

Received: 2011.12.09
Accepted: 2012.04.05
Published: 2012.05.30

Inhibitory PARP – podstawy teoretyczne i zastosowanie kliniczne

PARP inhibitors – theoretical basis and clinical application

Sylvia Dębska, Joanna Kubicka, Rafał Czyżykowski, Maja Habib, Piotr Potemski

Klinika Chemioterapii Nowotworów Katedry Onkologii UM w Łodzi, Szpital Specjalistyczny im. M. Kopernika w Łodzi

Streszczenie

Polimerazy poli-ADP-rybozy (PARP) to enzymy uczestniczące w podstawowych dla życia komórki procesach. Ich aktywacja w sytuacji uszkodzenia DNA umożliwia poli-ADP-rybozylację odpowiednich białek i wpływa m.in. na systemy naprawcze utrzymujące stabilność genomu oraz regulację transkrypcji, proliferacji czy apoptozy. PARP1, najlepiej poznany z enzymów PARP, odgrywa rolę w procesie naprawy jednoniciowych uszkodzeń DNA. Po zahamowaniu jego aktywności dochodzi do akumulacji zmian o tym charakterze, co z kolei sprzyja powstawaniu dwuniciowych uszkodzeń DNA. Może to prowadzić do śmierci komórek z niedoborem aktywności BRCA1/2 czy innych białek zaangażowanych w naprawę pęknięć obu nici DNA. Jest to przykład zjawiska tzw. sztucznie wywołanej letalności (synthetic lethality), które leży u podstaw badań nad lekami z grupy inhibitorów PARP w nowotworach uwarunkowanych niedoborem aktywności BRCA1/2 (rak piersi, rak jajnika).

Drugi kierunek badań nad inhibitorami PARP wynika z obserwacji dotyczących ich synergistycznego działania z cytostatykami genotoksycznymi oraz radioterapią.

Najlepiej poznane inhibitory PARP – iniparib i olaparib – przeszły badania kliniczne I i II fazy u chorych z tzw. potrójnie ujemnym rakiem piersi czy rakiem jajnika, a obiecujące wyniki stały się podstawą kolejnych faz testów.

W pracy omówiono podstawy teoretyczne działania inhibitorów PARP, a także wyniki najważniejszych badań klinicznych z udziałem leków tej grupy oraz pośrednio porównano ich skuteczność z dotychczas stosowaną standardową terapią.

Słowa kluczowe:

sztucznie wywołana letalność • polimeraza poli-ADP-rybozy • naprawa przez wycięcie zasad • homologiczna naprawa rekombinacyjna • niehomologiczne łączenie końców • geny BRCA1/2 • rak jajnika • potrójnie ujemny rak piersi

Summary

Poly-ADP-ribose polymerases (PARP) are involved in a number of processes that are vital for every living cell. Once activated by the presence of DNA damage they trigger poly-ADP-riboseylation of various proteins which are crucial for DNA repair, preserving of genom integrity, regulation of transcription, proliferation and apoptosis. PARP1, which is the best known enzyme of PARP protein family, plays a role in single-strand breaks (SSB) repair. Decrease of its activity results in accumulation of single strand DNA breaks (SSB) which leads as a consequence to double-strand breaks (DSBs). This disorder is particularly harmful to cells with deficiency of BRCA1/2 protein which is involved in repair of DNA double-strand breaks.

This phenomenon is an example of “synthetic lethality” concept and contributes to research on application of PARP inhibitors in treatment of cancers associated with BRCA1/2 protein defect (breast or ovarian cancer).

Noticed synergism between PARP inhibitors and genotoxic chemotherapy or radiotherapy determined another direction of research on application of these medicaments.

After promising results of phase I and II trials with most commonly investigated PARP inhibitors – iniparib and olaparib- which recruited patients with triple negative breast cancer and ovarian cancer, further studies started.

This paper presents theoretical basis of PARP inhibitors action as well as critical review of most important clinical trials of these medicaments.

Key words: synthetic lethality • poly-ADP-ribose polymerase • base excision repair • homologous recombination repair • nonhomologous end joining • BRCA1/2 genes • ovarian cancer • triple negative breast cancer

Full-text PDF: <http://www.phmd.pl/fulltxt.php?ICID=999033>

Word count: 3952

Tables: 1

Figures: 4

References: 49

Adres autorki: dr n.med. Sylwia Dębska, Klinika Chemioterapii Nowotworów Katedry Onkologii UM w Łodzi, Wojewódzki Szpital Specjalistyczny im. M. Kopernika, ul. I. Paderewskiego 4, 93-509 Łódź; e-mail: sylwia.debska@o2.pl

Wykaz skrótów: **BER** – naprawa przez wycięcie zasad (base excision repair); **CD** – domena katalityczna (catalytic domain); **DSBs** – pęknięcia podwójnej nici DNA (double strand breaks); **HRR** – homologiczna naprawa rekombinacyjna (homologous recombination repair); **kompleks MRN** – (MRE11-RAD50-NBS1), kinaza ATM (ataxia-teleangiectasia mutated), kinaza ATR (ATM and Rad3-related); **Chk1 i 2** – kinazy serynowo-treoninowe, kinaza DNA-PKcs (DNA dependent protein kinase – catalytic subunit); **NER** – naprawa przez wycięcie nukleotydów (nucleotide excision repair); **NHEJ** – niehomologiczne łączenie końców (nonhomologous end joining); **RPA** – białko A replikacji DNA (replication protein A); **SL** – sztucznie wywołana letalność (synthetic lethality); **SS** – sztucznie wywołane uszkodzenie (synthetic sickness); **SSBs** – pęknięcia pojedynczej nici DNA (single strand breaks); **ssDNA** – pojedyncza nić DNA (single stand DNA); **TNBC** – potrójnie ujemny rak piersi (triple-negative breast cancer).

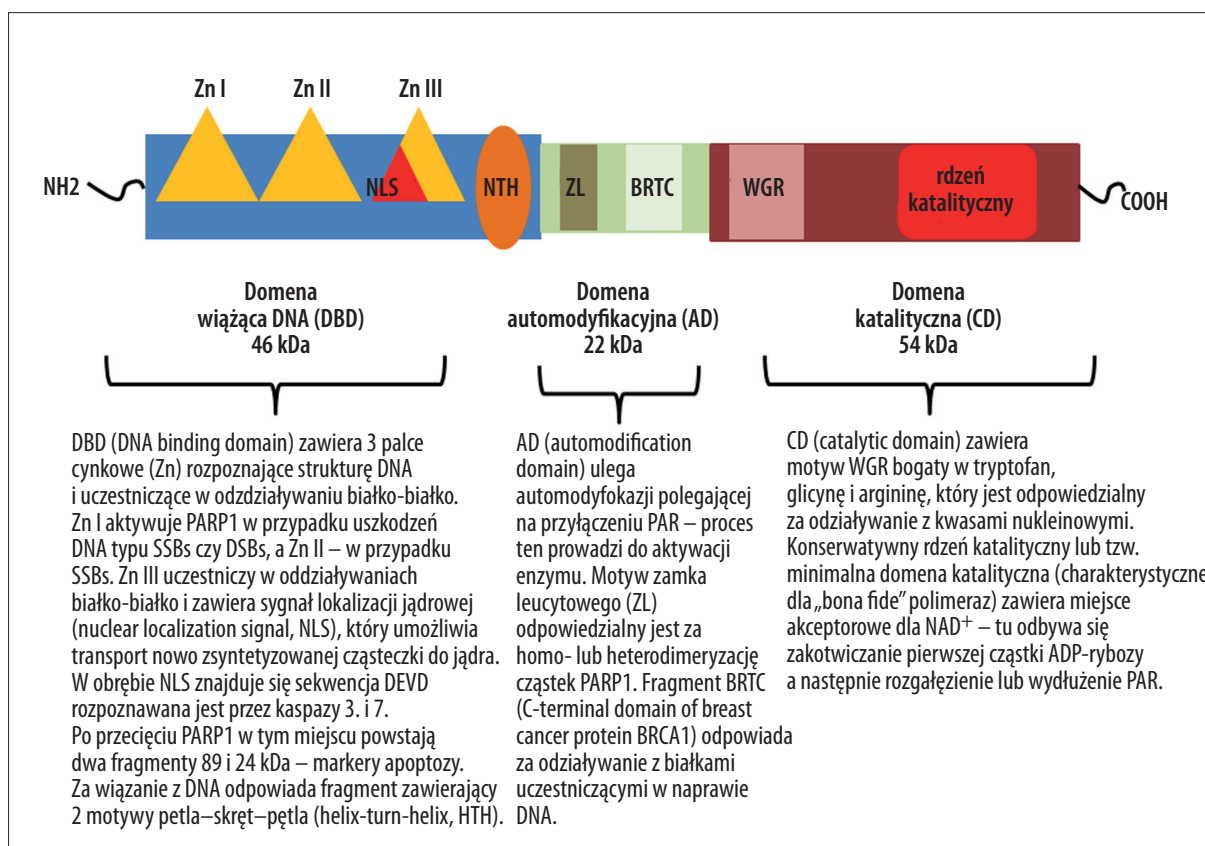
WSTĘP

Inhibitory PARP – nowe leki ukierunkowane molekularnie, których kliniczna aktywność badana jest w różnych rodzajach nowotworów złośliwych, w swoim mechanizmie działania opierają się na zjawisku „synthetic lethality” (SL). Termin, który można przetłumaczyć jako sztucznie wywołana letalność, utworzony w 1946 r. przez Dobzhansky’ego odwołuje się do opisanych przez Bridgese w 1922 r. zaburzeń obserwowanych u muszki owocowej *Drosophila pseudoobscura*. Zaburzenia te wynikają z zaistnienia układu komplementarnych uszkodzeń genetycznych prowadzących do śmierci osobnika. Ze zjawiskiem mamy do czynienia, gdy kombinacja dwóch osobno nieletalnych mutacji powoduje śmierć lub gdy ostateczny fenotyp przejawia istotne uszkodzenia (synthetic sickness, SS). Do SL dochodzi, gdy mutacje dotyczą genów:

- zaangażowanych w równoległe rezerwowe ścieżki molekularne,

- należących do tej samej istotnej ścieżki, w której aktywność przynajmniej jednego genu jest konieczna,
- należących do dwóch różnych ścieżek niezbędnych do powstania odpowiedzi komórki na swoiste zaburzenia jej funkcji.

