

# ZAVIRALCI POLI (ADENOZIN DIFOSFAT-RIBOZA) POLIMERAZE PRI ZDRAVLJENJU RAKA

## POLY (ADENOSINE DIPHOSPHATE-RIBOSE) POLYMERASE INHIBITORS IN CANCER THERAPY

AVTOR / AUTHOR:

Dr. Saša Kenig, univ. dipl. biokem.

*Fakulteta za vede o zdravju*

*Polje 42, 6310 Izola*

NASLOV ZA DOPISOVANJE / CORRESPONDENCE:

E-mail: sasa.kenig@fvz.upr.si

## 1 REAKCIJA, KI JO KATALIZIRA POLI (ADENOZIN DIFOSFAT- RIBOZA) POLIMERAZA

Poli (adenozin difosfat-riboza) polimeraza ali PARP je skupno ime za družino proteinov, v katero spada 18 encimov. Vsem je skupno to, da katalizirajo reakcijo ADP-ribozilacije, to je dodajanje ADP-riboznih enot na tarčne

### POVZETEK

Olaparib, zaviralec poli (ADP-riboza) polimeraze (PARP) je prvo protitumorsko zdravilo, ki deluje po principu t. i. celične sintezne smrtnosti, odobreno za uporabo v kliniki, in sicer za zdravljenje raka jajčnikov za bolnice z mutacijo gena BRCA. Olaparib povzroči smrt celic z mutacijo genov BRCA1 ali BRCA2, ki sta pomembna pri popravljanju poškodb DNA s homologno rekombinacijo. Leta 2016 so odobrili še en zaviralec PARP – rucaparib, v različnih fazah kliničnih raziskav pa jih je še več. Mutacije BRCA so značilne tudi za druge vrste raka, poleg tega pa obstaja še mnogo mutacij ali epigenetskih sprememb, ki imajo za celico podobne posledice – za vse te bi zaviralci PARP lahko bili uporabni. So torej obetavni za široko skupino onkoloških bolnikov, vendar pa je za načrtovanje zdravljenja potrebno tako natančno poznavanje mehanizmov delovanja zaviralcev, skupaj z možnimi načini razvoja odpornosti, kot tudi poznavanje genetskega ozadja bolnika. V prispevku predstavljamo kratek pregled novih spoznanj o tej skupini zdravil in njihovi uporabi.

### KLJUČNE BESEDE:

homologna rekombinacija, olaparib, rak, sintezna smrtnost, zaviralci PARP

### ABSTRACT

Poly ADP-ribose polymerase (PARP) inhibitor olaparib is the first clinically approved drug for cancer therapy designed to exploit synthetic lethality. It induces death of cells with mutated BRCA1 or BRCA2, proteins important in DNA damage repair by homologous recombination, and is approved for the treatment of advanced ovarian cancer for patients carrying this mutation. In 2016, another PARP inhibitor (rucaparib) was approved, and several others are in clinical trials. BRCA mutations can also be found in other tumour types. Moreover, there are other mutations or epigenetic modifications that induce similar changes in the cell. For all those, PARP inhibitors are potentially useful, which makes them promising drugs for a broad group of oncological patients. However, thorough understanding of underlying mechanisms of inhibitors' activity and potential drug resistance as well as patients' genetic



background, are essential for proper therapy design. We present a brief overview of recent advances in the use of PARP inhibitors.

**KEY WORDS:**

cancer, homologous recombination, olaparib, PARP inhibitors, synthetic lethality

proteine, največkrat na glutamat, redkeje aspartat ali lizin (1). Tarčni proteini so lahko histoni, topoizomeraze, DNA-helikaze in nekateri drugi proteini, vezani na molekulo DNA, lahko pa tudi sam PARP (2, 3). Encim lahko doda le eno ADP-ribozno enoto, lahko pa tudi do petsto enot, ki tvorijo dolge razvejene verige. Pri reakciji kot substrat vstopa NAD<sup>+</sup>, ADP-riboza ostane vezana na protein, nikotinamid pa izstopa iz reakcije. Reakcija je reverzibilna; odcepitev ADP-ribozne enote katalizira poli (ADP-riboza) glikohidrolaza PARG (4). Taka posttranslacijska modifikacija spremeni katalizno aktivnost tarčnih proteinov ter njihove interakcije z drugimi proteini, s čimer proteini PARP uravnajo številne celične procese. Predvsem je pomembna vloga pri popravljanju napak na DNA, kjer PARP deluje kot signal za aktivacijo popravljanih mehanizmov DNA, lahko pa tudi aktivira poti celične smrti ali uravnava transkripcijo določenih genov.

