

# Inhibitory polimerazy poli(ADP-rybozy): badania podstawowe i kliniczne

Joyce F. Liu, Daniel P. Silver

Current Opinion in Oncology 2010, 22: 567-572.

## CEL PRACY

Inhibitory polimerazy poli(ADP-rybozy) to obiecująca grupa nowych leków przeciwnowotworowych. W pracy przedstawiono obecny stan wiedzy o mechanizmie ich działania, stanie zaawansowania badań klinicznych oraz możliwych mechanizmach powstawania oporności na te czynniki.

## OSTATNIE ODKRYCIA

Przewidywano, że inhibitory polimerazy poli(ADP-rybozy) powodują śmierć komórek z uszkodzeniami w mechanizmie naprawy DNA na drodze rekombinacji homologicznej oraz działają synergistycznie z chemioterapią cytotoksyczną. Wyniki najnowszych badań klinicznych potwierdziły obie hipotezy. Rozpoczęto też badania, których celem jest poznanie potencjalnych mechanizmów oporności.

## PODSUMOWANIE

Inhibitory polimerazy poli(ADP-rybozy) opracowano z myślą o zwiększeniu śmiertelności komórek nowotworowych w wyniku wykorzystania zjawiska syntetycznej letalności, koncepcji z dziedziny genetyki klasycznej, która może zostać wykorzystana w badaniach nad wskazaniem nowych punktów uchwytu w walce z nowotworami. Inhibitory PARP stosowane samodzielnie wykazują aktywność terapeutyczną wobec nowotworów z zaburzeniami mechanizmu naprawy przez rekombinację homologiczną, mogą też wzmacniać działanie konwencjonalnej chemioterapii cytotoksycznej.

## SŁOWA KLUCZOWE

*BRCA1*, *BRCA2*, inhibitor polimerazy poli(ADP-rybozy), syntetyczna letalność

## WPROWADZENIE

Inhibitory polimerazy poli(ADP-rybozy) (poly ADP-ribose polymerase, PARP) są obiecującym nowym obszarem badań nad lekami przeciwnowotworowymi. Są pierwszymi owocami tzw. syntetycznej letalności, nowej koncepcji powstałej w trakcie prac nad metodami zwalczania nowotworów. W określonych warunkach związki te wydają się aktywne zarówno w monoterapii, jak i w połączeniu z konwencjonalnymi lekami cytotoksycznymi. W niniejszym artykule przedstawiono badania naukowe, które doprowadziły do opracowania tej grupy leków, a także obecny stan

### Dr Liu,

Women's Cancers Program,  
Medical Oncology Department,  
Dana-Farber Cancer Institute,  
Harvard Medical School,  
Boston, Massachusetts,  
Stany Zjednoczone.

### Dr Silver,

Women's Cancers Program,  
Medical Oncology Department  
i Cancer Biology Department,  
Dana-Farber Cancer Institute,  
Harvard Medical School,  
Boston, Massachusetts,  
Stany Zjednoczone.

### Adres do korespondencji:

Daniel P. Silver,  
Sm 870, 1 Jimmy Fund Way,  
Boston, MA 02115,  
USA;  
e-mail: Daniel\_Silver@DFCI.  
Harvard.Edu

badan klinicznych oceniających ich aktywność i potencjalne mechanizmy oporności.

#### POLIMERAZY POLI(ADP-RYBOZY)

PARP to rodzina enzymów zdolnych do dołączania rozgałęzionych łańcuchów ADP-rybozy do białek. Istnieje 16 genów kodujących strukturalnie spokrewnione białka należące do tej rodziny, jednak tylko sześć prawdopodobnie wykazuje aktywność polimerazową.<sup>1,2</sup> Enzymy te przenoszą dinukleotyd nikotynoamidoadeninowy (NAD<sup>+</sup>) na reszty glutaminianu i lizyny w białkach akceptorowych, tworząc rozgałęzione łańcuchy ADP-rybozy. Już przed ponad 30 laty wykazano, że PARP są aktywowane obecnością pęknięć w nici DNA.<sup>3-5</sup> Shall i wsp.<sup>5</sup> stwierdzili, że PARP odgrywają istotną rolę w naprawie DNA, a zahamowanie ich aktywności może nasilać niszczenie komórek przez leki cytotoksyczne. PAPER1 jest szybko rekrutowana do różnych uszkodzeń w DNA, gdzie jej katalityczna aktywność znacznie wzrasta, prowadząc do przeniesienia rozgałęzionych łańcuchów poli(ADP-rybozy) zarówno na własną cząsteczkę polimerazy, jak i na sąsiadujące białka chromatyny. Takie modyfikacje kierują do miejsca uszkodzenia szereg białek uczestniczących w naprawie DNA, w tym XRCC1,<sup>6,7</sup> białko uczestniczące w naprawie DNA przez wycinanie zasad, jednego z podstawowych mechanizmów naprawy DNA. Jeśli DNA jest poważnie uszkodzony, w trakcie syntezy poli(ADP-rybozy) komórka zużywa znaczące ilości NAD<sup>+</sup>, co może prowadzić do indukacji różnych odmian śmierci komórkowej. Z takim zjawiskiem mamy do czynienia w przypadku incydentów niedokrwiennych. Możliwe wykorzystanie inhibitorów PARP do nasilenia aktywności leków cytotoksycznych oraz ograniczenia uszkodzeń wynikających z niedokrwienia doprowadziło do zaangażowania przemysłu farmaceutycznego w prace nad lekami tej klasy. Niedawno odkryto, że inhibitory PARP wybiórczo niszczą komórki z uszkodzeniami w mechanizmach naprawy DNA przez homologiczną rekombinację, co zwróciło uwagę na ich potencjalną przydatność w leczeniu przeciwnowotworowym.