Znaczenie tego zjawiska w onkologii zaczęli badać w 1997 r. Hartwell i wsp. Badania te doprowadziły do powstania idei wykorzystania leków ukierunkowanych na białka, których geny ulegałyby mutacji w klasycznym zjawisku „synthetic lethality”. Jeżeli w komórce nowotworowej obecny jest zmutowany gen związany z procesem karcynogenezy, to farmakologiczne zahamowanie białkowego produktu jego partnera zaangażowanego w SL może spowodować śmierć tej komórki [14,19]. Przykładem „genów-partnerów”, których jednoczesne zahamowanie prowadzi do śmierci komórki, są zaangażowane w naprawę uszkodzeń DNA *BRCA 1/2* i gen polimerazy poli-ADP-rybozy (*PARP*). W pracy omówiono piśmiennictwo dotyczące teoretycznych podstaw działania leków z grupy



Ryc. 1. Schemat budowy białka hPARP

inhibitorów PARP oraz najważniejszych badań klinicznych z ich udziałem.

PARP1 – BUDOWA, FUNKCJE I ROLA W NAPRAWIE USZKODZEŃ DNA

Enzymy z rodziny polimeraz poli-ADP-rybozy (PARP) odkryto w latach 60 ubiegłego wieku [8,24]. Odpowiadają za poli-ADP-rybozylację białek, tzn. modyfikację polegającą na przyłączeniu polimeru poli-ADP-rybozy (PAR). W genomie człowieka zidentyfikowano 17 genów kodujących enzymy typu PARP [48]. Enzymy PARP1, PARP2, PARP3, PARP4 (vault), PARP5a (tankyryza 1) i PARP5b (tankyryza 2) należą do tzw. prawdziwych polimeraz, które charakteryzują się swoistą budową domeny katalitycznej (catalytic domain, CD). Najlepiej poznanym białkiem z rodziny jest PARP1, nazywana wcześniej także transferazą poli-ADP-rybozy (ADPRT) czy syntetazą PAR.

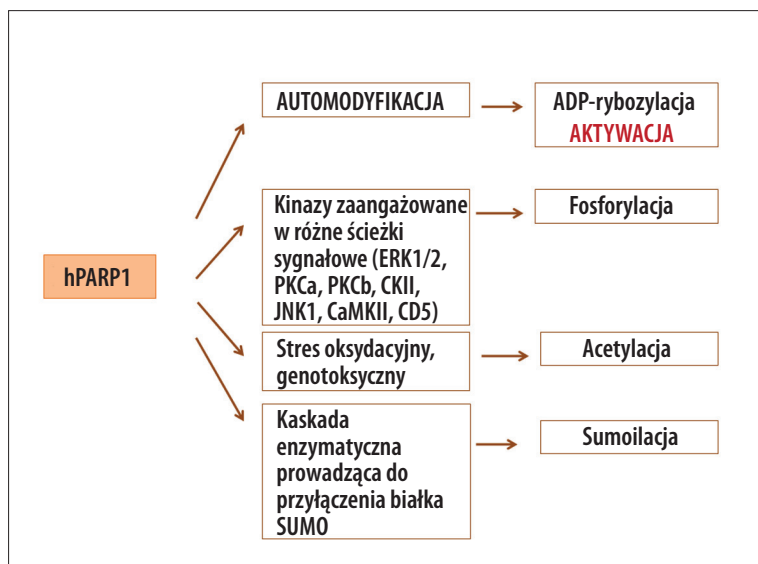
Gen *PARP1* (43kpz, 23 eksony) znajduje się na chromosomie 1 (1q41q42) [24]. Produkt białkowy *PARP1*, tzw. hPARP1 (113kDa), zbudowany jest z 3 domen: wiążącej DNA, automodyfikacyjnej i katalitycznej [24, 29, 48]. Schemat budowy hPARP1 przedstawiono na ryc. 1.

Gen *PARP1* należy do genów funkcji podstawowych („house keeping genes”). Zmniejszenie jego ekspresji wpływa na zmniejszenie stabilności genomu i może występować w niektórych nowotworach. Do promotora *PARP1* mogą się przyłączać liczne czynniki transkrypcyjne: SP1 (specificity protein 1), AP2 (activator protein 2), NF1 (nuclear factor 1), YY (transcriptional repressor protein), Ets (E-twenty

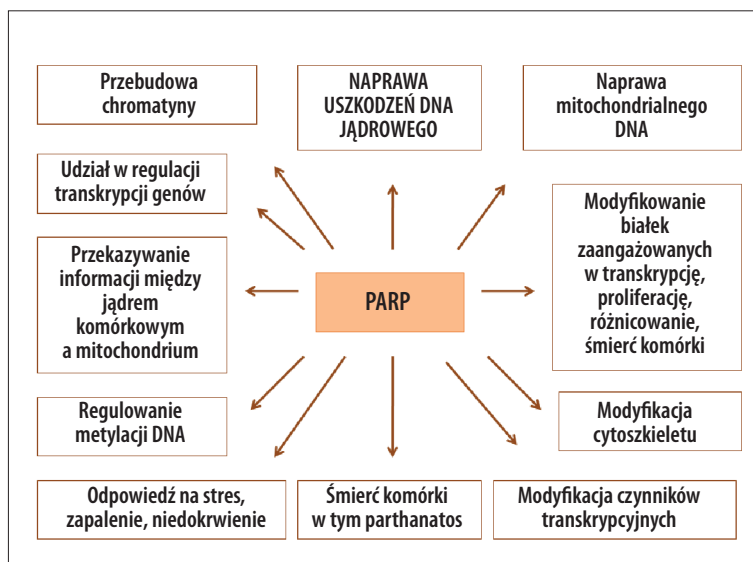
six). Transkrypcja genu *PARP1* przebiega na stałym poziomie niezależnie od stanu komórki, natomiast konieczna w danej chwili liczba cząstek enzymu regulowana jest poprzez mechanizmy epigenetyczne. W zdrowych komórkach podstawowa aktywność PARP1 jest niewielka, a ulega nasileniu w stresie genotoksycznym lub oksydacyjnym. Tkanki o największej aktywności enzymu PARP1 to jądra, śledziona i grasicca. W komórce PARP1 umiejscawia się w jądrze komórkowym, a dokładniej w jąderku oraz w subjądrowych organellach, tzw. ciałkach Cajala. Enzym obecny jest także w mitochondriach, gdzie wchodzi w skład kompleksu naprawczego mitochondrialnego DNA [17,26].

Enzym PARP aktywowany jest w sytuacji uszkodzenia DNA, wtedy jego aktywność wzrasta 10–500 razy. Do aktywacji dochodzi także w obecności specjalnych postaci DNA: hairpin, cruciforms, supercoiled. Aktywny enzym syntetyzuje polimery PAR różnej długości i przyłącza je do różnych substratów – zidentyfikowano ich dotychczas prawie 200. Pierwszym etapem pobudzenia białka hPARP1 jest automodyfikacja, tzn. przyłączenie kowalencyjnie jednostki ADP-rybozy do własnej cząsteczki, a dokładnie do domeny AD [42]. Nierybozylowany enzym nie jest aktywny, ale pewna jego pula jest stale obecna w komórce i zapewnia szybką odpowiedź na uszkodzenia DNA. Białko hPARP1 może ulegać także innym modyfikacjom wpływającym na jego aktywność [8,9,24,26]. Ich przykłady przedstawiono na ryc. 2.

Aktywne enzymy PARP przyłączają poli-ADP-rybozę do różnych białek - proces nazywany jest heteromodyfikacją.