## 2 PROTEINI PARP PRI POPRAVLJANJU POŠKODB DNA

Pri popravljanih mehanizmih DNA sta iz družine proteinov PARP najpomembnejša PARP1 in PARP2; PARP1 opravi okrog 80 do 85 % ADP-ribozilacij v celici, PARP2 med 10 in 15 %, le preostali majhen delež pa drugi proteini iz družine (5). Za zagotavljanje stabilnosti genoma sta iz te družine pomembni tudi tankirazi 1 in 2, ki skrbita za vzdrževanje telomerov in regulacijo mitoze. Drugi sorodni proteini pa imajo vloge, ki niso neposredno povezane z metabolizmom DNA (6).

Proteina PARP1 in PARP2 sta si po strukturi in vlogi skoraj identična, vendar specifičnih nalog enega ali drugega ne poznamo, zato pogosto uporabljamo kar izraz PARP ali PARP1/2. Zgrajena sta iz šestih domen, med njimi so katalizna in avtomodifikacijska domena, domena za vezavo na DNA ter domena, ki jo cepijo kaspaze (7). Domene so med seboj povezane s fleksibilnimi zaporedji. Kadar pro-

tein ni aktiven, je tridimenzionalna organizacija domen podobna »kroglicam na vrvici«, po vezavi na DNA pa se domene natančno uredijo. Najbolje raziskana je vloga pri popravljanju enojnih prelomov DNA, torej prelomov ene verige dvojne vijačnice. Za njihovo popravljanje je v celici odgovoren mehanizem z imenom »popravlanje z izrezovanjem baze« ali BER (*base excision repair*). Pri tem procesu glikozilaze ali endonukleaze odstranijo okvarjeno/napačno bazo, zaradi česar nastane vrzel na eni verigi (enojni prelom). Tu se veže PARP, ki nato privabi protein XRCC1, ta pa za tem veže DNA-polimerazo  $\beta$  in DNA-ligazo III, ki vrzel zapolnita (5). PARP je odgovoren tudi za preoblikovanje kromatina v bližnji okolici poškodbe, s čimer omogoči dostop ključnim popravljanim encimom (8). Encim poli ADP-ribozilira tudi sam sebe, kar je pomembno za vezavo drugih proteinov, ker pa fosfatne skupine poli ADP-riboz nosijo negativen naboj, se poli ADP-riboziliran PARP posledično sprosti z DNA, ko je njegova »naloga« opravljena.

Če pride v celici do dvojnega preloma vijačnice DNA, ima celica na voljo dva osnovna mehanizma, da tako napako odpravi. V večjem delu celičnega cikla poteka le nehomologno zlepljanje, pri katerem se prosta topa konca DNA enostavno povežeta s fosfoestrsko vezjo. S tem se dvojni prelom sicer odpravi, a se hkrati izgubi nekaj baznih parov. Povsem pravilno lahko celica popravi dvojni prelom s homologno rekombinacijo, za kar pa potrebuje homologno regijo na DNA. Ta je na voljo le v fazah celičnega cikla S in G2, ko je DNA v celici podvojena. PARP sicer sodeluje pri nehomolognem zlepljanju, vendar nima ključne vloge, medtem ko homologna rekombinacija poteka učinkoviteje, če PARP ni aktiven (8).

Zaradi pomembne vloge pri mehanizmih popravljanja DNA je PARP postal pomembna tarča za načrtovanje protitumorskih zdravil. Vsi do sedaj znani zaviralci PARP delujejo na proteina PARP1 in PARP2, ne pa na ostale proteine iz družine.

## 3 MEHANIZEM DELOVANJA ZAVIRALCEV PARP ZA ZDRAVLJENJE RAKA – PRINCIP CELIČNE SINTEZNE SMRTNOSTI

Za celico je ključno, da ostane DNA nepoškodovana in se neokrnjena dedna informacija prenese na hčerinske celice. Zato so mehanizmi popravljanja poškodb DNA kompleksni,

se med seboj dopolnjujejo, prekrivajo in nadomeščajo. Raziskovanje teh mehanizmov v onkologiji je smiselno, ker napake v popravljanih mehanizmih vodijo do kopičenja mutacij in s tem prispevajo k razvoju raka. Po drugi strani pa so tudi za tumorske celice določene poškodbe smrtno, zato so celice glede na učinkovitost popravil različno občutljive na kemoterapijo.