#### ODDZIAŁYWANIA SYNTETYCZNE LETALNE – SYNTETYCZNA LETALNOŚĆ

Ukierunkowanie działań na geny supresorowe nowotworów i inne swoiste dla nowotworów cechy jest ważnym wyzwaniem w farmakologii. W 1997 r. Hartwell i wsp.<sup>8</sup> wykazali, że oddziaływania syntetyczne letalne (zwane w skrócie syntetyczną letalnością) mogą wskazać nowy sposób odnajdywania punktów uchwytu

dla leków. Syntetyczna letalność jest terminem wywodzącym się z genetyki klasycznej. Określa on związek między dwoma genami, X i Y. Syntetyczna letalność między genem X a genem Y oznacza, że odrębne mutacje w każdym z tych genów nie wpływają na fenotyp komórki, ale jednoczesne występowanie mutacji w obu tych genach powoduje śmierć komórki. Koncepcja ta może znaleźć zastosowanie w opracowywaniu leków przeciwnowotworowych. Jeśli bowiem gen X jest genem supresorowym, punktem uchwytu działania leku mógłby być gen Y, nie zaś mutacja. Należałoby zatem wskazać geny syntetycznie letalne w połączeniu z genem supresorowym. Można je wyodrębnić klasycznymi metodami genetycznymi, nowymi bardzo wydajnymi metodami wyciszania ekspresji genów<sup>9</sup> lub na podstawie analiz teoretycznych/bioinformatycznych. W odniesieniu do inhibitorów PARP wykorzystano ostatnią z tych metod.

W dwóch niezależnych badaniach wykazano, że przy braku aktywności PARP obserwowano zwiększenie aktywności genu *RAD51*.<sup>10,11</sup> Produkt tego genu, białko *RAD51*, jest jednym z kluczowych białek uczestniczących w naprawie DNA przez homologiczną rekombinację. Można więc sądzić, że komórki pozbawione aktywności PARP1, a przez to realizacji naprawy przez wycinanie zasad, w większym stopniu wykorzystują alternatywne systemy naprawy DNA, w tym naprawy przez homologiczną rekombinację. Naprawa przez wycinanie zasad jest przede wszystkim odpowiedzialna za naprawę pirymidynowych/purynowych miejsc i oksydacyjnych uszkodzeń DNA. Ich liczbę w komórce szacuje się na kilka tysięcy w ciągu doby.<sup>12</sup> Wobec braku aktywności PARP1 takie uszkodzenia są usuwane przez enzymy, biorące udział w początkowych etapach naprawy przez wycinanie zasad, jednak powstające pęknięcia pojedynczej nici DNA pozostają niezłączone. Niektóre z nich mogą się przekształcić w trakcie replikacji w dwuniciowe pęknięcia. Zakumulowane uszkodzenia są następnie naprawiane na drodze homologicznej rekombinacji. Jeśli system ten jest uszkodzony, wzrasta liczba nienaprawionych pęknięć DNA, co może prowadzić do śmierci komórki. Ponieważ *BRCA1* i *BRCA2* odgrywają kluczową rolę w rekombinacji homologicznej, założono, że każdy z nich osobno może pozostawać w związku syntetycznej letalności z PARP1, co okazało się prawdą.

Kolejne badania dostarczyły wiarygodnych informacji o mechanizmie powodowania śmierci komórki przez inhibitory PARP w warunkach, w których nie występują *BRCA1* ani *BRCA2*. McCabe i wsp.<sup>13</sup> ocenili wiele genów niezbędnych do wystąpienia homologicznej rekombinacji, pozostających w syntetycznej letalności z PARP. Wyniki przeprowadzonych przez nich badań doświadczalnych ujawniły, że komórki pozbawione któregośkolwiek z następujących białek: *RAD51*, *DSS1*, *RPA1* lub *RAD54* (wszystkie są integralnymi elemen-

tami naprawy przez rekombinację homologiczną), są dość wrażliwe na inhibitory PARP. Ponadto hamowanie białek przekąźnikowych ATM i ATR, uczestniczących w rekombinacji homologicznej, przy jednoczesnym podawaniu inhibitorów PARP także skracало przeżycie komórek. Również białka związane z niedokrwistością Fanconiego, prawdopodobnie uczestniczące w homologicznej rekombinacji, wykazywały związek syntetycznej letalności z hamowaniem PARP. Ponadto w wielkoskalowym badaniu wykorzystującym zjawisko wyciszania ekspresji genów naprawczych za pomocą interferencyjnego RNA<sup>14•</sup> potwierdzono, że geny o kluczowym znaczeniu dla rekombinacji homologicznej pozostawały w związku o charakterze syntetycznej letalności z hamowaniem PARP. Podsumowując, przedstawione wyniki wskazują, że jakiegokolwiek zaburzenie hamujące mechanizm naprawy za pomocą homologicznej rekombinacji w połączeniu z hamowaniem aktywności PARP może prowadzić do śmierci komórek. Opierając się na tych założeniach, rozpoczęto badania kliniczne oceniające skuteczność inhibitorów PARP w dowolnym typie nowotworów z zaburzeniami w mechanizmie rekombinacji homologicznej, takich jak raki piersi i jajnika związane z uszkodzeniami w *BRCA1* lub *BRCA2*.

## BADANIA KLINICZNE

Trwają badania kliniczne poświęcone wielu inhibitorom PARP (tabela).<sup>15•,16••,17-20,21•</sup> Drogi i schematy podawania inhibitorów PARP są różne, podobnie jak ich wykorzystywanie w prowadzonych badaniach. W wybranych grupach chorych ocenia się przede wszystkim skuteczność monoterapii inhibitorami oraz ich przydatność w leczeniu skojarzonym ze standardowymi chemioterapeutykami.

Monoterapia u nosicieli mutacji *BRCA*

Celem pierwszych badań klinicznych nad monoterapią inhibitorami PARP było ustalenie sposobu wykorzystania syntetycznej letalności w połączeniu z zaburzeniami w rekombinacji homologicznej u chorych na raka, będących nosicielami mutacji *BRCA1* lub *BRCA2*. Fong i wsp.<sup>16••</sup> przeprowadzili badanie I fazy, podczas którego stosowali inhibitor PARP, olaparib. W grupie badanej była zwiększona populacja nosicieli mutacji w genach *BRCA*. U chorych na zaawansowane nowotwory łite zastosowano eskalację dawki, po czym stworzono kohortę złożoną wyłącznie z nosicieli mutacji *BRCA*.