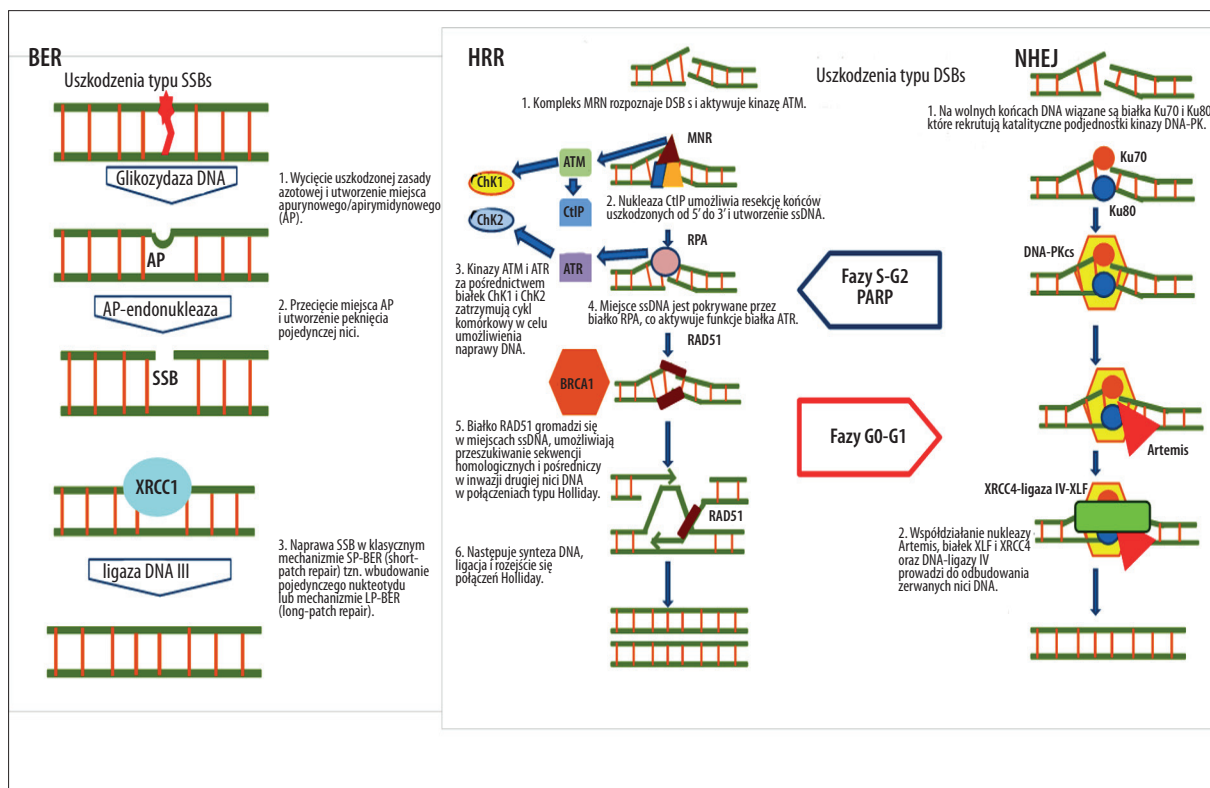
Ryc. 2. Rodzaje modyfikacji cząstek hPARP1. hPARP, a dokładnie jego reszty serynowe i treoninowe mogą ulegać fosforylacji, która odbywa się dzięki kinazom ERK1/2, PKCa (kinaza białkowa Ca), PKCb, CK II, JNK-1, CaMK II oraz kinazie związanej z przebiegiem cyklu komórkowego CDK-5. Taka modyfikacja aktywuje enzym. Z kolei IGF1 hamuje fosforylację PARP1. Wzrost aktywności katalitycznej PARP1 w różnego rodzaju stresie możliwy jest dzięki acetylacji jego cząstek. Enzym ulega także sumoilaacji, tzn. przyłączaniu do niego peptydów SUMO (small ubiquitin-like modifiers). Taka modyfikacja nie zmniejsza zdolności PARP1 do syntezy PAR czy wiązania DNA, ale znosi następstwa acetylacji i ogranicza udział enzymu w koaktywowaniu transkrypcji niektórych genów



Ryc. 3. Funkcje enzymów PARP. Dzięki tzw. „palcom cynkowym” PARP1 może oddziaływać z promotorami różnych genów. Enzym wpływa na proces transkrypcji także przez modyfikację, tzn. poli-ADP-rybozylację, czynników transkrypcyjnych, która zapobiega ich wiązaniu z promotorami. Inne białka modyfikowane przez PARP to te zaangażowane w kontrolę cyklu komórkowego, np. p53 czy PCNA (proliferating cell nuclear antigen). Automodyfikowana cząstka PARP1 wycisza aktywność katalityczną metylotransferazy DNA Dnmt1, a tym samym ogranicza proces metylacji DNA. Uważa się, że ten rodzaj modyfikacji kwasu deoksyrybonukleinowego regulowany jest przez stosunek między ilością automodyfikowanych i niemodyfikowanych cząstek PARP1. Jednak aktywny enzym PARP1 chroni przed metylacją promotora genu *DNMT1*. PARP1 uczestniczy także w procesach uruchamianych przez stres czy zapalenie – reguluje transkrypcję zaangażowanych w nie genów kodujących białka układu odpornościowego czy prozapalne [48].
Uważa się, że syntetyzowana przez PARP poli-ADP-ryboza może występować nie tylko w postaci związanej z białkiem, ale także w postaci wolnej. Polimer prawdopodobnie uczestniczy m.in. w przekazywaniu informacji z jądra komórkowego do mitochondriów. W samych zaś mitochondriach może wpływać na przepuszczalność błony mitochondrialnej i mieć udział w uwalnianiu stamtąd m.in. czynnika wywołującego apoptozę (apoptosis inducing factor – AIF) – flowoproteiny o aktywności dehydrogenazy NADH, która jest naturalnym składnikiem przestrzeni międzybłonowej mitochondriów. Nadaktywności PARP i nagromadzenie cząstek PAR może doprowadzić do śmierci komórki. Jest to rzadko spotykane zjawisko nazywane parthanatos. Jest odmienne od apoptozy czy nekrozy, ale obejmuje pewne wspólne z nimi elementy. W trakcie parthanatos nie dochodzi do tworzenia ciałek apoptotycznych, proces nie zależy od białek rodziny Bcl-2. DNA jest fragmentowane na odcinki 50000 p.z., następuje utrata integralności błony komórkowej i spadku potencjału międzybłonowego mitochondriów. Główny czynnik zapoczątkowujący ten proces to AIF

Poli-ADP-rybozylacja to potranslacyjna modyfikacja białka ważna w procesach sygnalizacji komórkowej, naprawy DNA, utrzymania stabilności genomu, przebudowy chromatyny, regulacji transkrypcji, proliferacji, różnicowania, karcynogenezy i śmierci komórki. Za wspomnianą modyfikację odpowiada głównie, choć nie tylko, PARP1. Poli-ADP-rybozylacja jest

reakcją odwracalną dzięki aktywności enzymu glikohydrolazy poli-ADP-rybozy kodowanego przez gen *PARG* położony w chromosomie 10 (10.q11.23) [6]. Podstawowa rola enzymu PARG polega na recyklingu automodyfikowanych cząsteczek PARP1 i utrzymaniu prawidłowego poziomu PAR w komórce. Podobną funkcję spełnia hydrolaza ADP-rybozy (ARH3).



Ryc. 4. Mechanizmy naprawy uszkodzeń DNA typu SSBs – BER (A) oraz DSBs – HRR i NHEJ (B). PARP1, ligaza DNA III i białko naprawcze XRCC1 tworzą kompleks PLX zaangażowany w naprawę DNA w mechanizmie BER. ADP – rybozylacja białka XRCC1 zwiększa jego zdolność do naprawy i powinowactwo do innych białek uczestniczących w procesie. Przypuszcza się, że kompleks PLX bierze udział także w naprawie dwuniciowych pęknięć DNA. W proces HRR zaangażowanych jest wiele białek o układzie hierarchicznym. Jednym z takich głównych czynników jest BRCA1. Białko funkcjonuje prawdopodobnie jako „rusztowanie” dla kompleksu naprawczego przez co koordynuje jego działanie. BRCA1 nie tylko warunkuje prawidłowy przebieg HRR, ale uczestniczy także w innych mechanizmach naprawy, np. NER czy NHEJ. W trakcie HRR punkty kontrolne cyklu komórkowego są aktywowane, aby spowolnić jego przebieg i uzyskać czas na naprawę. Dodatkowo aktywowana jest transkrypcja genów ułatwiających naprawę DNA. NHEJ jest alternatywną metodą naprawy DSBs – umożliwia bezpośrednie łączenie zerwanych końców DNA bez uwzględniania sekwencji homologicznych. Klasyczna odmiana NHEJ nazywana jest czasem D-NHEJ, gdyż holoenzym odpowiedzialny za przebieg procesu nazywa się DNA-PK (DNA dependent protein kinase). PARP1 pośrednio uczestniczy w D-NHEJ – pobudza kinazę DNA-PK, która z kolei hamuje PARP1 na zasadzie sprzężenia zwrotnego. Oprócz klasycznej odmiany NHEJ istnieje mechanizm alternatywny A-NHEJ (alternative/backup nonhomologous end joining, Alt-NHEJ/A-NHEJ/B-NHEJ). Kinaza DNA-PK nie jest zaangażowana w tę zapasową ścieżkę naprawy DSBs. Wydaje się, że PARP1 spełnia rolę przełącznika między klasyczną a alternatywną naprawą NHEJ

Zidentyfikowano liczne funkcje enzymu PARP1, a tocząca się badania prawdopodobnie dostarczą nowych danych. Przykłady procesów, w które zaangażowany jest enzym, przedstawia ryc. 3. Jednak najważniejszą jego funkcją jest udział w naprawie uszkodzeń DNA.

