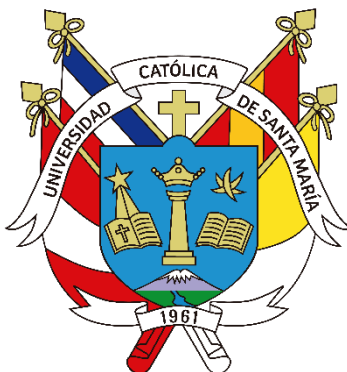


Universidad Católica de Santa María
Facultad de Ciencias Farmacéuticas, Bioquímicas y
Biotechnológicas
Escuela Profesional de Ingeniería Biotechnológica



Evaluación biológica de la enzima PARP 1 y su asociación con los diferentes tipos de cáncer: Revisión sistemática 2017-2022

Tesis presentada por la Bachiller:

Silva Curi, Isaura Cristina

ORCID: 0009-0006-0477-4881

para optar el Título Profesional de Ingeniera Biotecnóloga

Asesor:

Dr. Gómez Valdez, Badhin

ORCID: 0000-0001-6539-1207

Arequipa - Perú

2024

UCSM-ERP

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

INGENIERIA BIOTECNOLOGICA

TITULACIÓN CON TESIS

DICTAMEN APROBACIÓN DE BORRADOR

Arequipa, 16 de Noviembre del 2023

Dictamen: 009127-C-EPIB-2023

Visto el borrador del expediente 009127, presentado por:

2013800792 - SILVA CURI ISAURA CRISTINA

Titulado:

**EVALUACIÓN BIOLÓGICA DE LA ENZIMA PARP 1 Y SU ASOCIACIÓN CON LOS DIFERENTES
TIPOS DE CÁNCER: REVISIÓN SISTEMÁTICA 2017-2022.**

Nuestro dictamen es:

APROBADO

**43668681 - PAREDES FUENTES JULITZA LINDSEY
DICTAMINADOR**



**43679772 - LOPEZ ALVAREZ NATALIA PAOLA
DICTAMINADOR**



**45498291 - ALVARADO QUIROZ KENY DAVI
DICTAMINADOR**



Evaluación biológica de la enzima PARP 1 y su asociación con los diferentes tipos de cáncer: Revisión sistemática 2017-2022

INFORME DE ORIGINALIDAD



FUENTES PRIMARIAS

1	ouci.dntb.gov.ua Fuente de Internet	3%
2	Johannes Rudolph, Uma M. Muthurajan, Megan Palacio, Jyothi Mahadevan et al. "The BRCT domain of PARP1 binds intact DNA and mediates intrastrand transfer", Molecular Cell, 2021 Publicación	1%
3	www.frontiersin.org Fuente de Internet	1%
4	iris.poliba.it Fuente de Internet	1%
5	www.cell.com Fuente de Internet	1%
6	Lin Wang, Dan Wang, Olmo Sonzogni, Shizhong Ke et al. "PARP-inhibition reprograms macrophages toward an anti-tumor phenotype", Cell Reports, 2022	1%

Dedicatoria

A Dios, por darme sueños en los que me dijo “Termina tu tesis o sino...”; a mis padres que me sacaban en cara sus años de sacrificio y al fin pude terminarlo, a mi asesor que me dijo, “Si yo fuera tu padre hace rato te hubiera mandado a la calle”.

Gracias a todos, que sin sus palabras visiones y carajeadas no hubiese podido terminar esta tesis.



