas A., Castéra L., Sastre-Garau X., Stern M., Houdayer C., Stoppa-Lyonnet D.: Germline mutation in the *RAD51B* gene confers predisposition to breast cancer. *BMC Cancer*, 2013; 13: 484

[21] Gomez M., Wu J., Schreiber V., Dunlap J., Dantzer F., Wang Y., Liu Y.: PARP1 is a TRF2-associated poly(ADP-ribose) polymerase and protects eroded telomeres. *Mol. Biol. Cell*, 2006; 17: 1686-1696

[22] Hassa P.O., Haenni S.S., Buerki C., Meier N.I., Lane W.S., Owen H., Gersbach M., Imhof R., Hottiger M.O.: Acetylation of poly(ADP-ribose) polymerase-1 by p300/CREB-binding protein regulates co-activation of NF- κ B-dependent transcription. *J. Biol. Chem.*, 2005; 280: 40450-40464

[23] Hutchinson L.: Targeted therapies: PARP inhibitor olaparib is safe and effective in patients with *BRCA1* and *BRCA2* mutations. *Nat. Rev. Clin. Oncol.*, 2010; 7: 549

[24] Jin S., DiPaola R.S., Mathew R., White E.: Metabolic catastrophe as a means to cancer cell death. *J. Cell Sci.*, 2007; 120: 379-383

[25] Kaufman B., Shapira-Frommer R., Schmutzler R.K., Audeh M.W., Friedlander M., Balmana J., Mitchell G., Fried G., Stemmer S.M., Hubert A., Rosengarten O., Steiner M., Loman N., Bowen K., Fielding A. i wsp.: Olaparib monotherapy in patients with advanced cancer and a germline *BRCA1/2* mutation. *J. Clin. Oncol.*, 2015; 33: 244-250

[26] Kaye S.B., Lubinski J., Matulonis U., Ang J.E., Gourley C., Karlan B.Y., Amnon A., Bell-McGuinn K.M., Chen L.M., Friedlander M., Safra T., Vergote I., Wickens M., Lowe E.S., Carmichael J. i wsp.: Phase II, open-label, randomized, multicenter study comparing the efficacy and safety of olaparib, a poly(ADP-ribose) polymerase inhibitor, and pegylated liposomal doxorubicin in patients with *BRCA1* or *BRCA2* mutations and recurrent ovarian cancer. *J. Clin. Oncol.*, 2012; 30: 372-379

[27] Kiliańska Z.M., Żolnierczyk J., Węsierska-Gądek J.: Biologiczna aktywność polimerazy poli(ADP-rybozy)-1. *Postępy Hig. Med. Dośw.*, 2010; 64: 344-363

[28] Kim M.Y., Zhang T., Kraus W.L.: Poly(ADP-ribose)ylation by PARP-1: 'PAR-laying' NAD⁺ into a nuclear signal. *Genes Dev.*, 2005; 19: 1951-1967

[29] Kluzek K., Białkowska A., Koczorowska A., Zdzienicka M.Z.: Inhibitory polimerazy poli(ADP-rybozy) (PARP) w terapii nowotworów z mutacjami *BRCA1/2*. *Postępy Hig. Med. Dośw.*, 2012; 66: 372-384

[30] Kotova E., Jarnik M., Tulin A.V.: Poly(ADP-Ribose) polymerase 1 is required for protein localization to Cajal body. *PLoS Genet.*, 2009; 5: e1000387

[31] Kotova E., Jarnik M., Tulin A.V.: Uncoupling of the transactivation and transrepression functions of PARP1 protein. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2010; 107: 6406-6411

[32] Kraus W.L.: Transcriptional control by PARP-1: chromatin modulation, enhancer-binding, coregulation, and insulation. *Curr. Opin. Cell Biol.*, 2008, 20: 294-302

[33] Kraus W.L., Hottiger M.O.: PARP-1 and gene regulation: progress and puzzles. *Mol. Aspects Med.*, 2013; 34: 1109-1123

[34] Krishnakumar R., Kraus W.L.: The PARP side of the nucleus: molecular actions, physiological outcomes, and clinical targets. *Mol. Cell*, 2010; 39: 8-24

[35] Langelier M.F., Ruhl D.D., Planck J.L., Kraus W.L., Pascal J.M.: The Zn3 domain of human poly(ADP-ribose) polymerase-1 (PARP-1) functions in both DNA-dependent poly(ADP-ribose) synthesis activity and chromatin compaction. *J. Biol. Chem.*, 2010; 285: 18877-18887

[36] Ledermann J., Harter P., Gourley C., Friedlander M., Vergote I., Rustin G., Scott C.L., Meier W., Shapira-Frommer R., Safra T., Matei D., Fielding A., Spencer S., Dougherty B., Orr M. i wsp.: Olaparib maintenance therapy in patients with platinum-sensitive relapsed serous ovarian cancer: a preplanned retrospective analysis of outcomes by *BRCA* status in a randomised phase 2 trial. *Lancet Oncol.*, 2014; 15: 852-861