ROLA ENZYMÓW PARP W NAPRAWIE USZKODZEŃ DNA

Do uszkodzenia DNA mogą prowadzić czynniki zewnętrzne (promieniowanie UV i promieniowanie jonizujące, genotoksyczne związki chemiczne) czy produkty procesów wewnątrzkomórkowych (reaktywne formy tlenu), może to być także następstwem zaburzeń widełek replikacyjnych czy spontanicznej dezintegracji wiązań DNA (deaminacja cytozyny, hydroliza zasad) [38,42]. Rozróżnia się uszkodzenia typu pęknięcia pojedynczej nici (SSBs) lub pęknięcia podwójnej nici (DSBs). Uszkodzenia zasad czy pęknięcia pojedynczej nici DNA (SSBs) są najczęściej konsekwencjami metabolizmu komórkowego [42]. Są one usuwane głównie przez wycięcie zasad (BER), mniejsze znaczenie ma naprawa przez wycięcie nukleotydów czy naprawa przez błędnie sparowane nukleotydy (mismatch

repair). Akumulacja uszkodzeń typu SSBs może powodować zatrzymanie widełek replikacyjnych albo ich rozpad i pojawienie się pęknięć obu nici DNA (DSBs) [38]. Takie uszkodzenia są najbardziej niekorzystne dla komórki. Jeżeli nie zostaną naprawione, mogą prowadzić do zmian w jej genomie: mutacji, delecji, translokacji czy aberracji chromosomowych, a te z kolei powodują niestabilność genomu i śmierć komórki. Najważniejszy proces umożliwiający usunięcie uszkodzeń typu DSBs to naprawa rekombinacyjna lub rekombinacja homologiczna (HRR). Jest to najbardziej precyzyjny lecz zarazem czasochłonny mechanizm naprawy dwuniciowych pęknięć DNA. NHEJ jest alternatywną metodą naprawy takich uszkodzeń. Jest to proces znacznie szybszy, ale nie zapewnia wiernego odtworzenia sekwencji zasad. Szczegóło najistotniejszych mechanizmów naprawy uszkodzeń DNA przedstawiono na ryc. 4 [1,32,37,38,41]. Nie poznano jeszcze szczegółowo mechanizmów, od których zależy uruchomienie ścieżki naprawy HRR albo NHEJ w przypadku wystąpienia zmian typu DSBs. Prawdopodobnie w fazach G0-G1 preferowana jest naprawa typu NHEJ, natomiast w fazach S-G2, ze względu na dostępność siostrzanych chromatyd, HRR [38].

Skuteczna naprawa DNA zależy od rozpoznania miejsc jego pęknięć. Polimerazy PARP1 i PARP2 rozpoznają te obszary, wiążą się do końców rozerwanej nici kwasu nukleinowego i przekazują informacje o uszkodzeniu do białek zaangażowanych w naprawę [40,48]. Najwięcej danych wskazuje na rolę PARP1 w procesie naprawy jednoniciowych uszkodzeń – BER. Doniesienia o roli enzymu w procesie HRR są sprzeczne. Wydaje się jednak, że PARP1 podobnie jak PARP2 ma także swój udział w tym mechanizmie naprawy DNA.

Domena katalityczna PARP2 wykazuje w 70% podobieństwo budowy do analogicznej domeny PARP1, w razie braku aktywności drugiego z wymienionych enzymów PARP2 jest w stanie do pewnego stopnia go zastąpić [48]. PARP1 wiąże się z DNA za pośrednictwem domeny DBD. Po związaniu dochodzi do automodyfikacji enzymu i gwałtownego wzrostu jego aktywności [42]. Natomiast automodyfikacja umożliwia odłączenie od DNA, a wytworzony polimer PAR może modyfikować inne substraty zaangażowane w naprawę kwasu nukleinowego, np. p53, histony H1 i H2B, białka chromosomalne HMG (high-mobility group) lub ulegać degradacji.

Istnieją teorie, według których rola przyłączonych do DNA modyfikowanych cząsteczek PARP1 sprowadza się tylko do sygnalizacji ułatwiającej dotarcie białek naprawczych do miejsca uszkodzenia. Dowiedziono także, że polimerazy te uczestniczą w rozluźnianiu chromatyny. Cząstki enzymu mogą niekwalencyjnie wiązać się z histonami, które mają zasadowy odczyn. PARP1 przejawia szczególne powinowactwo wobec histonu H4, który z kolei ma większe powinowactwo do PAR niż do DNA. Przypuszcza się, że przyłączenie polimerów do histonów w miejscu uszkodzenia DNA warunkuje rozluźnienie chromatyny i dostęp kompleksu naprawczego do pękniętej nici DNA. Zatem zmiany epigenetyczne wpływające na strukturę chromatyny umożliwiają wystąpienie mechanizmu typu HRR. Modyfikacja histonów i remodeling chromatyny możliwe są także dzięki innym czynnikom. Na przykład ubiquitynacja histonów H2AX i H2A, w której pośredniczy czynnik RNF8, jest dodatkowym markerem ułatwiającym rekrutację kompleksu BRCA1 do miejsc uszkodzeń [38].

PARP1 i BRCA A ZJAWISKO SYNTHETIC LETHALITY – TEORETYCZNE PODSTAWY DZIAŁANIA INHIBITORÓW PARP

Zmiany dotyczące aktywności enzymów zaangażowanych w naprawę DNA obserwowane są w różnych rodzajach nowotworów złośliwych. Mutacje genów *ATM*, *NBS1*, *BLM* i *WRN* spotykane są w chłoniakach i białaczkach, *RAD54* i *CtIP* – w chłoniakach niezłośliwych i raku jelita grubego, *RAD51B* – w chłoniakach, a *RECQL4* – w raku skóry czy mięsaku kościopochodnym [38]. Najlepiej poznane mutacje genu *BRCA1* zwiększają ryzyko zachorowania na nowotwory piersi i jajnika. Nosicielki takich mutacji charakteryzują się życiowym ryzykiem zachorowania na raka piersi rzędu 50–80%, a na raka jajnika – 20–40% [1]. Szacuje się, że z mutacjami *BRCA1/2* wiąże się do 25% rodzinnych raków piersi i prawie 5% wszystkich zachorowań na ten nowotwór [31]. W 2010 r. zidentyfikowano gen *RAD51C*, którego mutacje obserwowane są u 1,5–4% rodzin z predyspozycją do wystąpienia raka piersi lub jajnika. Do zmniejszenia aktywności białek kluczowych w procesie

HRR może dochodzić nie tylko w wyniku mutacji wyłączających funkcje ich genów, ale także poprzez ich epigenetyczne wyciszenie [41]. Na przykład w sporadycznie występującym raku piersi czy jajnika można zaobserwować hipermetylację promotorów *BRCA1/2* prowadzącą do zmniejszenia ich ekspresji [34]. Ponadto zaobserwowano, że gen *BRCA2* jest negatywnie regulowany przez białkowy produkt genu *EMSY*, który często ulega amplifikacji w sporadycznym raku piersi [41].

Rak piersi rozwijający się na podłożu mutacji *BRCA1* charakteryzuje się wczesnym ujawnieniem, wysoką złośliwością histologiczną, typem przewodowym, tzw. fenotypem potrójnie ujemnym (tzn. brakiem ekspresji receptorów hormonalnych i HER2) oraz profilem genetycznym charakterystycznym dla raków podstawnych [41]. W komórkach takich guzów często obecne są mutacje genów *TP53* i *PTEN*. Badania wskazują, że komórki *BRCA(-)* mogą być szczególnie wrażliwe na związki chemiczne uszkadzające strukturę DNA, np. cisplatynę i mitomycynę [41]. Tworzenie wiązań między łańcuchami DNA wywołane wspomnianymi cytostatykami przerywa widełki replikacyjne w fazie S. Konieczne staje się wtedy uruchomienie naprawy typu HRR, aby komórka mogła przejść przez fazę S i przeżyć. Zmniejszona aktywność białek zaangażowanych w HRR, np. *BRCA1* czy *BRCA2*, może w takiej sytuacji stać się przyczyną śmierci komórki. Zaobserwowano także zjawisko odwracania mutacji *BRCA1* i *BRCA2*, które prowadzi do oporności na cisplatynę [38,43].

Enzym PARP1 bierze udział w naprawie uszkodzeń typu SSBs. Jeżeli jego aktywność zostanie zahamowana, dochodzi do nagromadzenia zmian o tym charakterze. To z kolei prowadzi do zaburzeń w widełkach replikacyjnych i powstawania DSBs przy wejściu w fazę S [37,42]. Aby usunąć uszkodzenia i kontynuować cykl komórkowy niezbędna staje się naprawa typu HRR [1,38,48]. Zaobserwowano, że wyłączenie obu alleli genów *PARP1* i *PARP2* jest letalne dla myszy w stadium embrionalnym – ich komórki wykazują niestabilność genomu, nagromadzenie zmian typu SSBs oraz nadwrażliwość na promieniowanie jonizujące i czynniki alkilujące [48].

W oparciu o powyższe dane założono, że farmakologiczne wyłączenie aktywności PARP będzie szczególnie toksyczne dla komórek z niedoborem aktywności *BRCA1/2* [38]. Możliwość blokowania enzymu PARP odkryto 30 lat temu – używano wtedy związków podobnych do nikotynamidu wchodzącego w skład NAD(+) wiążących miejsce katalityczne enzymu [48]. Pierwsze dane o skuteczności inhibitorów PARP w hamowaniu wzrostu komórek z mutacjami *BRCA* pojawiły się w 2005 r. Okazało się wówczas, że są one 1000 razy bardziej wrażliwe na działanie substancji hamujących aktywność PARP niż komórki z prawidłowymi genami [17]. Kilka związków o właściwościach inhibitorów PARP znajduje się obecnie z fazy badań klinicznych. Są to pochodne różnych substancji chemicznych: benzamidu (iniparib), ftalazynonu (olaparib, E7016), trójcyklicznego indolu (AG-014699), benzimidazolu (ABT-888), indazolu (MK-4827), pyrolokarbazolu (CEP9722), izoindolino- (INO-1001). Poszczególne inhibitory PARP mają nieco inne właściwości, ale w większości przypadków nie różnią się istotnie aktywnością wobec PARP1 i PARP2. Działanie leków polega na konkurowaniu z substratem o miejsce

katalityczne [31]. Iniparib (BSI-201) charakteryzuje odmienny od pozostałych inhibitorów mechanizm działania, ponieważ hamuje enzymy przez nieodwracalną kowalencyjną modyfikację – wchodzi w interakcję z domeną wiążącą DNA i rozrywa wiązania PARP z kwasem nukleinowym. W tym wypadku wznowienie aktywności enzymu wymaga syntezy jego nowych cząstek [48].