V povsem zdravi celici zaviralci PARP nimajo posebnega učinka, saj se PARP aktivira le, ko je DNA poškodovana. Veliko zanimanje za zaviralce PARP pa sta sprožili vzporedni objavi Farmerja in Bryanta leta 2005 (9, 10), ki sta pokazali, da so rakave celice s homozigotno mutacijo genov BRCA1 ali BRCA2 (*breast cancer type 1, 2*) izjemno občutljive na zaviralce PARP. PARP namreč skrbi za odpravo napak na enojni verigi; te so pogoste, saj lahko nastanejo spontano zaradi običajnega celičnega metabolizma, lahko pa so tudi sprožene z alkilirajočimi sredstvi ali ionizirajočim sevanjem. Za tumorske celice je značilno, da se delijo hitreje in pogo-

steje od zdravih celic, zato je časa za popravilo poškodbe manj. Če taka celica enojnega preloma ne odpravi, replikacijske vilice v fazi celičnega cikla S naletijo nanj, kar vodi do nastanka dvojnega preloma in porušitve replikacijskega aparata. Tako napako bi zdrava celica odpravila s homologno rekombinacijo – če ta poteka nemoteno, celica lahko preživi kljub neaktivnosti PARP. Vendar sta za proces homologne rekombinacije ključna proteina BRCA1 ali BRCA2, prvi deluje kot ogrodje za vezavo ostalih encimov homologne rekombinacije, drugi pa skrbi za pravilno delovanje Rad51, ki je odgovoren za iskanje homologne regije. Ob mutaciji BRCA1/2 homologna rekombinacija ne poteka, celici pa so odvzete vse možnosti, da bi poškodbo odpravila, kar vodi v celično smrt ali senescenco. Homozigotna mutacija BRCA1/2 ( $BRCA^{-/-}$ ) je povečini prisotna le v tumorskih celicah. Je tudi vzrok, da je celica postala tumorska, saj okvare popravljanih mehanizmov DNA vodijo v kopičenje mutacij in s tem zelo povečajo verjetnost trans-

	Zdrave celice	Zdrave celice + zaviralec PARP	$BRCA^{-/-}$ tumorske celice	$BRCA^{-/-}$ tumorske celice + zaviralec PARP
Faza G0/G1	enojni prelom/poškodba baze ↓ PARP ↓ SSBR/BER odpravi večino poškodb	enojni prelom/poškodba baze ↓ PARP X ↓ poškodbe ostanejo	enojni prelom/poškodba baze ↓ PARP ↓ SSBR/BER odpravi večino poškodb	enojni prelom/poškodba baze ↓ PARP X ↓ poškodbe ostanejo
Faza S	redki dvojni prelomi ↓ BRCA ↓ popravilo dvojnega preloma s HR	zaustavitev replikacijskih vilic – dvojni prelom ↓ BRCA ↓ popravilo dvojnega preloma s HR	redki dvojni prelomi ↓ BRCA X ↓ dvojni prelom se ne odpravi	zaustavitev replikacijskih vilic – dvojni prelom ↓ BRCA X ↓ dvojni prelom se ne odpravi
	dvojnih prelomov malo, odpravljeni s HR – CELICA PREŽIVI	dvojnih prelomov veliko, a odpravljeni s HR – CELICA PREŽIVI	genom nestabilen, a CELICA PREŽIVI	dvojnih prelomov veliko, ni možnosti popravila – CELICA ODMRE

Slika 1: Mehanizem delovanja zaviralcev PARP po principu celične sintezne smrtnosti (11). Zelen okvirček prikazuje delujoč protein, rdeč pa nedelujočega; SSBR – popraviljanje enojnih prelomov (single strand break repair), BER – popraviljanje z izrezovanjem baze (base excision repair), HR – homologna rekombinacija.

Figure 1: Mechanism of PARP inhibitor exploiting synthetic lethality. Green box indicates active protein, red box inactive protein; SSBR – single strand break repair, BER – base excision repair, HR – homologous recombination.

formacije. Inhibicija PARP bo torej citotoksična le za tumorske celice in ne za ostale celice v telesu. Tak princip, kjer je okvara enega samega gena ali proteina praktično neškodljiva, postane pa smrtna v kombinaciji z okvaro drugega proteina, imenujemo princip celične sintezne smrtnosti (slika 1).

## 4 ODOBRITEV OLAPARIBA ZA UPORABO V KLINIKI

Najbolje proučen zaviralec PARP je olaparib, poznan tudi kot AZD2281. Leta 2014 so ga kot prvega odobrili za uporabo, dve leti za tem pa se je na seznam uvrstil še ruparib.