TABELA

Inhibitory polimerazy poli(ADP-rybozy) w badaniach klinicznych					
Inhibitor PARP	Producent	Cechy charakterystyczne	Droga podania	Badania oceniające monoterapię ( <a href="http://clinicaltrials.gov/">http://clinicaltrials.gov/</a> )	Badania oceniające leczenie skojarzone ( <a href="http://clinicaltrials.gov/">http://clinicaltrials.gov/</a> )
AG014699/ PF-01367338 <sup>15•</sup>	Pfizer	Inhibitor PARP1/2, Ki <5 nmol; t <sub>1/2</sub> : 9,5 h	IV	Nosicielki mutacji <i>BRCA</i>	Badanie I fazy, ocena wielu schematów chemioterapii, Liczne
Olaparib (KU-0059436; AZD2281) <sup>16••,17</sup>	KuDOS/ Astra Zeneca	Inhibitor PARP1/2; Ki (PARP1): 5 nmol; Ki (PARP2): 1 nmol; t <sub>1/2</sub> : 5–7h	PO	Nosicielki mutacji <i>BRCA</i> (badanie II fazy, raki jajnika i piersi), sporadyczny rak jajnika, potrójnie ujemny rak piersi, rak jelita grubego	Liczne
Veliparib (ABT-888) <sup>18,19</sup>	Abbott	Inhibitor PARP1/2; Ki (PARP1): 5,2 nmol; Ki (PARP2): 2,9 nmol; t <sub>1/2</sub> : kilka godzin	PO	Nosicielki mutacji <i>BRCA</i>	Liczne
Iniparib (BSI-201) <sup>20</sup> MK-4827 <sup>21•</sup>	BiPAR/Sanofi- Aventis Merck	Inhibitor PARP1/2; Ki (PARP1): 3,8 nmol; Ki (PARP2): 2,1 nmol; t <sub>1/2</sub> : 37–42 h	IV PO	Nosicielki mutacji <i>BRCA</i> , rak jajnika Nosicielki mutacji <i>BRCA</i> , sporadyczny rak jajnika, oporny na leczenie antyandrogenowe rak gruczołu krokowego	Carbo/gem/BSI-201 (badanie II fazy, rak piersi), liczne Badanie I fazy planowane
CEP-9722 INO-1001	Cephalon Inotek		PO IV	Zawał serca z uniesieniem odcinka ST, chorzy obciążeni dużym ryzykiem poddani pomostowaniu aortalno-więcicowemu	Badanie I fazy z temozolomidem Badanie I fazy z temozolomidem u chorych na czerniaka (przerwane)

IV – dożylnie, PARP – polimeraza poli(ADP-rybozy), PO – doustnie.

Ogółem nosicielami mutacji *BRCA* było 22 spośród 60 chorych. Olaparib był dobrze tolerowany, a głównymi działaniami niepożądanymi okazały się nudności, zmęczenie i jadłowstręt. Wśród chorych niebędących nosicielami mutacji *BRCA* nie obserwowano ani jednej odpowiedzi na leczenie. Natomiast wśród 19 chorych na raka jajnika, piersi lub gruczołu krokowego, będących nosicielami mutacji *BRCA1* lub *BRCA2*, u których nowotwór można było ocenić, u 12 stwierdzono odpowiedź radiologiczną lub wyraźną stężeniami markerów nowotworowych albo radiologiczną stabilizację nowotworu. Ponad połowa uczestników tego badania była wcześniej leczona co najmniej czterema schematami, a mimo to w wybranej grupie monoterapia okazała się skuteczna.

Wyniki tego badania skłoniły do dalszej oceny przydatności monoterapii inhibitorami PARP u nosicieli mutacji *BRCA*. Po ujawnieniu aktywności olaparibu w badaniach I fazy rozpoczęto dwa badania II fazy, podczas których stosowano go u nosicielek mutacji *BRCA* chorych na raka piersi lub raka jajnika. Wstępne wyniki tych badań przedstawiono na kongresie American Society of Clinical Oncology (ASCO) w czerwcu 2009 r. Oba badania zaprojektowano podobnie, z pojedynczym ramieniem. Chorym podawano lek kolejno w dwóch dawkach: 400 mg dwa razy na dobę i 100 mg dwa razy na dobę. Do pierwszego z badań włączono ogółem 54 chore na raka piersi (po 27 w każdej z grup).<sup>22</sup> Mediana liczby dotychczasowych metod leczenia wyniosła w obu grupach 3, a 22% chorych z grupy dawki 400 mg leku i 30% z grupy dawki 100 mg otrzymywało wcześniej pochodne platyny. W grupie otrzymującej dawkę 400 mg obserwowano 10 (37%) odpowiedzi częściowych i jedną (4%) odpowiedź całkowitą, a w grupie otrzymującej dawkę 100 mg 6 (22%) odpowiedzi częściowych. W drugim z badań uczestniczyły chore na raka jajnika, z których 33 otrzymały lek w dawce 400 mg, a 24 w dawce 100 mg.<sup>23</sup> Wszystkie chore były leczone wcześniej pochodnymi platyny. W grupie otrzymującej dawkę 400 mg mediana dotychczasowych metod leczenia wyniosła 3, a u 79% stwierdzono oporność na działanie pochodnych platyny, za którą uznano progresję nowotworu przed upływem pół roku od przyjęcia ostatniej dawki pochodnej platyny. W grupie dawki 100 mg mediana dotychczasowych metod leczenia wyniosła 4, a oporność na pochodne platyny obserwowano u 67% chorych. Odpowiedź spełniającą warunki Response Evaluation Criteria in Solid Tumors (RECIST) odnotowano u 11 (33%) chorych z grupy otrzymującej dawkę 400 mg i 3 (13%) chorych z grupy otrzymującej dawkę 100 mg. Zakończono też nabór do otwartego badania II fazy, porównującego skuteczność olaparibu ze skutecznością pegylowanej liposomalnej doksorubicyny u nosicielek mutacji *BRCA* (ICEBERG-3) w grupie chorych na na-

wrotowego zaawansowanego raka jajnika. Ostateczne wyniki tego badania nie zostały jeszcze opublikowane (<http://clinicaltrials.gov/>).