W związku ze szczególną wrażliwością komórek *BRCA*(-) na inhibitory PARP, w badaniach klinicznych leki te początkowo stosowano u chorych z nowotworami uwarunkowanymi niedoborem aktywności *BRCA1/2*. Drugi kierunek badań inhibitorów PARP wynika z założenia, że leki te wykażą synergizm działania z cytostatykami genotoksycznymi. W hamowaniu aktywności PARP pokłada się nadzieje na wzmocnienie działania nie tylko chemioterapii, ale także radioterapii oraz zapobieganie oporności na te sposoby leczenia [48]. Dlatego też konstrukcja badań klinicznych przewiduje kojarzenie inhibitorów PARP z cytostatykami czy promieniowaniem jonizującym.

Szczególnie nadzieje wiąże się z zastosowaniem inhibitorów PARP u chorych z potrójnie ujemnym rakiem piersi (TNBC), który często utożsamiany jest z nowotworem *BRCA*-zależnym czy fenotypem podstawnym, chociaż w praktyce zgodność między tymi rodzajami guzów szacuje się na 75% [7,35]. Potrójnie ujemny rak piersi jest szczególnie agresywnym podtypem nowotworu, chociaż rozpoznanie to stanowi zaledwie 15% ogółu złośliwych guzów piersi [48]. Pomimo wysokiego odsetka obiektywnych odpowiedzi, a także całkowitych patologicznych remisji (pCR), u chorych leczonych cytostatykami przedoperacyjnie w porównaniu z innymi podtypami raka piersi [33], w chwili nawrotu czy rozpoznania rozsianej choroby nowotworowej rokowanie jest bardzo złe, a średnie przeżycie wynosi około 12 mies. Według Lips i wsp. wspomniane wyżej wyciszenie ekspresji *BRCA1* poprzez metylację jego promotora obserwuje się u 25% chorych na TNBC [30]. Wśród chorych leczonych uzupełniająco chemioterapią opartą na antracyklinach i taksoidach obecność tej cechy wiąże się ze skróceniem przeżycia wolnego od choroby i przeżycia całkowitego. Z kolei dane z badań laboratoryjnych wskazują, że komórki z metylacją promotora *BRCA1* są tak samo wrażliwe na inhibitory PARP jak te z mutacjami wspomnianego genu [45]. W epoce terapii ukierunkowanych molekularnie, jakie stosować można w przypadku raka z ekspresją receptorów hormonalnych czy HER2, z niecierpliwością oczekuje się zdefiniowania celu i wprowadzenia leków także u chorych na raka potrójnie ujemnego. Trwające badania mają odpowiedzieć, czy PARP stanie się takim celem.

ZASTOSOWANIE PRAKTYCZNE INHIBITORÓW PARP PRZECIW NOWOTWOROM ZŁOŚLIWYM – PRZEGLĄD BADAŃ KLINICZNYCH

Najbardziej zaawansowane badania kliniczne dotyczą doustnie podawanego iniparibu. Z lekiem wiązano duże nadzieje po uzyskaniu wyników badania II fazy, do którego włączono 123 chore na rozsianego potrójnie ujemnego raka piersi (TNBC) [33]. Leczenie polegało na podaniu gemcytabiny (1000 mg/m²) i karboplatyny (AUC 2) w dniach 1 i 8 bez lub w skojarzeniu z iniparibem (5,6 mg/kg m.c. dz. 1, 4, 8, 11) – cykle były powtarzane co 21dni. Dla 60% pacjentek był to I rzut leczenia paliatywnego, dla 30% – II

rzut. Badanie wykazało wyższość terapii skojarzonej z inhibitorem PARP – korzyść kliniczną (CB – clinical benefit) osiągnęło w tym ramieniu 56% chorych w porównaniu z 34% leczonych tylko cytostatykami (p=0,01). Odsetki obiektywnych odpowiedzi (ORR – overall response rate) wynosiły odpowiednio 52 i 32% (p=0,02). Leczenie skojarzone wpłynęło na zwiększenie mediany przeżycia wolnego od progresji (PFS – progression-free survival; 5,9 i 3,6 mies., p=0,01) i mediany przeżycia całkowitego (OS – overall survival; 12,3 i 7,7 mies., p=0,01). Nie odnotowano istotnych różnic w częstości objawów niepożądanych obu schematów leczenia. Najczęściej występowały: neutropenia, trombocytopenia, anemia, zmęczenie, astenia, leukopenia, zwiększenie aktywności enzymów wątrobowych.

Tych zachęcających wyników nie potwierdziło jednak badanie III fazy, do którego włączono 519 chorych otrzymujących gemcytabinę, karboplatynę i iniparib lub samą chemioterapię – uzyskano jedynie niewielką różnicę w PFS (5,1 i 4,1 mies., p=0,027) na korzyść chorych leczonych w sposób skojarzony i nie potwierdzono wpływu na OS (11,8 i 11,1 mies., p=0,284) [34].

Cytowane wyniki warto zestawić ze skutecznością chemioterapii standardowo stosowanej w rozsianym raku piersi. Pośrednio grupy te porównać można z chorymi włączanymi do ramion kontrolnych badań klinicznych oceniających rolę bewacyzumabu w leczeniu rozsianego potrójnie ujemnego raka piersi. Dla pacjentek otrzymujących samą chemioterapię mediana PFS wynosiła odpowiednio: 5,3 mies. dla paklitakselu, 5,4 mies. dla docetakselu czy 6,2 mies. dla schematów kojarzących antracykliny z taksoidami [21]. Z kolei według Yi i wsp., którzy badaniem retrospektywnym objęli małą grupę chorych (n=25), chemioterapia AC (doksorubicyna z cyklofosfamidem) w ramach I linii leczenia paliatywnego TNBC umożliwiła uzyskanie ORR u 57% chorych i mediany PFS równej 8,1 mies. [47]. Zgodnie z retrospektywną analizą Staudacher i wsp. paliatywne leczenie schematami opartymi na cisplatynie umożliwiła uzyskanie ORR u 33% chorych na rozsianego TNBC i mediany PFS około 5 mies. [40].

Oczywiście bezpośrednie porównanie cytowanych schematów leczenia nie jest możliwe, ale wyniki te obrazują jakiej skuteczności należałoby oczekiwać po nowych lekach wprowadzanych do badań klinicznych. Niewątpliwie zmuszają do przemyśleń co do słuszności kojarzenia iniparibu z gemcytabiną i karboplatyną, zwłaszcza uwzględniając suboptymalną dawkę karboplatyny oraz konieczności zidentyfikowania molekularnych czynników predykcyjnych dla inhibitorów PARP.

Drugim intensywnie badanym lekiem z grupy inhibitorów PARP jest podawany doustnie olaparib (AZD-2281) [31]. Do badania I fazy włączono 60 chorych, w tym 22 osoby będące nosicielami mutacji *BRCA1/2* i jednego chorego z istotnym wywiadem rodzinnym dotyczącym zachorowań na nowotwory związane ze wspomnianymi mutacjami [16]. Do działań niepożądanych limitujących dawkę leku należały: zmęczenie, obniżenie nastroju, trombocytopenia i senność. Obiektywne odpowiedzi odnotowano tylko u nosicieli mutacji *BRCA* – były to chore na raka piersi, jajnika i chorzy na raka prostaty. Dlatego do dalszych badań włączono pacjentki z rozsianym rakiem piersi lub jajnika,

które otrzymały wcześniej kilka linii chemioterapii, a były nosicielkami mutacji w genach *BRCA1/2*. Monoterapia olaparibem umożliwiła uzyskanie obiektywnych odpowiedzi u 41% chorych na raka piersi [44] i u 33% chorych na raka jajnika [2]. W poszerzonym badaniu I fazy przeanalizowano skuteczność monoterapii olaparibem u 50 chorych z *BRCA1/2*-zależnym rakiem jajnika przy uwzględnieniu ich wrażliwości na chemioterapię opartą na związkach platyny. Dwadzieścia trzy pacjentki otrzymały wcześniej więcej niż 3 linie chemioterapii. Okazało się, że największy odsetek obiektywnych odpowiedzi uzyskano u badanych wrażliwych na analogi platyny w porównaniu z chorymi, u których doszło do progresji w ciągu 6 mies. od zakończenia lub w trakcie chemioterapii opartej na związkach platyny (odpowiednio 62, 42 i 0%), a mediana czasu trwania odpowiedzi wyniosła 28 tyg. [17].

Analizując powyższe wyniki pamiętać należy o możliwościach, jakie daje u takich pacjentek chemioterapia stosowana w ramach drugiej czy kolejnej linii leczenia [18]. W strategii postępowania należy, podobnie jak w cytowanym wyżej badaniu, uwzględnić wrażliwość nowotworu na analogi platyny i zawsze rozważyć ponowne ich zastosowanie. Korzyść z terapii zależy od długości okresu wolnego od leczenia związkami platyny (PFI – platinum-free interval) oraz liczby wcześniejszych linii chemioterapii. Można się spodziewać obiektywnych odpowiedzi u około 30% lub około 60% chorych z PFI wynoszącym odpowiednio 6–12 mies. i >24 mies. Jeżeli chemioterapia zostanie zastosowana w ramach II linii u wrażliwych na analogi platyny pacjentek z rakiem jajnika możliwe jest uzyskanie ORR u 51–58% chorych i czasu do progresji (TTP – time to progression) 11 mies. (karboplatyna skojarzona z paklitaksellem lub pegylowaną liposomalną doksorubicyną [PLD]) [4,13], a jeśli PFI ≥ 12 mies. – nawet ORR 63% i PFS 9,4 mies. (karboplatyna z PLD) [15] oraz ORR 67,4% i TTP 14 mies. (karboplatyna z docetaksellem) [13].