Agradecimiento

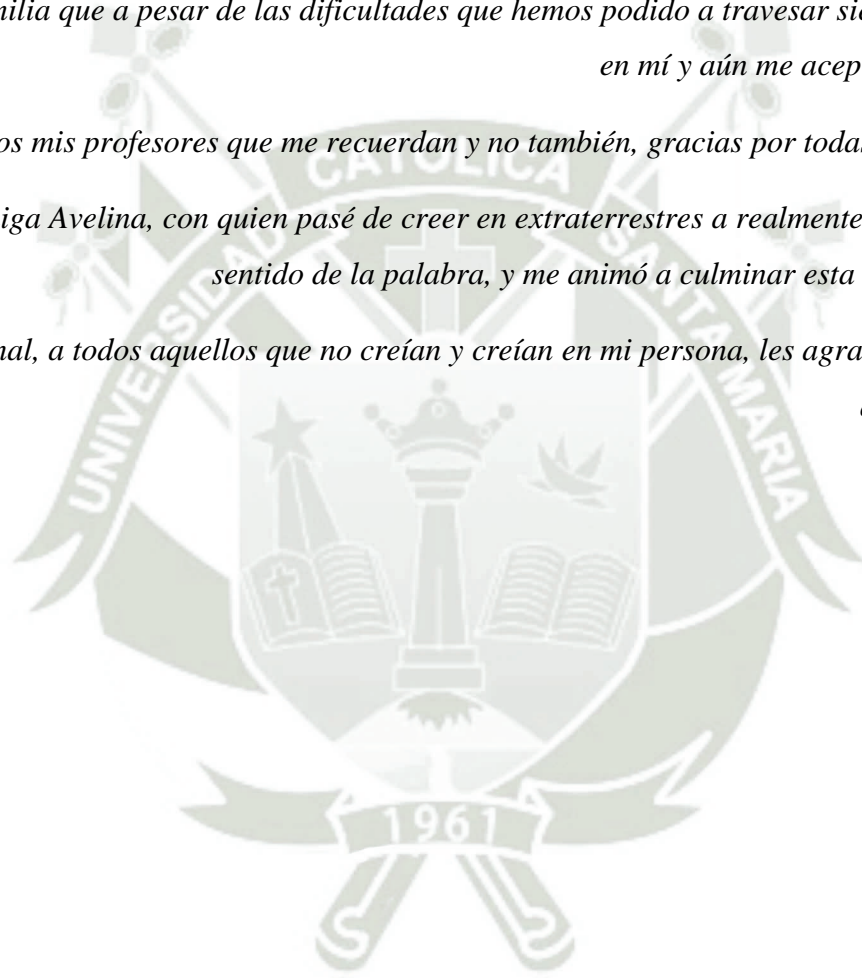
Quiero empezar por agradecer a Dios, por darme la vida, la salud y aun la juventud.

A mi familia que a pesar de las dificultades que hemos podido a travesar siempre han creído en mí y aún me aceptan en su familia.

A todos mis profesores que me recuerdan y no también, gracias por todas sus enseñanzas.

A mi amiga Avelina, con quien pasé de creer en extraterrestres a realmente verlos en todo el sentido de la palabra, y me animó a culminar esta etapa de mi vida.

Y al final, a todos aquellos que no creían y creían en mi persona, les agradezco por pensar alguna vez en mí.



RESUMEN

La enzima Polimerasa de ADN poli (ADP-ribosa) PARP1 tiene un rol importante en la reparación del ADN y la regulación de la estabilidad genómica. Sin embargo, en las células cancerosas esta enzima se sobreexpresa, contribuyendo a la supervivencia y proliferación de células tumorales e incluso crea resistencia a terapias anticancerígenas. Es por ello, que se han desarrollado inhibidores de PARP1, que bloquean su actividad, impidiendo que las células tumorales utilicen las vías de reparación del ADN que emplea PARP1.

Actualmente, se vienen realizando numerosas investigaciones acerca de la estructura, función y mecanismos de inhibición de esta proteína. La presente indagación realizó una búsqueda sistemática acerca de la biología de la enzima PARP1 y su asociación con los diferentes tipos de cáncer, seleccionado 25 estudios de acuerdo a los cuatro objetivos planteados. Sobre su biología, se encontró que PARP1 participa en los primeros pasos de la reparación de escisión de bases cortas y está asociado a diversos ARN, teniendo una función de regulación en la transcripción, mientras que sus mutaciones son capaces de conferir resistencia a los inhibidores.

Además, se determinó que los estudios de PARP1 están orientados al cáncer de mama, cáncer hematológico, del hígado y solo un estudio estuvo asociado a la fase de metástasis. Las investigaciones sobre los nuevos enfoques para combatir la resistencia a PARP1, permitieron conocer que se han propuesto nuevos inhibidores o terapias combinadas como pamiparib con temozolomida, PROTAC y PIC.