Trwają także intensywne badania nad monoterapią z użyciem innych inhibitorów PARP u nosicieli mutacji *BRCA*. Na ostatnim kongresie ASCO w czerwcu 2010 r. Sandhu i wsp.<sup>21</sup> przedstawili wstępne wyniki pierwszego przeprowadzonego w grupie chorych badania z użyciem inhibitora PARP, MK-4827. W tym badaniu I fazy uczestniczyło wiele nosicielek mutacji *BRCA*, a w leczeniu stosowano eskalację dawki MK-4827. Wśród 56 chorych z grupy eskalacji dawki nosicielkami mutacji *BRCA1* lub *BRCA2* było 19 chorych na raka jajnika i 4 chore na raka piersi. Częściową odpowiedź według RECIST stwierdzono odpowiednio u 6 i 2 chorych. Chore uczestniczące w tym badaniu były już wcześniej leczone, a 40 spośród 56 otrzymało co najmniej cztery linie leczenia. Trwają również badania nad monoterapią inhibitorami PARP u chorych na nowotwory, którzy nie są nosicielami mutacji w *BRCA*. Są w nich oceniane ABT-888 (veliparib) i PF-01367338 (AG014699) ([http://clinicaltrials.gov](http://clinicaltrials.gov/)). Zakończono też nabór do badania skuteczności monoterapii BSI-201 (iniparib) u chorych na raka jajnika, które nie są nosicielkami mutacji w *BRCA*. Wyniki tego badania nie zostały jeszcze opublikowane (<http://clinicaltrials.gov/>).

#### Monoterapia u chorych na nowotwory sporadyczne

Wykazanie możliwości zastosowania monoterapii inhibitorami PARP u chorych na nowotwory, którzy są nosicielami mutacji *BRCA*, zachęciło do zbadania ich skuteczności w leczeniu nowotworów sporadycznych, cechujących się uszkodzeniami w naprawie przez homologiczną rekombinację. Obszar zainteresowań badawczych objął sporadyczne nowotwory jajnika i potrójnie ujemne raki piersi. Chociaż mutacje w linii zarodkowej w genie *BRCA* występują zaledwie u 10-15% chorych na raka jajnika,<sup>24,25</sup> duża wrażliwość tego nowotworu na pochodne platyny sugeruje, że w wielu sporadycznych rakach jajnika mogą występować również inne zaburzenia w mechanizmie naprawy przez homologiczną rekombinację. Rzeczywiście, w wielu rakach jajnika wykazano zaburzenia nie tylko czynności *BRCA*, ale także innych białek uczestniczących w naprawie DNA przez homologiczną rekombinację.<sup>26-28</sup> Podobnie sporadyczne potrójnie ujemne raki piersi wykazują wiele cech, które upodabniają je do raków piersi powstających u heterozygot *BRCA1*.<sup>29,30</sup> Niektóre z nich są wrażliwe na pochodne platyny,<sup>31</sup> co sugerowało, że w niektórych spośród tych raków piersi dochodzi do uszkodzeń w mechanizmie rekombinacji homologicznej, dzięki czemu stają się one wrażliwe na działanie inhibitorów PARP.

Obecnie prowadzi się kilka badań oceniających skuteczność monoterapii inhibitorami PARP u chorych na wspomniane nowotwory. Zakończono nabór do randomizowanego badania II fazy z podwójnie ślepą próbą oceniającego przydatność olaparibu w leczeniu podtrzymującym po drugiej linii leczenia opartego na pochodnych platyny u chorych na raka jajnika wrażliwego na pochodne platyny (<http://clinicaltrials.gov/>). W części omówionego wyżej badania z użyciem zwiększonej dawki MK-4827 znajdują się grupy chorych na sporadycznego surowiczego raka jajnika o dużym stopniu złośliwości opornego na pochodne platyny, a także chorzy na sporadycznego raka gruczołu krokowego opornego na leczenie antyandrogenowe.<sup>21•</sup> Gelmon i wsp.<sup>32•</sup> przedstawili ostatnio wstępne wyniki badania II fazy z użyciem olaparibu u chorych na zaawansowanego surowiczego raka jajnika lub potrójnie ujemnego raka piersi. Było to otwarte badanie korelacyjne, którego uczestniczki powinny wykazywać jedną z następujących cech: zaawansowany potrójnie ujemny rak piersi, rak piersi ze znaną mutacją *BRCA*, surowiczy rak jajnika o dużym stopniu złośliwości lub niezróżnicowany rak jajnika, jajowodu albo otrzewnej, rak jajnika, jajowodu lub otrzewnej ze znaną mutacją *BRCA*. Po włączeniu do badania u wszystkich uczestniczek wykonano badanie przesiewowe w kierunku mutacji *BRCA* w linii zarodkowej. Mediana przebytych dotąd metod leczenia wyniosła trzy. W grupie raka jajnika ocenianej według kryteriów RECIST odpowiedź na leczenie olaparibem stwierdzono u siedmiu spośród 17 (41%) chorych na raka z mutacją *BRCA* w linii zarodkowej. Co ciekawe, taką odpowiedź obserwowano również u 11 spośród 46 (24%) chorych na raka jajnika bez mutacji *BRCA* w linii zarodkowej. Wyniki te można uznać za zachęcające, choć pewne obawy budzi brak odpowiedzi RECIST wśród chorych na raka piersi zarówno z mutacjami ( $n=8$ ), jak i bez mutacji ( $n=15$ ) *BRCA*. Wyniki te są sprzeczne z rezultatami, które rok wcześniej przedstawili Tutt i wsp.<sup>22•</sup> Może to być skutkiem odmienności podstawowych cech uczestniczek obu tych badań lub zbyt małej liczby chorych na raka piersi z mutacją *BRCA* w badaniu Gelmona i wsp., uniemożliwiającej osiągnięcie wystarczającej mocy statystycznej. Co ważne, Gelmon i wsp.<sup>32</sup> udowodnili biologiczną aktywność olaparibu u chorych na raka piersi z mutacją *BRCA*, mimo że nie stwierdzili odpowiedzi zgodnej z kryteriami RECIST. Wyjaśnienie tego zagadnienia wymaga przeprowadzenia dalszych badań.