Natomiast u chorych opornych na analogi platyny po zastosowaniu chemioterapii kolejnej linii, podobnie jak w przypadku leczenia olaparibem, można oczekiwać znacznie gorszych rezultatów – dla różnych cytostatyków (paklitaksel, topotekan, PLD, etopozyd, gemcytabina, docetaksel, winorelbina) ORR wynosi 17–29% [18,22,23].

Wreszcie należy przypomnieć, że istnieją dane wskazujące, że pacjentki z *BRCA*-zależnym rakiem jajnika, będące kandydatkami do leczenia inhibitorami PARP, są także szczególnie wrażliwe na chemioterapię opartą na związkach platyny [5,25]. Chore takie w porównaniu z chorymi na raka jajnika z prawidłową ekspresją *BRCA* charakteryzują się istotnie dłuższymi DFS i OS. To u nich właśnie częściej obserwowane są powtarzające się długie odpowiedzi na kolejne podania chemioterapii opartej na związkach platyny.

Czy w związku z aktywnością u takich chorych zarówno chemioterapii jak i inhibitorów PARP można się spodziewać jeszcze lepszego efektu terapeutycznego w razie skojarzenia obu tych metod? Na to pytanie być może odpowie rozpoczynające się badanie oceniające skuteczność skojarzenia olaparibu z karboplatyną u chorych na raka piersi lub jajnika z mutacjami genów *BRCA1/2* [28]. Wstępne wyniki wskazują, że u pacjentek z wrażliwym

na analogi platyny nawrotowym rakiem jajnika leczenie podtrzymujące olaparibem pozwala na wydłużenie PFS w porównaniu z placebo (mediana odpowiednio 8,4 i 4,8 mies., $p < 0,001$) [27]. Niestety, nie dysponujemy danymi dotyczącymi wpływu takiego leczenia na długość całkowitego przeżycia. Pojawiły się natomiast dane z badań na liniach komórkowych sugerujące, że ekspozycja komórek raków *BRCA*-zależnych na inhibitory PARP może paradoksalnie prowadzić do uruchomienia alternatywnych mechanizmów naprawy uszkodzeń DNA i zmniejszenia wrażliwości tych komórek na stosowaną później karboplatynę [20]. Zapewne więcej informacji dotyczących tego zagadnienia wniesie toczące się badanie oceniające farmakodynamiczne i farmakokinetyczne parametry sekwencji olaparib – karboplatyna lub karboplatyna – olaparib u kobiet z chemoopornymi/nawrotowymi nowotworami złośliwymi [49].

Uwzględniając powyższe dane należy stwierdzić, że mimo obiecujących wstępnych wyników badań z zastosowaniem inhibitorów PARP, miejsce tych związków wśród cytostatyków o ustalonym znaczeniu w leczeniu systemowym chorych na nowotwory złośliwe wymaga dokładniejszego zdefiniowania. Z tego względu żaden z tych leków nie jest, jak na razie, zarejestrowany i ich zastosowanie jest możliwe wyłącznie w ramach badań klinicznych.

Przykłady badań z udziałem leków z tej grupy, które przedstawiono na konferencji Amerykańskiego Towarzystwa Onkologii Klinicznej (American Society of Clinical Oncology, ASCO) w 2011 r. prezentuje tabela 1. Streszczenia badań można znaleźć na cytowanej tu stronie internetowej [49].

PODSUMOWANIE – KIERUNKI PRZYSZŁYCH BADAŃ NAD INHIBITORAMI PARP

Oprócz badań klinicznych oceniających rolę inhibitorów PARP w monoterapii lub w skojarzeniu z chemioterapią czy radioterapią w leczeniu chorych na nowotwory złośliwe prowadzone są badania translacyjne, które być może pozwolą na dokładniejsze określenie celów terapeutycznych czy wskażą kierunki nowych poszukiwań.

Identyfikowane są kolejne białka zaangażowane w proces HRR, których brak aktywności może upośledzać naprawę DNA. Ich zmniejszona ekspresja w komórkach nowotworowych, podobnie jak *BRCA*, mogłaby się stać czynnikiem predykcyjnym wrażliwości na leczenie inhibitorami PARP. Badane jest w tym kontekście znaczenie białka Rad51 [38]. Zaobserwowano także, że komórki z brakiem ekspresji *PTEN* są wrażliwe na inhibitory PARP, ponieważ dochodzi w nich do obniżenia ekspresji *RAD51* [31]. Inne zidentyfikowane *in vitro* mutacje uwrażliwiające na leki z tej grupy dotyczą genów *ATM* (ataxia telangiectasia mutated), *ATR* (ataxia telangiectasia and Rad3 related) czy *CHK1* i *CHK2* (checkpoint kinase 1 and 2 homologues) [17].

Becker i wsp. zaprojektowali test czynnościowy oceniający całościowo zaburzenia HRR bez uwzględniania poszczególnych genów zaangażowanych w proces, które ewentualnie uległy mutacji [4]. Być może w przyszłości takie badanie wykonywane na limfocytach z krwi obwodowej okaże się przydatne w przewidywaniu wrażliwości na omawiane leki.

Tabela 1. Przykłady badań z udziałem leków z grupy inhibitorów PARP

Lek	Badanie
Iniparib	Badanie II fazy – iniparib w skojarzeniu z cisplatyną i gemcytabiną v. cisplatyna z gemcytabiną u chorych na niedrobnokomórkowego raka płuca [49]
	Badanie II fazy – iniparib w skojarzeniu z chemioterapią u chorych z potrójnie ujemnym rakiem piersi i przerzutami do mózgu [49]
Olaparib	Badanie II fazy – olaparib v. placebo w leczeniu podtrzymującym chorych na platynowrażliwego nawrotowego raka jajnika [49]
	Badanie farmakodynamicznych i farmakokinetycznych parametrów sekwencji olaparib>karboplatyna, lub karboplatyna>olaparib u kobiet z chemioopornymi/nawrotowymi nowotworami złośliwymi [49]
	Badanie I fazy – olaparib w skojarzeniu z karboplatyną u chorych na raka piersi lub jajnika z mutacjami genów <i>BRCA1/2</i> [28]
	Badanie I fazy – olaparib w skojarzeniu z cediranibem u chorych z nawrotowym rakiem jajnika lub potrójnie ujemnym rakiem piersi [49]
	Badanie przedkliniczne – olaparib odwraca oporność komórek raka stercza na radioterapię warunkowaną fuzją genów dla czynników transkrypcyjnych rodziny ETS [49]
Weliparib (ABT-888)	Badanie II fazy – weliparib w skojarzeniu z temozolomidem u przeleczonych chorych z rozsiałym rakiem jelita grubego [49]
	Badanie II fazy – metronomicznie podawany cyklofosfamid w monoterapii lub w skojarzeniu z weliparibem u chorych z chemioopornym ER+/PR+ HER2- rozsianym rakiem piersi [49]
	Badanie I/II fazy – weliparib w skojarzeniu z fluorouracylem i oksaliplatyną u chorych z rozsianym rakiem trzustki [49]
	Badanie I fazy – weliparib w skojarzeniu z doksorubicyną i cyklofosfamidem u chorych z rakiem piersi i innymi guzami litymi [49]
	Badanie I fazy – weliparib podawany doustnie w skojarzeniu z irinotekaniem u chorych z zaawansowanymi guzami litymi [49]
	Badanie I fazy – weliparib w skojarzeniu z karboplatyną chorych z HER2- rozsianym rakiem piersi [49]
MK 4827	Badanie I fazy – doustny inhibitor PARP u chorych z zaawansowanymi nowotworami BRCA- lub ze sporadycznym rakiem jajnika [49]
	Inhibitor PARP w skojarzeniu z radioterapią u chorych na rozsianego nerwiaka płodowego [49]
AG014699 (PF-01367338)	Leczenie uzupełniające cisplatyną w monoterapii lub w skojarzeniu z inhibitorem PARP u chorych z potrójnie ujemnym rakiem piersi po standardowym leczeniu przedoperacyjnym opartym na antracyklinach i taksoidach, u których nie osiągnięto pCR [49]
	Badanie II fazy – monoterapia dożylnym inhibitorem PARP u chorych z zaawansowanym rakiem jajnika i miejscowo zaważanym lub rozsianym rakiem piersi i mutacjami genów <i>BRCA1/2</i> [49]

Przypuszcza się, że ocena ekspresji *PARP1* w komórkach nowotworowych mogłaby mieć wartość predykcyjną dla terapii inhibitorami PARP. Według Domagały i wsp. założenie, że wszystkie guzy złośliwe piersi wykazują ekspresję *PARP1* może być błędne [12]. Autorzy donoszą, że 18% raków związanych z mutacjami *BRCA1* wykazuje brak lub niską ekspresję *PARP1* w jądrze komórkowym, podobnie – 21% raków potrójnie ujemnych związanych z *BRCA1* i 2,7% potrójnie ujemnych raków piersi niezależnych od mutacji *BRCA1*. Z kolei Possanzini i wsp. zaprzeczają istnieniu istotnych różnic w ekspresji *PARP1* między potrójnie ujemnymi a zależnymi od mutacji *BRCA1* guzami piersi i podkreślają heterogenność owej ekspresji w obu rodzajach nowotworów [39].