[37] Liu J.F., Barry W.T., Birrer M., Lee J.M., Buckanovich R.J., Fleming G.F., Rimel B., Buss M.K., Nattam S., Hurteau J., Luo W., Qu Y., Whalen C., Obermayer L., Lee H. i wsp.: Combination cediranib and olaparib versus olaparib alone for women with recurrent platinum-sensitive ovarian cancer: a randomised phase 2 study. *Lancet Oncol.*, 2014; 15: 1207-1214

[38] Lodhi N., Kossenkov A.V., Tulin A.V.: Bookmarking promoters in mitotic chromatin: poly(ADP-ribose)polymerase-1 as an epigenetic mark. *Nucl. Acids Res.*, 2014; 42: 7028-7038

[39] Loeffler P.A., Cuneo M.J., Mueller G.A., DeRose E.F., Gabel S.A., London R.E.: Structural studies of the PARP-1 BRCT domain. *BMC Struct. Biol.*, 2011; 11: 37

[40] Lynparza™ approved by the US food and drug administration for the treatment of advanced ovarian cancer in patients with germline *BRCA*-mutations. <http://www.astrazeneca.com/Media/Press-releases/Article/20141219--lynparza-approved> (14.04.2015)

[41] Lynparza™ approved in the European Union as first-in-class treatment for advanced *BRCA*-mutated ovarian cancer. <http://www.astrazeneca.com/Media/Press-releases/Article/20141218--lynparza-approved-in-the-european-union> (14.04.2015)

[42] Mangerich A., Bürkle A.: Pleiotropic cellular functions of PARP1 in longevity and aging: genome maintenance meets inflammation. *Oxid. Med. Cell. Longev.*, 2012; 2012: 321653

[43] Martínez-Zamudio R.I., Ha H.C.: Histone ADP-ribosylation facilitates gene transcription by directly remodeling nucleosomes. *Mol. Cell. Biol.*, 2012; 32: 2490-2502

[44] Martínez-Zamudio R.I., Ha H.C.: PARP1 enhances inflammatory cytokine expression by alteration of promoter chromatin structure in microglia. *Brain Behav.*, 2014; 4: 552-565

[45] Masutani M., Nakagama H., Sugimura T.: Poly(ADP-ribose)ylation in relation to cancer and autoimmune disease. *Cell. Mol. Life Sci.*, 2005; 62: 769-783

[46] Mendes-Pereira A.M., Martin S.A., Brough R., McCarthy A., Taylor J.R., Kim J.S., Waldman T., Lord C.J., Ashworth A.: Synthetic lethal targeting of *PTEN* mutant cells with PARP inhibitors. *EMBO Mol. Med.*, 2009; 1: 315-322