Leczenie skojarzone

Wyniki badań przedklinicznych, świadczące o nasileniu działania chemioterapeutyków przez inhibitory PARP, wzbudziły duże zainteresowanie.<sup>5</sup> W modelach przedklinicznych inhibitory PARP zwiększały aktyw-

ność leków alkilujących DNA, takich jak temozolomid, a także inhibitorów topoiizomerazy I, np. topotekanu lub irynotekanu, ponadto nasilały działanie radioterapii.<sup>33,34</sup> Trwa nabór do kilku badań oceniających bezpieczeństwo i skuteczność różnych schematów chemioterapii w połączeniu z inhibitorami PARP, w tym ABT-888, olaparibem, BSI-201, PF-01367338 (AG014699) i CEP-9722 (<http://clinicaltrials.gov/>).

Podczas kongresu ASCO w 2009 r. O'Shaughnessy i wsp.<sup>35••</sup> przedstawili wstępne wyniki prawdopodobnie najważniejszego badania oceniającego włączenie inhibitorów PARP do leczenia skojarzonego. Było to wielośrodkowe otwarte badanie II fazy, przeprowadzone z udziałem 123 chorych na potrójnie ujemnego raka piersi z przerzutami. Przydzielono je losowo do grupy otrzymującej karboplatinę z gemcytabiną lub karboplatinę z gemcytabiną i inhibitorem PARP BSI-201. Wstępna ocena skuteczności wykazała odsetek odpowiedzi wynoszący 16% w grupie karboplatyny z gemcytabiną w porównaniu z 48% w grupie karboplatyny z gemcytabiną i BSI-201 ( $p=0,002$ ). W grupie otrzymującej skojarzoną chemioterapię z BSI-201 stwierdzono też znamienne statystycznie wydłużenie czasu przeżycia bez progresji nowotworu (6,9 vs 3,3 miesiąca,  $p < 0,0001$ ) i przeżycia całkowitego (9,2 vs 5,7 miesiąca,  $p=0,0005$ ). Zakończono nabór uczestniczek do zaprojektowanego podobnie badania III fazy, którego wyniki są spodziewane już wkrótce (<http://clinicaltrials.gov/>). Taki schemat leczenia skojarzonego jest również oceniany w badaniach II fazy prowadzonych z udziałem chorych na raka jajnika wrażliwego lub opornego na działanie pochodnych platyny (<http://clinicaltrials.gov/>). Trzeba dodać, że nadal nie wiadomo, czy korzyść obserwowana przez O'Shaughnessy i wsp. wynikała wyłącznie z działania BSI-201 ukierunkowanego przeciw PARP, czy odzwierciedlała wzrost skuteczności gemcytabiny i karboplatyny pod wpływem BSI-201.

#### OPORNOŚĆ

Badanie mechanizmów oporności pozwala dokładniej zrozumieć zarówno sposób działania terapii, jak i przyczyny jej niepowodzenia. Jest to szczególnie istotne, gdy chcemy zrozumieć rolę inhibitorów PARP. Jonkers i wsp.<sup>36•</sup> wykorzystali model myszy *Brc1* w badaniach nad przyczyną oporności na inhibitory PARP, olaparib. W modelu tym eksony 5-13 genu *Brc1* ulegają delecji w odpowiedzi na działanie rekombinazy Cre pod promotorem keratyny 14. Aby przeanalizować mechanizm oporności na inhibitory PARP, nowotwory powstające u tych myszy podzielono i przeszczepiono ortotopowo syngenicznym

biorcom. Początkowo obserwowano odpowiedź nowotworów na olaparib, ale ostatecznie u wszystkich zwierząt wystąpiła oporność. W 12 spośród 15 nowotworów opornych na działanie olapranibu stwierdzono zwiększenie ekspresji mysich odpowiedników transporterów przez błonowych zależnych od ATP, MDR1 i MDR2. Pokonywanie oporności polegało przede wszystkim na dodaniu inhibitora oporności wielolekowej (multidrug resistance, MDR). Zgodnie z mechanizmem działania MDR nowotwory oporne na antracyklinę były też oporne na olaparib. Warto zauważyć, że w wykorzystanym modelu mysim rozległe delecje w *BRCA1* zapobiegają rewersji mutacji *BRCA1*, mechanizmowi oporności opisanemu w dalszej części artykułu.

Ashwort i wsp.<sup>37</sup> wybrali 12 klonów opornych na inhibitory PARP spośród linii ludzkich komórek trzustki CapaN1, homozygotycznej pod względem mutacji 6174delT w genie *BRCA2*. Stężenie leku wymagane w celu zmniejszenia wzrostu o 50% opornych klonów było 1000-krotnie większe od stężenia koniecznego do uzyskania podobnego wyniku w oryginalnej linii komórkowej wrażliwej na te inhibitory. W porównaniu z ich linią macierzystą klony były również oporne na cisplatynę, lecz nie na docetaxel. W 11 z nich występowały nowe allele *BRCA2* zawierające rozległe delecje, w tym 6174delT oraz delecje licznych eksonów. We wszystkich przywrócona była ramka odczytu oraz C-koniec *BRCA2*. W dwunastym z opornych klonów delecja obejmowała 458 par zasad, w tym 6174delT, przywracającą ramkę odczytu i niemal pełną długość *BRCA2*. Co ciekawe, niemal wszystkie z tych nowych delecji zawierały krótkie fragmenty o podobnej sekwencji w miejscach nowych połączeń.