Tymczasem pojawiły się dane, że wysoka ekspresja PARP w cytoplazmie komórek raka piersi jest istotnie związana z niekorzystnymi czynnikami rokowniczymi, takimi

jak niezróżnicowany podtyp histologiczny, typ inny niż zrazikowy czy brak ekspresji receptorów hormonalnych. Ponadto badanie Minckwitza i wsp. wskazuje, że cecha ta ma znaczenie predykcyjne dla chemioterapii przedoperacyjnej opartej na antracyklinach i taksoidach i wiąże się z wyższym odsetkiem całkowitych patologicznych remisji (pCR) w porównaniu z guzami ze średnią i niską cytoplazmatyczną ekspresją PARP (odpowiednio 25,7, 18,8 i 6,1%, $p < 0,001$) [46]. Związek ekspresji *PARP1* ze złą prognozą u chorych na raka piersi potwierdza doniesienie Cottera i wsp. [10].

Możliwe że przyszłe badania odpowiedzą na pytanie, czy ocena ekspresji *PARP1* w komórkach nowotworowych okaże się czynnikiem predykcyjnym. Według niektórych autorów jest to mało prawdopodobne, gdyż *PARP1* nie jest jedynym celem tych nieselektywnie działających związków. Badania w kierunku zidentyfikowania innych hamowanych

enzymów z rodziny PARP są ważne w związku z działaniami niepożądanymi powodowanymi przez omawiane leki. Istnieją także obawy co do nieprzewidzianych odległych powikłań terapii inhibitorami PARP. Zaobserwowano, że substancje te, zwłaszcza w połączeniu z lekami genotoksycznymi, mogą wywoływać wtórne nowotwory. Zjawisko może się stać istotne, jeżeli rozpoczną się badania nad zastosowaniem inhibitorów PARP jako profilaktyki nowotworów u nosicieli mutacji *BRCA1/2* [36].

Badania zmierzają także w kierunku identyfikacji swoistych inhibitorów poszczególnych enzymów rodziny PARP, które zaangażowane są także w procesy zapalne czy reakcję na niedokrwienie. Zapewne będzie to mieć szczególne znaczenie w neurologii czy kardiologii [48].

Wreszcie okazuje się, że inhibitory PARP nie są jedynymi substancjami o aktywności przeciwnowotworowej działającymi w mechanizmie „synthetic lethality”. Enzymy PARP5a i 5b znane także jako tankyryza 1 i 2 uczestniczą w metabolizmie telomerów i sygnalizacji zależnej od ścieżki Wnt/beta-katenina. Inhibitor tankyryz – XAV939 stabilizuje aksynę i przyczynia się do degradacji beta-kateniny oraz hamowania transkrypcji od niej zależnej. Związek wykazuje aktywność w komórkach *BRCA(-)* i komórkach *APC(-)* raka jelita grubego [12].

Zanim możliwe będzie zastosowanie inhibitorów PARP w terapii przeciw nowotworom złośliwym, jeszcze wiele pytań oczekuje odpowiedzi.

PIŚMIENICTWO

- [1] Aly A., Ganesan S.: BRCA1, PARP, and 53BP1: conditional synthetic lethality and synthetic viability. *J. Mol. Cell. Biol.*, 2011; 3: 66–74
- [2] Audeh M.W., Carmichael J., Penson R.T., Friedlander M., Powell B., Bell-McGuinn K.M., Scott C., Weitzel J.N., Oaknin A., Loman N., Lu K., Schmutzler R.K., Matulonis U., Wickens M., Tutt A.: Oral poly-(ADP-ribose) polymerase inhibitor olaparib in patients with BRCA1 or BRCA2 mutations and recurrent ovarian cancer: a proof-of-concept trial. *Lancet*. 2010; 376: 245–251
- [3] Bafaloukos D., Linardou H., Aravantinos G., Papadimitriou C., Bamias A., Fountzilas G., Kalofonos H.P., Kosmidis P., Timotheadou E., Makatsoris T., Samantas E., Briassoulis E., Christodoulou C., Papakostas P., Pectasides D., Dimopoulos A.M.: A randomized phase II study of carboplatin plus pegylated liposomal doxorubicin versus carboplatin plus paclitaxel in platinum sensitive ovarian cancer patients: a Hellenic Cooperative Oncology Group study. *BMC Med.*, 2010; 8: 3
- [4] Becker A., Graeser M., Landwehr C., Hilger T., Baus W., Weber R., Wappenschmidt B., Schmutzler R.: A functional assay for the identification of DNA double-strand break repair deficiency in heterozygous carriers of BRCA1/2 and RAD51C mutations. *J. Clin. Oncol.*, 2011; 29(Suppl.): abstr. 561
- [5] Ben David Y., Chetrit A., Hirsh-Yechezkel G., Friedman E., Beck B.D., Beller U., Ben-Baruch G., Fishman A., Levavi H., Lubin F., Menczer J., Piura B., Struewing J.P., Modan B.: Effect of BRCA mutations on the length of survival in epithelial ovarian tumors. *J. Clin. Oncol.*, 2002; 20: 463–466
- [6] Botta D., Jacobson M.K.: Identification of a regulatory segment of poly(ADP-ribose) glycohydrolase. *Biochemistry*, 2010; 49: 7674–7682
- [7] Carey L.A.: Directed therapy of subtypes of triple-negative breast cancer. *Oncologist*, 2010; 15: 49–56
- [8] 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
- [9] Cohen-Armon M., Visochek L., Rozensal D., Kalal A., Geistrikh I., Klein R., Bendetz-Nezer S., Yao Z., Seger R.: DNA-independent PARP-1 activation by phosphorylated ERK2 increases Elk1 activity: a link to histone acetylation. *Mol. Cell.*, 2007; 25: 297–308
- [10] Cotter M.B., Pierce A., McGowan P.M., Madden S.F., Flanagan L., Quinn C., Evoy D., Crown J., McDermott E., Duffy M.J.: PARP1 in triple-negative breast cancer: expression and therapeutic potential. *J. Clin. Oncol.*, 2011; 29(Auppl.): abstr. 1061
- [11] Domagala P., Lubinski J., Domagala W.: Iniparib in metastatic triple-negative breast cancer. *N. Engl. J. Med.*, 2011; 364: 1780
- [12] Dregalla R.C., Zhou J., Idate R.R., Battaglia C.L., Liber H.L., Bailey S.M.: Regulatory roles of tankyrase 1 at telomeres and in DNA repair: suppression of T-SCE and stabilization of DNA-PKcs. *Aging (Albany NY)*, 2010; 2: 691–708
- [13] Ferrandina G., Ludovisi M., De Vincenzo R., Salutati V., Lorusso D., Colangelo M., Pranterà T., Valerio M.R., Scambia G.: Docetaxel and oxaliplatin in the second-line treatment of platinum-sensitive recurrent ovarian cancer: a phase II study. *Ann. Oncol.*, 2007; 18: 1348–1353
- [14] Ferrari E., Lucca C., Foiani M.: A lethal combination for cancer cells: synthetic lethality screenings for drug discovery. *Eur. J. Cancer*, 2010; 46: 2889–2895
- [15] Ferrero J.M., Weber B., Geay J.F., Lepille D., Orfeuvre H., Combe M., Mayer F., Leduc B., Bourgeois H., Paraiso D., Pujade-Lauraine E.: Second-line chemotherapy with pegylated liposomal doxorubicin and carboplatin is highly effective in patients with advanced ovarian cancer in late relapse: a GINECO phase II trial. *Ann. Oncol.*, 2007; 18: 263–268
- [16] Fong P.C., Boss D.S., Yap T.A., Tutt A., Wu P., Mergui-Roelvink M., Mortimer P., Swaisland H., Lau A., O'Connor M.J., Ashworth A., Carmichael J., Kaye S.B., Schellens J.H., de Bono J.S.: Inhibition of poly(ADP-ribose) polymerase in tumors from BRCA mutation carriers. *N. Engl. J. Med.* 2009; 361: 123–134
- [17] Fong P.C., Yap T.A., Boss D.S., Carden C.P., Mergui-Roelvink M., Gourley C., De Greve J., Lubinski J., Shanley S., Messiou C., A'Hern R., Tutt A., Ashworth A., Stone J., Carmichael J., Schellens J.H., de Bono J.S., Kaye S.B.: Poly(ADP)-ribose polymerase inhibition: frequent durable responses in BRCA carrier ovarian cancer correlating with platinum-free interval. *J. Clin. Oncol.*, 2010; 28: 2512–2519
- [18] Hacker N.F., Friedlander M.: Treatment of recurrent ovarian cancer. *Chang Gung Med. J.*, 2004; 27: 570–577
- [19] Hartwell L.H., Szankasi P., Roberts C.J., Murray A.W., Friend S.H.: Integrating genetic approaches into the discovery of anticancer drugs. *Science*, 1997; 278: 1064–1068
- [20] Hays J.L., Kim G., Mariani J., Murphy R.F., Angelos M., McCollum A., Lu J., Widemann B.C., Lee J., Kohn E.C.: Sequence specific effects on DNA and cell damage with the PARP inhibitor olaparib (AZD2281) and carboplatin. *J. Clin. Oncol.*, 2011; 29(Suppl.): abstr. 5025
- [21] Hudis C.A., Gianni L.: Triple-negative breast cancer: an unmet medical need. *Oncologist*, 2011; 16(Suppl.1): 1–11
- [22] Karaoglu A., Arslan U.Y., Ozkan M., Kalender M.E., Alici S., Coskun U., Gumus M., Celenkoclu G., Er O., Sevinc A., Buyukberber S., Alkis N., Benekli M.: Efficacy and toxicity of gemcitabine and pegylated liposomal doxorubicin in recurrent platinum-resistant/refractory epithelial ovarian cancer. *Asian Pac. J. Cancer Prev.*, 2009; 10: 63–66
- [23] Kavanagh J.J., Levenback C.F., Ramirez P.T., Wolf J.L., Moore C.L., Jones M.R., Meng L., Brown G.L., Bast R.C.Jr.: Phase 2 study of canfosamide in combination with pegylated liposomal doxorubicin in platinum and paclitaxel refractory or resistant epithelial ovarian cancer. *J. Hematol. Oncol.*, 2010; 3: 9
- [24] Kiliańska Z.M., Żolnierczyk J., Węsierska-Gądek J.: Biological activity of poly(ADP-ribose)polymerase-1. *Postępy Hig. Med. Dośw.*, 2010; 64: 344–363
- [25] Konstantinopoulos P.A., Spentzos D., Karlan B.Y., Taniguchi T., Fountzilas E., Francoeur N., Levine D.A., Cannistra S.A.: Gene expression profile of BRCAness that correlates with responsiveness to chemotherapy and with outcome in patients with epithelial ovarian cancer. *J. Clin. Oncol.*, 2010; 28: 3555–3561
- [26] Krishnakumar R., Kraus W.L.: The PARP side of the nucleus: molecular actions, physiological outcomes, and clinical targets. *Mol. Cell.*, 2010; 39: 8–24
- [27] Ledermann J.A., Harter P., Gourley C., Friedlander M., Vergote I.B., Rustin G.J., Scott C., Meier W., Shapira-Frommer R., Safra T., Matei D., Macpherson E., Watkins C., Carmichael J., Matulonis U.: Olaparib maintenance therapy in platinum-sensitive relapsed ovarian cancer. *N. Engl. J. Med.*, 2012; 366: 1382–1392