Prvo uspešno klinično raziskavo, na kateri je temeljila odobritev uporabe olapariba, so objavili leta 2009 (12), kjer je bil odziv pri 60 pacientih z rakom jajčnikov, dojke in prostate sicer omejen na 22 bolnikov z mutacijo BRCA, a pri teh zelo dober. Kar 63 % pacientov je doživelo stabilizacijo bolezni za najmanj štiri mesece. V večji raziskavi, kjer je bilo vključenih 298 BRCA<sup>-/-</sup> pacientov, od tega 193 z rakom na jajčnikih, vse pa so predhodno že zdravili s citostatiki na osnovi platine, se je pri več kot 30 % pacientov z rakom jajčnikov bolezen stabilizirala za vsaj osem mesecev. Na podlagi te in nekaterih primerljivih raziskav je v Združenih državah Amerike agencija FDA odobrila uporabo olapariba (400 mg, dvakrat dnevno) kot monoterapijo za paciente z zarodno mutacijo gena BRCA in napredovalim rakom jajčnikov, ki so predhodno prejeli najmanj tri vrste kemoterapije (13).

Naslednja pomembna klinična raziskava je pokazala na učinkovitost olapariba za vzdrževalno terapijo po koncu zdravljenja raka jajčnikov s platino (14). Pri bolnicah z mutacijo gena BRCA, ki so po kemoterapiji prejemale olaparib, je bil čas, ko bolezen ni napredovala, dvakrat daljši kot pri placebo, kar je omogočilo zamik novega cikla kemoterapije s platino. Evropska agencija za zdravila je tako v začetku leta 2015 izdala dovoljenje za promet za zdravilo olaparib, in sicer za zdravljenje bolnic z mutacijo gena BRCA, pri katerih je prišlo do ponovitve slabo diferenciranega seroznega epitelijskega raka jajčnikov, karcinoma jajcevodov ali primarno peritonealnega karcinoma, občutljivega na platino, in se popolnoma ali delno odzivajo na kemoterapijo s preparati platine (15). Za enako indikacijo je zdravilo v končnem delu postopka tudi za ameriški trg.

## 5 MOŽNOSTI RAZŠIRITVE UPORABE OLAPARIBA

Trenutno je uporaba olapariba dovoljena le za zdravljenje raka jajčnikov. A popravljani mehanizmi DNA igrajo osrednjo vlogo pri mnogih vrstah raka. Ideja, da bi lahko zaviralce PARP uporabljali pri širši skupini bolnikov poleg že omenjenih, izhaja iz dveh dejstev. Mutacije gena BRCA se pojavljajo tudi pri drugih vrstah raka – pri raku dojke, prostate, melanomu ter raku trebušne slinavke (16). Poleg tega pa BRCA1 in 2 nista edina proteina, potrebna za nemoten potek homologne rekombinacije. Ugotovili so namreč, da so se v nekaterih kliničnih raziskavah na zaviralce PARP odzvali tudi pacienti z normalnim genom BRCA (17), zaradi česar so raziskovalci posumili, da imajo ti pacienti morda kako drugo mutacijo, kjer so posledice podobne. To bi bilo pomembno, saj se mutacija gena BRCA pojavi le pri 5 do 10 % raka dojke in 15 % raka jajčnikov. Predklinične raziskave kažejo, da so poleg celic z mutacijo gena BRCA na zaviralce PARP občutljive tudi celice z epigenetskim utišanjem genov BRCA, EMSy, PTEN in Rad51 ter mutacijami genov ATM in ATR, CHEK1 in CHEK2 ter gena Fanconijeve anemije (18). Obširno sekvenciranje tumorskega genoma je pokazalo, da so take mutacije pogoste pri napredovalih rakah prostate, trebušne slinavke in dojke. Za presejalno testiranje bi bilo torej potrebno pregledati mnoge gene, ki so povezani s homologno rekombinacijo. Ker pa je možnosti ogromno, vsaka izmed možnih mutacij pa se pojavi le redko, bi bilo tako testiranje finančno nevzdržno. Zato so potrebne alternativne rešitve. Namesto detekcije posameznih mutacij lahko na poškodovan mehanizem homologne rekombinacije sklepamo tudi, če je v celici opaziti obsežnejše delecije, translokacije, nesorazmerje telomernih alelov ali izgube heterozigotnosti. Skupno takim poškodbam pravimo genomska brazgotina. Klinična raziskava za oceno, ali je taka značilnost primeren biomarker za občutljivost celic raka jajčnikov na zaviralce PARP, še poteka. Še ena vrsta raka, kjer so opazili genomsko brazgotino, je trojno negativni rak dojke (19), kjer pa se zaviralci PARP žal niso izkazali kot učinkoviti. Težava pri uporabi genomske brazgotine je v tem, da nam sicer pove, ali je bilo v nekem obdobju delovanje homologne rekombinacije okrnjeno. Ne pove pa, ali se je morda zgodila povratna mutacija, ki je mehanizem ponovno vzpostavila. Tako bo za učinkovitejši izbor kandidatov za zdravljenje z zaviralci PARP verjetno potrebno načrtovanje funkcijskega testa, ki bo pokazal učinkovitost delovanja