Sugeruje to, że przy braku możliwości homologicznej rekombinacji z drugim allelem *BRCA2* w powstawaniu tych delecji może uczestniczyć mechanizm niehomologicznego łączenia końców lub annealingu jednoniciowych fragmentów. Ponadto w komórkach opornych wszystkie te nowo powstałe allele *BRCA2* mogą uczestniczyć w homologicznej rekombinacji, a każdy z nich wprowadzony do niezmodyfikowanych komórek CapaN1 samodzielnie prowadzi do wystąpienia oporności na olaparib. Oporność tych klonów na cisplatynę sugeruje, że punktem uchwytu działania tego konwencjonalnego leku cytotoksycznego są także zaburzenia homologicznej rekombinacji. Taniguchi i wsp.<sup>38</sup> wykorzystali tę cechę cisplatyny i wyodrębnili klony CapaN1 oporne na cisplatynę. W wyjściowej puli liczącej 12 milionów komórek odnaleźli 14 takich klonów. W siedmiu z nich występowały niewielkie delecje lub insercje w pobliżu 6174delT, korygujące ramkę odczytu *BRCA2*. Klony te były także oporne na PARP. W podobnym bada-

niu oceniającym oporność na cisplatynę raków jajnika z mutacjami *BRCA1* lub *BRCA2* w 11 spośród 35 nawrotowych raków stwierdzono wtórne mutacje w jednym z tych genów. Poza jedną uczestniczką tego badania u wszystkich pozostałych rak jajnika był oporny na leczenie cisplatyną.<sup>39</sup> Większość mutacji odpowiadających za oporność bezpośrednio przywracała prawidłową sekwencję *BRCA1* lub *BRCA2*, a dwie powodowały nowe przesunięcia w ramce odczytu, przywracając ramkę odczytu *BRCA1* lub *BRCA2*, a prawdopodobnie również mechanizm homologicznej rekombinacji.

Dane pochodzące z badań klinicznych również potwierdzają występowanie bliskiego związku między opornością na pochodne platyny a opornością na inhibitory PARP u chorych na raka jajnika. Fong i wsp.<sup>40</sup> analizowali zależność między wrażliwością lub opornością na pochodne platyny w chwili włączenia do badania. Oceniano w nim wpływ monoterapii inhibitorem PARP, olaparibem, u 50 chorych na raka jajnika związanego z *BRCA1* lub *BRCA2*. Największy odsetek odpowiedzi klinicznych na leczenie odnotowano wśród chorych wrażliwych na pochodne platyny w chwili rozpoczęcia udziału w badaniu, najmniejszy zaś wśród chorych opornych na pochodne platyny.

Autorzy dwóch opublikowanych niedawno doniesień sugerują inną możliwą przyczynę braku wrażliwości nowotworów związanych z *BRCA1* na inhibitory PARP.<sup>41,42</sup> Białko 53BP1 odpowiada na uszkodzenie DNA. W modelu mysim, w którym wyeliminowano ekson 11 genu *Brcal1*, utrata genu kodującego białko 53BP1 chroni przed obumieraniem zarodków, przedwczesnym starzeniem oraz podatnością na wystąpienie nowotworów.<sup>43</sup> Podjęto zatem badania mające wyjaśnić, czy delecja 53BP1 może przywracać mechanizm homologicznej rekombinacji przy braku *BRCA1*. Niewykluczone, że tak jest. W komórkach pozbawionych *BRCA1* zahamowanie aktywności białka 53BP1 wywołuje oporność na inhibitory PARP,<sup>42</sup> a utrata 53BP1 powoduje utratę wrażliwości na cisplatynę przy braku *BRCA1*, lecz nie *BRCA2*.<sup>41</sup> Wyniki te sugerują, że przy braku *BRCA1* przyczyną oporności na leczenie może być utrata 53BP1. Słuszność tego założenia wymaga potwierdzenia w badaniach klinicznych.

#### PODSUMOWANIE

W niniejszym artykule skupiono się na wynikach badań doświadczalnych oceniających inhibitory PARP, omówiono też dotychczasowy stan badań klinicznych poświęconych ich zastosowaniu w leczeniu chorych na nowotwory złośliwe. Aktywność tej grupy leków wobec niektórych nowotworów skłania ku wykorzy-

staniu koncepcji syntetycznej letalności w badaniach nad lekami przeciwnowotworowymi. Należy zauważyć, że związane z *BRCA1* lub *BRCA2* raki piersi i raki jajnika prawdopodobnie nie są jedynymi nowotworami z zaburzeniami w homologicznej rekombinacji. Z całą pewnością powinno się ocenić skuteczność inhibitorów PARP u chorych na nowotwory trzustki związane z *BRCA2*. Nie opracowano dotąd wiarygodnych metod określających rolę homologicznej rekombinacji w poszczególnych rodzajach nowotworów. Mogłyby one wskazywać, u których chorych na nowotwory byłoby korzystne zastosowanie inhibitorów PARP. Nie wiadomo też, czy odpowiedź nowotworu na skojarzone leczenie inhibitorami PARP i konwencjonalnymi lekami cytotoksycznymi zależy od występowania w ich komórkach zaburzeń w naprawie DNA. Odpowiedź na to pytanie ułatwiłaby wskazanie nowotworów, w których można byłoby zastosować takie postępowanie. Z pewnością ta obiecująca grupa leków będzie w najbliższych latach przedmiotem kolejnych badań.

#### OŚWIADCZENIE

Dr Silver otrzymuje wynagrodzenie za konsultacje dla Intek Pharmaceuticals. Dr Liu nie zgłasza konfliktów interesów w związku z niniejszym artykułem. Dr Silver zgłasza otrzymanie funduszu na badania z National Cancer Institute Specialized Program in Research Excellence in Breast Cancer przy Dana-Farber/Harvard Cancer Center (CA89393) oraz z Cogan Family Foundation. Dr Liu otrzymuje fundusze na badania z National Cancer Institute Paul Calabresi Award (K12) (CA 087723-07), American Recovery and Reinvestment Act Award (NIH 3 U01 CA062490-16S2), oraz stypendium z Women's Cancers Program Executive Council przy Dana-Farber Cancer Institute.