- [28] Lee J., Annunziata C.M., Minasian L.M., Zujewski J., Prindiville S.A., Kotz H.L., Squires J., Houston N.D., Ji J.J., Yu M., Doroshov J.H., Kohn E.C.: Phase I study of the PARP inhibitor olaparib (O) in combination with carboplatin (C) in BRCA1/2 mutation carriers with breast (Br) or ovarian (Ov) cancer (Ca). *J. Clin. Oncol.*, 2011; 29(Auppl.): abstr. 2520
- [29] Leung M., Rosen D., Fields S., Cesano A., Budman D.R.: Poly(ADP-ribose) polymerase-1 inhibition: preclinical and clinical development of synthetic lethality. *Mol. Med.*, 2011; 17: 854–862
- [30] Lips E.H., Mulder L., Hannemann J., Laddach N., Vrancken Peeters M.T., van de Vijver M.J., Wesseling J., Nederlof P.M., Rodenhuis S.: Indicators of homologous recombination deficiency in breast cancer and association with response to neoadjuvant chemotherapy. *Ann. Oncol.*, 2011; 22: 870–876
- [31] Meindl A., Ditsch N., Kast K., Rhiem K., Schmutzler R.K.: Hereditary breast and ovarian cancer: new genes, new treatments, new concepts. *Dtsch. Arztebl. Int.*, 2011; 108: 323–330
- [32] Misteli T., Soutoglou E.: The emerging role of nuclear architecture in DNA repair and genome maintenance. *Nat. Rev. Mol. Cell. Biol.*, 2009; 10: 243–254
- [33] O'Shaughnessy J., Osborne C., Pippen J.E., Yoffe M., Patt D., Rocha C., Koo I.C., Sherman B.M., Bradley C.: Iniparib plus chemotherapy in metastatic triple-negative breast cancer. *N. Engl. J. Med.*, 2011; 364: 205–214
- [34] O'Shaughnessy J., Schwartzberg L.S., Danso M.A., Rugo H.S., Miller K., Yardley D.A., Carlson R.W., Finn S.R., Charpentier E., Freese M., Gupta S., Blackwood-Chirchir A., Winer E.P.: A randomized phase III study of iniparib (BSI-201) in combination with gemcitabine/carboplatin (G/C) in metastatic triple-negative breast cancer (TNBC). *J. Clin. Oncol.*, 2011; 29(Suppl.): abstr. 1007
- [35] Ossovskaya V., Koo I.C., Kaldjian E.P., Alvares C., Sherman B.M.: Upregulation of poly (ADP-ribose) polymerase-1 (PARP1) in triple-negative breast cancer and other primary human tumor types. *Genes Cancer*, 2010; 1: 812–821
- [36] Patel A., Kaufmann S.H.: Development of PARP inhibitors: an unfinished story. *Oncology (Williston Park)*, 2010; 24: 66–68
- [37] Patel A.G., Sarkaria J.N., Kaufmann S.H.: Nonhomologous end joining drives poly(ADP-ribose) polymerase (PARP) inhibitor lethality in homologous recombination-deficient cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2011; 108: 3406–3411
- [38] Peng G., Lin S.Y.: Exploiting the homologous recombination DNA repair network for targeted cancer therapy. *World J. Clin. Oncol.*, 2011; 2: 73–79
- [39] Possanzini P., Biasi O., Fumagalli C., Barberis M., Barile M., Bonanni B., Viale G.: Poly (ADP-ribose) polymerase-1 (PARP) expression in triple-negative breast cancer. *J. Clin. Oncol.*, 2011; 29(Suppl): abstr. 1114
- [40] Staudacher L., Cottu P.H., Diéras V., Vincent-Salomon A., Guillaume M.N., Escalup L., Dorval T., Beuzeboc P., Mignot L., Pierga J.Y.: Platinum-based chemotherapy in metastatic triple-negative breast cancer: the Institut Curie experience. *Ann. Oncol.*, 2011; 22: 848–856
- [41] Stefansson O.A., Jonasson J.G., Johannsson O.T., Olafsdottir K., Steinarsdottir M., Valgeirsdottir S., Eyfjord J.E.: Genomic profiling of breast tumors in relation to BRCA abnormalities and phenotypes. *Breast Cancer Res.*, 2009; 11: R47
- [42] Ström C.E., Johansson F., Uhlén M., Szegarty C.A., Erixon K., Helleday T.: Poly (ADP-ribose) polymerase (PARP) is not involved in base excision repair but PARP inhibition traps a single-strand intermediate. *Nucleic Acids Res.*, 2011; 39: 3166–3175
- [43] Swisher E.M., Sakai W., Karlan B.Y., Wurz K., Urban N., Taniguchi T.: Secondary BRCA1 mutations in BRCA1-mutated ovarian carcinomas with platinum resistance. *Cancer Res.*, 2008; 68: 2581–2586
- [44] Tutt A., Robson M., Garber J.E., Domchek S.M., Audeh M.W., Weitzel J.N., Friedlander M., Arun B., Loman N., Schmutzler R.K., Wardley A., Mitchell G., Earl H., Wickens M., Carmichael J.: Oral poly(ADP-ribose) polymerase inhibitor olaparib in patients with BRCA1 or BRCA2 mutations and advanced breast cancer: a proof-of-concept trial. *Lancet*, 2010; 376: 235–244
- [45] Vecek J., Ropero S., Setien F., Gonzalez-Suarez E., Osorio A., Benitez J., Herman J.G., Esteller M.: BRCA1 CpG island hypermethylation predicts sensitivity to poly(adenosine diphosphate)-ribose polymerase inhibitors. *J. Clin. Oncol.*, 2010; 28: e563–e564
- [46] von Minckwitz G., Müller B.M., Loibl S., Budczies J., Hansch C., Darb-Esfahani S., Hilfrich J., Weiss E., Huober J., Blohmer J.U., du Bois A., Zahm D.M., Khandan F., Hoffmann G., Gerber B., Eidtmann H., Fend F., Diel M., Mehta K., Denkert C.: Cytoplasmic poly(adenosine diphosphate-ribose) polymerase expression is predictive and prognostic in patients with breast cancer treated with neoadjuvant chemotherapy. *J. Clin. Oncol.*, 2011; 29: 2150–2157
- [47] Yi S.Y., Ahn J.S., Uhm J.E., Lim do H., Ji S.H., Jun H.J., Kim K.H., Chang M.H., Park M.J., Cho E.Y., Choi Y.L., Park Y.H., Im Y.H.: Favorable response to doxorubicin combination chemotherapy does not yield good clinical outcome in patients with metastatic breast cancer with triple-negative phenotype. *BMC Cancer*, 2010; 10: 527
- [48] Yuan Y., Liao Y.M., Hsueh C.T., Mirshahidi H.R.: Novel targeted therapeutics: inhibitors of MDM2, ALK and PARP. *J. Hematol. Oncol.*, 2011; 4: 16
- [49] 2011 ASCO Annual Meeting. PARP inhibitor abstracts. http://www.asco.org/portal/site/ascov2/gsearch?q=parp+inhibitor&action=new&curr_coll=asco&sort=&nu=%2Fsearch%3Fq%3Dparp%26site%3Dasco%26l%3D%26ie%3DUTF-8%26oe%3DUTF-8%26output%3Dxml_no_dtd%26client%3Dasco_org%26access%3Dp%26sort%3Ddate%3AD%3AL%3Ad1%26getfields%3D%25252a%26start%3D10%26sa%3DN&pu=null&resetSearch=1&x=0&y=0 (23.04.2012)

Autorzy deklarują brak potencjalnych konfliktów interesów.