También se ha propuesto la identificación de biomarcadores y predicción de resistencia a través de modelos computacionales. Finalmente, los mecanismos de reacción permitieron conocer la acción de olaparib, triptolide, niraparib, 4NCO y rucaparib sobre PARP1. Se concluye que la revisión sistemática brinda una base teórica para la propuesta de nuevas investigaciones y proyectos sobre la estructura y biología de PARP1, estudio de nuevos inhibidores de PARP1 y uso de modelos y simulaciones moleculares para evaluar la resistencia a la enzima PARP1.

Palabras clave: Polimerasa de ADN poli (ADP-ribosa), enzima, cáncer, inhibidores PARP1, resistencia a PARP1.

ABSTRACT

DNA Polymerase Poly (ADP-ribose) PARP1 plays an important role in DNA repair and the regulation of genomic stability. However, in cancer cells, this enzyme is overexpressed, contributing to the survival and proliferation of tumor cells and even creating resistance to anticancer therapies. Therefore, PARP1 inhibitors have been developed, which block its activity, preventing tumor cells from using the DNA repair pathways employed by PARP1.

Currently, numerous investigations are being conducted on the structure, function, and inhibition mechanisms of this protein. This research conducted a systematic review of the biology of the PARP1 enzyme and its association with different types of cancer, selecting 25 studies according to the four proposed objectives. Regarding its biology, it was found that PARP1 participates in the early steps of short patch base excision repair and is associated with various RNAs, having a regulatory function in transcription, while its mutations can confer resistance to inhibitors.

Additionally, it was determined that PARP1 studies are focused on breast cancer, hematological cancer, liver cancer, and only one study was associated with the metastasis phase. Research on new approaches to combat PARP1 resistance revealed that new inhibitors or combination therapies such as pamiparib with temozolomide, PROTAC, and PIC have been proposed.

The identification of biomarkers and resistance prediction through computational models has also been proposed. Finally, reaction mechanisms have shown the action of olaparib, triptolide, niraparib, 4NCO, and rucaparib on PARP1. It is concluded that the systematic review provides a theoretical basis for the proposal of new research and projects on the structure and biology of PARP1, the study of new PARP1 inhibitors, and the use of molecular models and simulations to evaluate resistance to the PARP1 enzyme.

Keywords: DNA poly(ADP-ribose) polymerase, enzyme, cancer, PARP1 inhibitors, PARP1 resistance.

LISTA DE ABREVIATURAS

- 4NCO: Flavonoide 2,4-nitrofenilcromen-4-ona
- AAM: Administración de Alimentos y Medicamentos
- ADNr: ADN ribosomal
- AMD: degeneración macular relacionada con la edad
- AP: Sitio apurínico/apirimidínico
- BMM: Microambiente de médula ósea
- BRCT: Dominio BRCT de PARP1
- CAT: Dominio catalítico C-terminal
- CN-AML: Leucemia mieloide aguda citogenéticamente normales
- DBRCT: Variante de PARP1
- DDX18: Helicasas perteneciente a la familia DExD/H
- DDX21: Helicasa de ARN
- EMT: Transición epitelial a mesenquimal
- Gis: Interacciones genéticas
- HCC: Carcinoma hepatocelular
- HyT: Etiquetado hidrofóbico
- lncARN: ARN largos no codificantes
- MDA-MB-468: Línea celular tumoral
- MMP-9: Metaloproteinasa de matriz-9
- MNGCs: Células gigantes multinucleadas
- NF-kB: Factor Nuclear kappa B, es una familia de proteínas de transcripción.
- OMS: Organización Mundial de la Salud
- PAR: Poli ADP ribosa

PARP: Poli-ADP-ribosa Polimerasa

PARP1: Polimerasa de ADN poli (ADP-ribosa)