Tłumaczenie oryginalnej angielskiej wersji artykułu z *Current Opinion in Oncology*, November 2010, 22 (6): 567-572, wydawanego przez Lippincott Williams & Wilkins. Lippincott Williams & Wilkins nie ponosi odpowiedzialności za błędy powstałe w wyniku tłumaczenia ani nie popiera i nie poleca jakichkolwiek produktów, usług lub urządzeń.

#### PIŚMIENNICTWO

• szczególnie interesujące • • wyjątkowo interesujące

- Hassa PO, Hottiger MO. The diverse biological roles of mammalian PARPs, a small but powerful family of poly(ADP-ribose) polymerases. *Front Biosci* 2008; 13:3046-3082.
- Kleine H, Poreba E, Lesniewicz K, et al. Substrate-assisted catalysis by PARP10 limits its activity to mono-ADP-ribosylation. *Mol Cell* 2008;32:57-69.
- Juarez-Salinas H, Sims JL, Jacobson MK. Poly-(ADP-ribose) levels in carcinogen-treated cells. *Nature* 1979;282:740-741.
- Benjamin RC, Gill DM. ADP-ribosylation in mammalian cell ghosts. Dependence of poly(ADP-ribose) synthesis on strand breakage in DNA. *J Biol Chem* 1980; 255:10493-10501.
- Durkacz BW, Omidiji O, Gray DA, Shall S. (ADP-ribose)<sub>n</sub> participates in DNA excision repair. *Nature* 1980;283:593-596.
- El-Khamisy SF, Masutani M, Suzuki H, Caldecott KW. A requirement for PARP-1 for the assembly or stability of XRCC1 nuclear foci at sites of oxidative DNA damage. *Nucleic Acids Res* 2003;31:5526-5533.
- Masson M, Niedergang C, Schreiber V, et al. XRCC1 is specifically associated with poly(ADP-ribose) polymerase and negatively regulates its activity following DNA damage. *Mol Cell Biol* 1998;18:3563-3571.
- Hartwell LH, Szankasi P, Roberts CJ, et al. Integrating genetic approaches into the discovery of anticancer drugs. *Science* 1997;278:1064-1068.
- Kaelin WG Jr. The concept of synthetic lethality in the context of anticancer therapy. *Nat Rev Cancer* 2005; 5:689-698.
- Farmer H, McCabe N, Lord CJ, et al. Targeting the DNA repair defect in BRCA mutant cells as a therapeutic strategy. *Nature* 2005;434:917-921.

- Farmer i wsp. i Bryant i wsp. jako pierwsi wykazali syntetyczną letalność między PARP a *BRCA1* lub *BRCA2*.
- Bryant HE, Schultz N, Thomas HD, et al. Specific killing of BRCA2-deficient tumours with inhibitors of poly(ADP-ribose) polymerase. *Nature* 2005;434:913-917.
- Farmer i wsp. i Bryant i wsp. jako pierwsi wykazali syntetyczną letalność między PARP a *BRCA1* lub *BRCA2*.
- Lindahl T. The Croonian Lecture, 1996: endogenous damage to DNA. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 1996;351:1529-1538.
- McCabe N, Turner NC, Lord CJ, et al. Deficiency in the repair of DNA damage by homologous recombination and sensitivity to poly(ADP-ribose) polymerase inhibition. *Cancer Res* 2006;66:8109-8115.
- Lord CJ, McDonald S, Swift S, et al. A high-throughput RNA interference screen for DNA repair determinants of PARP inhibitor sensitivity. *DNA Repair (Amst)* 2008;7:2010-2019.
- Badanie przesiewowe potwierdzające słuszność założenia, że zaburzenia w rekombinacji homologicznej pozostają w związku syntetycznej letalności z hamowaniem aktywności PARP
- Plummer R, Jones C, Middleton M, et al. Phase I study of the poly(ADP-ribose) polymerase inhibitor, AG014699, in combination with temozolomide in patients with advanced solid tumors. *Clin Cancer Res* 2008; 14:7917-7923.
- Badanie potwierdzające, że inhibitory PARP mogą nasilać działanie leków cytotoksycznych.
- 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;361:123-134.
- Po raz pierwszy udowodniono w praktyce klinicznej aktywność monoterapii inhibitorami PARP u chorych na nowotwory związane z *BRCA1* lub *BRCA2*.
- Menear KA, Adcock C, Boulter R, et al. 4-[3-(4-cyclopropanecarbonyl)piperazine-1-carbonyl]-4-fluorobenzyl]-2H-phthalazin-1-one: a novel bioavailable inhibitor of

- poly(ADP-ribose) polymerase-1. *J Med Chem* 2008; 51:6581-6591.
- Donawho CK, Luo Y, Luo Y, et al. 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.
- Kummar S, Kinders R, Gutierrez ME, et al. Phase 0 clinical trial of the poly(ADP-ribose) polymerase inhibitor ABT-888 in patients with advanced malignancies. *J Clin Oncol* 2009;27:2705-2711.
- Kopetz S, Mita MM, Mok I, et al. First in human phase I study of BSI-201, a small molecule inhibitor of poly(ADP-ribose) polymerase (PARP) in subjects with advanced solid tumors. *J Clin Oncol* 2008;26:abstract 3577.
- Sandhu SK, Wenham RM, Wilding G, et al. First-in-human trial of a poly(ADP-ribose) polymerase (PARP) inhibitor MK-4827 in advanced cancer patients (pts) with antitumor activity in BRCA-deficient and sporadic ovarian cancers. *J Clin Oncol* 2010;28:abstract 3001.
- Badanie analizujące aktywność kolejnego inhibitora PARP (MK-4827) w nowotworach związanych z *BRCA*.
- Tutt A, Robson M, Garber JE, et al. Phase II trial of the oral PARP inhibitor olaparib in BRCA-deficient advanced breast cancer. *J Clin Oncol* 2009;27:abstract CRA501.
- Badanie oceniające monoterapię inhibitorem PARP, olaparibem, w związanych z *BRCA1* lub *BRCA2* rakach piersi z przerzutami.
- Audeh MW, Penson RT, Friedlander M, et al. Phase II trial of the oral PARP inhibitor olaparib (AZD2281) in BRCA-deficient advanced ovarian cancer. *J Clin Oncol* 2009;27:abstract 5500.
- Badanie przedstawiające wyniki monoterapii inhibitorem PARP, olaparibem, w związanych z *BRCA1* lub *BRCA2* rakach jajnika z przerzutami.
- Pal T, Permeth-Wey J, Betts JA, et al. BRCA1 and BRCA2 mutations account for a large proportion of ovarian carcinoma cases. *Cancer* 2005;104:2807-2816.