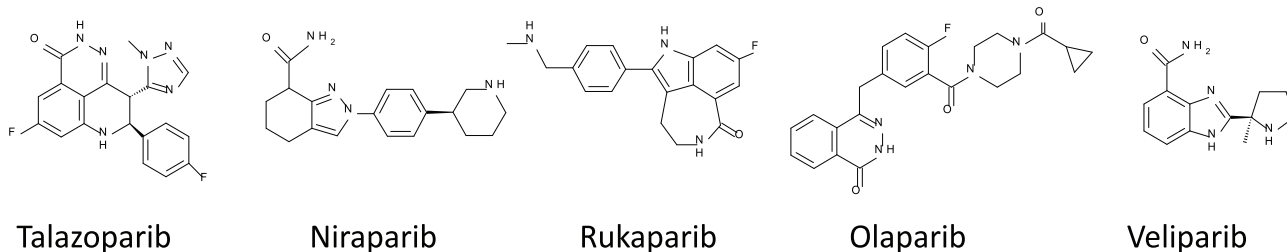
mehanizma homologne rekombinacije v danem trenutku. To bi lahko bil *in vitro* test z lizatom tumorskih celic ali transfekcija tumorskih celic z reporterskim sistemom v primarni kulturi.

## 6 DRUGI ZAVIRALCI PARP

Trenutno so v različnih fazah kliničnih raziskav poleg olapariba še štiri drugi zaviralci PARP, to so veliparib, niraparib, talazoparib in rukaparib, in sicer kot monoterapevtiki ter v kombinacijah z drugimi zdravili. Vsi se vežejo na vezavno mesto za kofaktor  $\beta$ -NAD<sup>+</sup> na katalizni domeni PARP1/2 (20). Čeprav je princip sintezne smrtnosti splošno sprejet mehanizem delovanja zaviralcev PARP, pa je pomembno točneje razumeti, kako je delovanje PARP dejansko zavrto. Zaviralci delujejo tako, da ujamejo PARP, ko je ta vezan na molekulo DNA in tak kompleks stabilizirajo, podobno kot je značilno tudi za zaviralce topoizomeraz (21). Zaradi tega so celice, ki ne izražajo proteina PARP, na zaviralce odporne, zaviralci pa so bolj citotoksični kot sama odsotnost PARP. Prav po učinkovitosti stabilizacije kompleksa PARP-DNA se zaviralci med seboj razlikujejo, sorazmerna s to lastnostjo pa je tudi njihova citotoksičnost. Talazoparib je pri tem najučinkovitejši, veliparib pa najmanj, kar je povezano z njuno kemijsko strukturo (slika 2) – veliparib je namreč najmanjši, talazoparib pa najbolj rigiden. Velikost in dva kiralna centra sta ključna za moč vezave in manj nespecifičnih in alosteričnih učinkov (6). Čeprav je talazoparib citotoksičen pri 200-krat manjši koncentraciji kot olaparib, se to ne odraža pri njegovi terapevtski učinkovitosti. Poznavanje sposobnosti ujetja PARP na DNA torej ni dovolj, potrebno bo upoštevati tudi učinke na nepredvidene tarče. Antolin in Mestres sta na primer v svoji nedavni raziskavi

proučila delovanje zaviralcev PARP na 16 celičnih kinaz, katerih ligand je zaviralcem PARP strukturno soroden (22). Ugotovila sta, da rukaparib lahko zavira delovanje kar devetih proučevanih kinaz, veliparib dveh, olaparib pa nobene. Seveda ne gre zanemariti niti dejstva, da ima PARP poleg vloge pri popravljanju DNA še manj poznane ali vseeno pomembne vloge pri transkripciji, apoptozi in imunskem odzivu, ves čas pa raziskovalci odkrivajo še nove podrobnosti o njegovem delovanju.