- [47] Minami D., Takigawa N., Takeda H., Takata M., Ochi N., Ichihara E., Hisamoto A., Hotta K., Tanimoto M., Kiura K.: Synergistic effect of olaparib with combination of cisplatin on *PTEN*-deficient lung cancer cells. *Mol. Cancer Res.*, 2013; 11: 140-148
- [48] Mladenov E., Magin S., Soni A., Iliakis G.: DNA Double-strand break repair as determinant of cellular radiosensitivity to killing and target in radiation therapy. *Front. Oncol.*, 2013; 3: 113
- [49] Morrow D.A., Brickman C.M., Murphy S.A., Baran K., Krakover R., Dauerman H., Kumar S., Slomowitz N., Grip L., McCabe C.H., Salzman A.L.: A randomized, placebo-controlled trial to evaluate the tolerability, safety, pharmacokinetics, and pharmacodynamics of a potent inhibitor of poly(ADP-ribose) polymerase (INO-1001) in patients with ST-elevation myocardial infarction undergoing primary percutaneous coronary intervention: results of the TIMI 37 trial. *J. Thromb. Thrombolysis*, 2009; 27: 359-364
- [50] Murai J., Huang S.Y., Das B.B., Renaud A., Zhang Y., Doroshov J.H., Ji J., Takeda S., Pommier Y.: Trapping of PARP1 and PARP2 by clinical PARP inhibitors. *Cancer Res.*, 2012; 72: 5588-5599
- [51] Na Z., Peng B., Ng S., Pan S., Lee J.S., Shen H.M., Yao S.Q.: A small-molecule protein-protein interaction inhibitor of PARP1 that targets its BRCT domain. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, 2015; 54: 2515-2519
- [52] O'Shaughnessy J., Schwartzberg L., Danso M.A., Miller K.D., Rugo H.S., Neubauer M., Robert N., Hellerstedt B., Saleh M., Richards P., Specht J.M., Yardley D.A., Carlson R.W., Finn R.S., Charpentier E. i wsp.: Phase III study of iniparib plus gemcitabine and carboplatin versus gemcitabine and carboplatin in patients with metastatic triple-negative breast cancer. *J. Clin. Oncol.*, 2014; 32: 3840-3847
- [53] Pleschke J.M., Kleczkowska H.E., Strohm M., Althaus F.R.: Poly(ADP-ribose) Binds to Specific Domains in DNA Damage Checkpoint Proteins. *J. Biol. Chem.*, 2000; 275: 40974-40980
- [54] Plummer R., Stephens P., Aissat-Daudigny L., Cambois A., Moachon G., Brown P. D., Campone M.: Phase 1 dose-escalation study of the PARP inhibitor CEP-9722 as monotherapy or in combination with temozolomide in patients with solid tumors. *Cancer Chemother. Pharmacol.*, 2014; 74: 257-265
- [55] Postel-Vinay S., Bajrami I., Friboulet L., Elliott R., Fontebasso Y., Dorvault N., Olaussen K.A., André F., Soria J.C., Lord C.J., Ashworth A.: A high-throughput screen identifies PARP1/2 inhibitors as a potential therapy for ERCC1-deficient non-small cell lung cancer. *Oncogene*, 2013; 32: 5377-5387
- [56] Quénet D., Gasser V., Fouillen L., Cammas F., Sanglier-Cianferani S., Losson R., Dantzer F.: The histone subcode: poly(ADP-ribose) polymerase-1 (Parp-1) and Parp-2 control cell differentiation by regulating the transcriptional intermediary factor TIF1 β and the heterochromatin protein HP1 α . *FASEB J.*, 2008; 22: 3853-3865
- [57] Robaszkiewicz A., Erdélyi K., Kovács K., Kovács I., Bai P., Rajnavölgyi E., Virág L.: Hydrogen peroxide-induced poly(ADP-ribosylation) regulates osteogenic differentiation-associated cell death. *Free Radic. Biol. Med.*, 2012; 53: 1552-1564
- [58] Robaszkiewicz A., Valkó Z., Kovács K., Hegedűs C., Bakondi E., Bai P., Virág L.: The role of p38 signaling and poly(ADP-ribosylation)-induced metabolic collapse in the osteogenic differentiation-coupled cell death pathway. *Free Radic. Biol. Med.*, 2014; 76: 69-79
- [59] Satoh A., Brace C.S., Rensing N., Clifton P., Wozniak D.F., Herzog E.D., Yamanda K.A., Imai S.: Sirt1 extends life span and delays aging in mice through the regulation of Nk2 homeobox 1 in the DMH and LH. *Cell Metab.*, 2013; 18: 416-430
- [60] Steffen J.D., Brody J.R., Armen R.S., Pascal J.M.: Structural implications for selective targeting of PARP's. *Front. Oncol.*, 2013; 3: 301
- [61] Szabó G., Soós P., Manderá S., Heger U., Flechtenmacher C., Bährle S., Seres L., Cziráki A., Gries A., Zsengellér Z., Vahl C.F., Hagl S., Szabó C.: INO-1001 a novel poly(ADP-ribose) polymerase (PARP) inhibitor improves cardiac and pulmonary function after crystalloid cardioplegia and extracorporeal circulation. *Shock*, 2004; 21: 426-432
- [62] Toma M., Skorski T., Śliwiński T.: Syntetyczna letalność jako funkcjonalne narzędzie w badaniach podstawowych oraz w terapii przeciwnowotworowej. *Postępy Hig. Med. Dośw.*, 2014; 68: 1091-1103
- [63] Tulin A., Spradling A.: Chromatin loosening by poly(ADP)-ribose polymerase (PARP) at *Drosophila* puff loci. *Science*, 2003; 299:560-562
- [64] Underhill C., Toulmonde M., Bonnefoi H.: A review of PARP inhibitors: from bench to bedside. *Ann. Oncol.*, 2011; 22: 268-279
- [65] Virág L., Robaszkiewicz A., Rodriguez-Vargas J.M., Oliver F.J.: Poly(ADP-ribose) signaling in cell death. *Mol. Aspects Med.*, 2013; 34: 1153-1167
- [66] Wacker D.A., Ruhl D.D., Balagamwala E.H., Hope K.M., Zhang T., Kraus W.L.: The DNA binding and catalytic domains of poly(ADP-ribose) polymerase 1 cooperate in the regulation of chromatin structure and transcription. *Mol. Cell. Biol.*, 2007; 27: 7475-7485
- [67] Wang Z., Wang F., Tang T., Guo C.: The role of PARP1 in the DNA damage response and its application in tumor therapy. *Front. Med.*, 2012; 6: 156-164
- [68] Yang F., Baumann C., De La Fuente R.: Persistence of histone H2AX phosphorylation after meiotic chromosome synapsis and abnormal centromere cohesion in Poly (ADP-ribose) polymerase (Parp-1) null oocytes. *Dev. Biol.*, 2009; 331: 326-338
- [69] Yu J., Auwerx J.: The role of sirtuins in the control of metabolic homeostasis. *Ann. NY Acad. Sci.*, 2009; 1173, Suppl. 1: E10-E19

Autorzy deklarują brak potencjalnych konfliktów interesów.