- 25 Risch HA, McLaughlin JR, Cole DE, et al. Population BRCA1 and BRCA2 mutation frequencies and cancer penetrances: a kin-cohort study in Ontario, Canada. *J Natl Cancer Inst* 2006;98:1694–1706.
- 26 Baldwin RL, Nemeth E, Tran H, et al. BRCA1 promoter region hypermethylation in ovarian carcinoma: a population-based study. *Cancer Res* 2000;60:5329–5333.
- 27 Hilton JL, Geisler JR, Rathe JA, et al. Inactivation of BRCA1 and BRCA2 in ovarian cancer. *J Natl Cancer Inst* 2002;94:1396–1406.
- 28 Hughes-Davies L, Huntsman D, Ruas M, et al. EMSY links the BRCA2 pathway to sporadic breast and ovarian cancer. *Cell* 2003;115:523–535.
- 29 Turner N, Tutt A, Ashworth A. Hallmarks of 'BRCAness' in sporadic cancers. *Nat Rev Cancer* 2004;4:814–819.
- 30 Turner NC, Reis-Filho JS, Russell AM, et al. BRCA1 dysfunction in sporadic basal-like breast cancer. *Oncogene* 2007;26:2126–2132.
- 31 Silver DP, Richardson AL, Eklund AC, et al. Efficacy of neoadjuvant cisplatin in triple-negative breast cancer. *J Clin Oncol* 2010;28:1145–1153.
- 32 Gelmon KA, Hirte HW, Robidoux A, et al. Can we define tumors that will respond to PARP inhibitors? A phase II correlative study of olaparib in advanced serous ovarian cancer and triple-negative breast cancer. *J Clin Oncol* 2010;28:abstract 3002.
- Badanie analizujące aktywność olaparibu u chorych na raka jajnika lub potrójnie ujemnego raka piersi. Wstępne wyniki wykazały, że olaparib może być aktywny w niezwiązanych z BRCA (sporadycznych) rakach jajnika, co poszerza możliwe zastosowanie w praktyce klinicznej
- 33 Calabrese CR, Almasy R, Barton S, et al. Anticancer chemosensitization and radiosensitization by the novel poly(ADP-ribose) polymerase-1 inhibitor AG14361. *J Natl Cancer Inst* 2004;96:56–67.
- 34 Miknyoczki S, Chang H, Grobelny J, et al. The selective poly(ADP-ribose) polymerase-1(2) inhibitor, CEP-8983, increases the sensitivity of chemoresistant tumor cells to temozolomide and irinotecan but does not potentiate myelotoxicity. *Mol Cancer Ther* 2007;6:2290–2302.
- 35 O'Shaughnessy J, Osborne C, Pippen J, et al. Efficacy of BSI-201, a poly (ADP-ribose) polymerase-1 (PARP1) inhibitor, in combination with gemcitabine/carboplatin (G/C) in patients with metastatic triple-negative breast cancer (TNBC): results of a randomized phase II trial. *J Clin Oncol* 2009;27:abstract 3.
- Wykazano znaczącą poprawę przeżycia całkowitego w odpowiedzi na dodanie do chemioterapii inhibitora PARP
- 36 Rottenberg S, Jaspers JE, Kersbergen A, et al. High sensitivity of BRCA1-deficient mammary tumors to the PARP inhibitor AZD2281 alone and in combination with platinum drugs. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2008;105:17079–17084.
- Badanie prezentujące aktywność inhibitora PARP w modelu mysim oraz analizujące mechanizmy oporności.
- 37 Edwards SL, Brough R, Lord CJ, et al. Resistance to therapy caused by intragenic deletion in BRCA2. *Nature* 2008;451:1111–1115.
- Badanie poświęcone mechanizmowi oporności.
- 38 Sakai W, Swisher EM, Karlan BY, et al. Secondary mutations as a mechanism of cisplatin resistance in BRCA2-mutated cancers. *Nature* 2008;451:1116–1120.
- Badanie poświęcone mechanizmowi oporności.
- 39 Norquist B, Sakai W, Wurk K, et al. editors. Secondary BRCA1/2 mutations are associated with platinum resistance in BRCA1/2-mutated ovarian carcinomas. *Proceedings of the 2009 NCI Translational Science Meeting*; 5–7 November 2009; Vienna, Virginia.
- Duże badanie oceniające oporność chorych na raka jajnika na cisplatinę.
- 40 Fong PC, Yap TA, Boss DS, et al. 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.
- Badanie, w którym wykazano korelację między odpowiedzią na inhibitor PARP a stopniem odpowiedzi na pochodne platyny u chorych na raka jajnika.
- 41 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;17:688–695.
- 42 Bunting SF, Callen E, Wong N, et al. 53BP1 inhibits homologous recombination in Brca1-deficient cells by blocking resection of DNA breaks. *Cell* 2010;141:243–254.
- 43 Cao L, Xu X, Bunting SF, et al. A selective requirement for 53BP1 in the biological response to genomic instability induced by Brca1 deficiency. *Mol Cell* 2009;35:534–541.