Vse omenjene inhibitorje že proučujejo v kliničnih raziskavah. Proučevanje več različnih inhibitorjev je pomembno, ker bi lahko bili učinkoviti pri različnih podskupinah bolnikov, pa tudi zato, da bi pri morebitnem razvoju rezistence lahko to prešli z zamenjavo zaviralca. Niraparib je v tretji fazi klinične raziskave, kjer so paciente z napredovalim rakom jajčnikov, občutljivim na citostatike na osnovi platine, razdelili na tiste z genomsko mutacijo gena BRCA, paciente z zaznavno genomsko brazgotino ter paciente brez omenjenih lastnosti, podaljšal preživetje brez napredovanja bolezni v prvih dveh skupinah (23). Zelo podobno pa velja tudi za rukaparib (24). Na podlagi izkazane učinkovitosti rukapariba pri BRCA<sup>-/-</sup> pacientih v več študijah (25), je FDA leta 2016 odobrila uporabo rukapariba za tiste bolnice z rakom jajčnikov, ki so jih že zdravili z najmanj dvema vrstama zdravljenja. Veliparib lahko prehaja krvno-možgansko pregrado, s čimer se ponuja možnost za uporabo pri zdravljenju možganskih zasevkov. Preliminarni rezultati so v takem primeru pokazali občutno podaljšanje srednjega časa preživetja (26) v primerjavi z napovedanim preživetjem na podlagi objavljene literature. Talazoparib je najnovejši in po podatkih predkliničnih raziskav najmočnejši izmed inhibitorjev, trenutno pa potekajo klinične raziskave za uporabo pri zdravljenju raka dojke. V raziskavi, kjer je bilo vključenih 13 zgodnjih rakov dojke, je talazoparib v dveh mesecih pred operacijo in začetkom kemoterapije, zmanjšal volumen tumorja pri vseh pacientkah (27).



Slika 2: Zaviralci PARP, ki so trenutno v različnih fazah kliničnih raziskav. Od leve proti desni si sledijo po padajoči citotoksičnosti. Figure 2: PARP inhibitors currently in different phases of clinical trials, in the order from most (left) to least (right) cytotoxic.



## 7 ZAVIRALCI PARP V KOMBINACIJI Z DRUGIMI ZDRAVILI

V predkliničnih raziskavah so zaviralci PARP močno okrepili delovanje različnih citotoksičnih spojin in radiacije. Olaparib so zato testirali v različnih kombinacijah, npr. s topotekanom, cisplatinom, pegiliranim liposomskim doksorubicinom, karboplatinom in paklitakselom. Vse so bile toksične in niso dovoljevale uporabe olapariba v odmerku, ki bi bil učinkovit (6). Kot učinkovita pa se kaže kombinacija s temozolamidom. To je metilirajoče sredstvo, ki ga uporabljamo za zdravljenje glioblastoma pri pacientih, ki imajo nedelujočo O-6-gvanin-metiltransferazo (MGMT). Kombinacija deluje tako, da temozolamid povzroči poškodbo na DNA, olaparib pa prepreči odpravo poškodbe. Povečanje učinkovitosti temozolamida so pokazali tudi za rukaparib pri melanomu (28). Predlagali so tudi kombinacijo olapariba z imunsko terapijo, predvsem zato, ker imajo celice z okvarjenimi popravljivimi mehanizmi DNA zaradi množice mutacij spremenjene površine in so torej bolj imunogene (29). Kljub temu imunski sistem teh celic ne odstrani, saj je za tumorje znano, da spodbujajo izražanje različnih molekul, ki zavirajo imunski odziv v mikrookolju tumorja. Taka molekula je npr. CTLA4 (*cytotoxic T-lymphocyte-associated protein 4*), ta zavira delovanje limfocitov T (30). V raziskavi na živalskih modelih je tako kombinacija velipariba in protitelesa proti CTLA4, s katerim njegovo delovanje izničimo in spodbudimo odziv limfocitov, pri večini preiskovanih živali povsem odstranila tumorje.

## 8 RAZVOJ ODPORNOSTI PROTI ZAVIRALCEM PARP

Žal celice napredovalih tumorjev s časom razvijejo odpornost tudi proti zaviralcem PARP. Do sedaj poznamo tri mehanizme (18). Zgodi se lahko reverzibilna mutacija gena BRCA, s katero celica ponovno pridobi zmožnost odpravljanja poškodb s homologno rekombinacijo. Lahko pride tudi do povišanega izražanja glikoproteina P in s tem povečanega izčrpavanja spojine iz celice. Tretji način je izguba izražanja proteina 53BP1. To je protein, čigar vezavo na tope konce DNA pri dvojnem prelomu v fazi S regulira BRCA1. Če BRCA1 ni, ostane 53BP1 ves čas vezan in onemogoča procesiranje koncev DNA, ki je nujno za na-

daljnji potek homologne rekombinacije. Če pa ni ne enega ne drugega, lahko homologna rekombinacija spet poteče (31).

## 9 SKLEP

Ne glede na to, da so zaviralci PARP že v uporabi, ostaja glede njihove uporabe še kup odprtih vprašanj. Nanašajo se predvsem na to, katerim pacientom poleg tistih z mutacijo gena BRCA bi tako zdravlilo lahko pomagalo. Poleg tega je pomembno ugotoviti, kako manj raziskane, a vendar pomembne funkcije PARP vplivajo na potek zdravljenja, saj te seveda lahko prispevajo k razvoju neželenih učinkov in omejujejo največji možni odmerek. Pomembno je tudi proučiti možne mehanizme rezistence in načrtovati, kako bi jih lahko preprečili ali obšli. Tako bodo zaviralci PARP uporabni za čim več pacientov v skladu s sodobno težnjo, da se zdravljenje onkološkega pacienta čim bolj personalizira.

## 10 LITERATURA

1. Suzuki H, Quesada P, Farina B et al. *In vitro poly(ADP-ribose)ylation of seminal ribonuclease*. *J Biol Chem* 1986; 261(13): 6048-6055.
2. Rouleau M, Aubin RA, Poirier GG. *Poly(ADP-ribose)ylated chromatin domains: access granted*. *J Cell Sci* 2004; 117(Pt 6): 815-825.
3. Ba X, Garg NJ. *Signaling mechanism of poly(ADP-ribose) polymerase-1 (PARP-1) in inflammatory diseases*. *Am J Pathol* 2011; 178(3): 946-955.
4. Lin W, Amé JC, Aboul-Ela N et al. *Isolation and characterization of the cDNA encoding bovine poly(ADP-ribose) glycohydrolase*. *J Biol Chem* 1997; 272(18): 11895-11901.
5. Schreiber V, Amé J-C, Dollé P et al. *Poly(ADP-ribose) polymerase-2 (PARP-2) is required for efficient base excision DNA repair in association with PARP-1 and XRCC1*. *J Biol Chem* 2002; 277(25): 23028-23036.
6. Pommier Y, O'Connor MJ, de Bono J. *Laying a trap to kill cancer cells: PARP inhibitors and their mechanisms of action*. *Sci Transl Med* 2016; 8(362): 362ps17.
7. Lilyestrom W, van der Woerd MJ, Clark N et al. *Structural and biophysical studies of human PARP-1 in complex with damaged DNA*. *J Mol Biol* 2010; 395(5): 983-994.
8. De Vos M, Schreiber V, Dantzer F. *The diverse roles and clinical relevance of PARPs in DNA damage repair: current state of the art*. *Biochem Pharmacol* 2012; 84(2): 137-146.

9. Farmer H, McCabe N, Lord CJ et al. Targeting the DNA repair defect in BRCA mutant cells as a therapeutic strategy. *Nature* 2005; 434(7035): 917-921.
10. Bryant HE, Schultz N, Thomas HD et al. Specific killing of BRCA2-deficient tumours with inhibitors of poly(ADP-ribose) polymerase. *Nature* 2005; 434(7035): 913-917.
11. Aly A, Ganesan S. BRCA1, PARP, and 53BP1: conditional synthetic lethality and synthetic viability. *J Mol Cell Biol* 2011; 3(1): 66-74.
12. Fong PC, Boss DS, Yap TA et al. Inhibition of poly(ADP-ribose) polymerase in tumors from BRCA mutation carriers. *N Engl J Med* 2009; 361(2): 123-134.
13. Kim G, Ison G, McKee AE et al. FDA Approval Summary: Olaparib Monotherapy in Patients with Deleterious Germline BRCA-Mutated Advanced Ovarian Cancer Treated with Three or More Lines of Chemotherapy. *Clin Cancer Res Off J Am Assoc Cancer Res* 2015; 21(19): 4257-4261.
14. Ledermann J, Harter P, Gourley C et al. Olaparib maintenance therapy in platinum-sensitive relapsed ovarian cancer. *N Engl J Med* 2012; 366(15): 1382-1392.
15. AstraZeneca. AstraZeneca shares progress on LYNPARZATM (olaparib) tablets in the US [Internet]. <https://www.astrazeneca-us.com/media/press-releases/2017/astrazeneca-shares-progress-on-lynparza-olaparib-tablets-in-the-us-03282017.html>. Dostop: 22-6-2017.
16. Mersch J, Jackson MA, Park M et al. Cancers associated with BRCA1 and BRCA2 mutations other than breast and ovarian. *Cancer* 2015; 121(2): 269-275.
17. Gelmon KA, Tischkowitz M, Mackay Het al. Olaparib in patients with recurrent high-grade serous or poorly differentiated ovarian carcinoma or triple-negative breast cancer: a phase 2, multicentre, open-label, non-randomised study. *Lancet Oncol* 2011; 12(9): 852-861.
18. Lord CJ, Ashworth A. PARP inhibitors: Synthetic lethality in the clinic. *Science* 2017; 355(6330): 1152-1158.
19. Watkins JA, Irshad S, Grigoriadis A et al. Genomic scars as biomarkers of homologous recombination deficiency and drug response in breast and ovarian cancers. *Breast Cancer Res BCR* 2014; 16(3): 211.
20. Shen Y, Rehman FL, Feng Y et al. BMN 673, a novel and highly potent PARP1/2 inhibitor for the treatment of human cancers with DNA repair deficiency. *Clin Cancer Res Off J Am Assoc Cancer Res* 2013; 19(18): 5003-5015.
21. Hartmann JT, Lipp H-P. Camptothecin and podophyllotoxin derivatives: inhibitors of topoisomerase I and II - mechanisms of action, pharmacokinetics and toxicity profile. *Drug Saf* 2006; 29(3): 209-230.
22. Antolin AA, Mestres J. Linking off-target kinase pharmacology to the differential cellular effects observed among PARP inhibitors. *Oncotarget* 2014; 5(10): 3023-3028.
23. Tellì ML, Timms KM, Reid J et al. Homologous Recombination Deficiency (HRD) Score Predicts Response to Platinum-Containing Neoadjuvant Chemotherapy in Patients with Triple-Negative Breast Cancer. *Clin Cancer Res Off J Am Assoc Cancer Res* 2016; 22(15): 3764-3773.
24. Swisher EM, Lin KK, Oza AM et al. Rucaparib in relapsed, platinum-sensitive high-grade ovarian carcinoma (ARIEL2 Part 1): an international, multicentre, open-label, phase 2 trial. *Lancet Oncol* 2017; 18(1): 75-87.
25. Kristeleit R, Shapiro GI, Burris HA et al. A Phase I-II Study of the Oral Poly(ADP-ribose) Polymerase Inhibitor Rucaparib in Patients with Germline BRCA1/2-mutated Ovarian Carcinoma or Other Solid Tumors. *Clin Cancer Res Off J Am Assoc Cancer Res* 2017.
26. Mehta MP, Wang D, Wang F et al. Veliparib in combination with whole brain radiation therapy in patients with brain metastases: results of a phase 1 study. *J Neurooncol* 2015; 122(2): 409-417.
27. Litton JK. Frontline PARP inhibitor shrinks tumors in BRCA-positive breast patients. MD Anderson Cancer Center. <https://www.mdanderson.org/newsroom/2016/10/frontline-parp-inhib.html>. Dostop: 22-6-2017.
28. Plummer R, Lorigan P, Steven N et al. A phase II study of the potent PARP inhibitor, Rucaparib (PF-01367338, AG014699), with temozolomide in patients with metastatic melanoma demonstrating evidence of chemopotential. *Cancer Chemother Pharmacol* 2013; 71(5): 1191-1199.
29. Higuchi T, Flies DB, Marjon NA et al. CTLA-4 Blockade Synergizes Therapeutically with PARP Inhibition in BRCA1-Deficient Ovarian Cancer. *Cancer Immunol Res* 2015; 3(11): 1257-1268.
30. Pardoll DM. The blockade of immune checkpoints in cancer immunotherapy. *Nat Rev Cancer* 2012; 12(4): 252-264.
31. Bouwman P, Aly A, Escandell JM et al. 53BP1 loss rescues BRCA1 deficiency and is associated with triple-negative and BRCA-mutated breast cancers. *Nat Struct Mol Biol* 2010; 17(6): 688-695.