PARPi: Inhibidor de PARP

PPI: Interacción proteína-proteína

PROTAC: Proteolysis Targeting Chimera

RDC: Roturas de Doble Cadena

REB: Reparación por Escisión de Bases

RH: Recombinación Homóloga

RR: Radioterapia

RSC: Roturas de una Sola Cadena

sgARNs: ARN de guía única

snoARNs: ARN pequeños nucleolares

TAMs: Macrófagos asociados al tumor

TMZ: Temozolomida

TNBC: Cáncer de mama triple negativo

UENH: Unión de Extremos No Homólogos

ÍNDICE

DEDICATORIA

AGRADECIMIENTO

RESUMEN

ABSTRACT

LISTA DE ABREVIATURAS

1	INTRODUCCIÓN	1
2	OBJETIVOS DE LA REVISIÓN.....	4
2.1	Objetivo general.....	4
2.2	Objetivos específicos.....	4
	CAPITULO I.....	5
3	METODOLOGÍA	5
	CAPITULO II.....	7
4	RESULTADOS	7
	CAPITULO III.....	13
5	CUERPO DE INVESTIGACIÓN.....	13
5.1	Distintas rutas de investigación relacionadas con la enzima PARP 1 y sus mutaciones.....	13
	5.1.1 Rutas relacionadas al sitio de unión PARP1 y ADN	13
	5.1.2 Rutas relacionadas a la actividad catalítica	15
	5.1.3 Vías de transcripción.....	16
	5.1.4 Mutaciones de PARP1	16
	5.1.5 Otras vías de investigación.....	17
5.2	Diferentes tipos de cáncer asociados a la enzima PARP1	18
5.3	Nuevos conceptos potenciales para prevenir y combatir la resistencia a PARP1	20
5.4	Mecanismos de reacción postulados para los procesos de inhibición de la PARP1.....	26
6	PERSPECTIVAS FUTURAS	32
	CAPITULO IV	34
7	CONCLUSIONES.....	34

8 REFERENCIAS.....36



INTRODUCCIÓN

Globalmente, el cáncer es una de las principales causas de muerte y según la Sociedad Estadounidense del Cáncer, en el año 2021 se reportaron 21 000 nuevos casos de cáncer de ovario solo en Estados Unidos. (1,2) El cáncer de ovario es el cáncer ginecológico más mortal y menos del 50% de las mujeres sobreviven más de 5 años después del diagnóstico, debido al rápido desarrollo de la quimiorresistencia. (3) Por otro lado, el cáncer de próstata es el cáncer más común entre los hombres y aproximadamente el 10% de los pacientes desarrollan enfermedad metastásica con bajas tasas de supervivencia. (4,5)

En relación a lo mencionado, en Europa, la Organización Mundial de la Salud (OMS) ha propuesto el movimiento paneuropeo Acción Unida contra el Cáncer, con la visión de eliminar el cáncer como una enfermedad que amenaza la vida. (6) Respecto a la Región de América Latina, el cáncer representa un importante problema económico y de salud pública, y se espera que su carga aumente en los años siguientes. (7) Igualmente, en Perú, el cáncer es la segunda causa de muerte y el año 2019 se reportaron 66 000 nuevos casos de cáncer, de estos el 60% correspondió al cáncer de cuello uterino. (8)

En definitiva, la integridad del genoma humano es decisiva para el adecuado funcionamiento de las células y la prevención de enfermedades. El deterioro de este proceso genera inestabilidad en el genoma, ello conduce al inicio, desarrollo y progresión de enfermedades como el cáncer. (9) La transformación de una célula normal a una célula cancerosa es un proceso de varias etapas en el que los tejidos con una lesión precancerosa se convierten en un tumor maligno. La exposición a diferentes carcinógenos físicos, químicos y biológicos son los principales responsables del cáncer. (10)

Cuando el ADN se somete a este tipo de agresiones endógenos o exógenos, se producen varios tipos de daños, entre ellos las Roturas de una Sola Cadena (RSC) de ADN y las Roturas de Doble Cadena (RDC) de ADN. Las RSC son más numerosas y menos citotóxicas, pero las RSC no reparadas pueden convertirse en RDC. (11) Las RDC son lesiones citotóxicas que amenazan la integridad genómica y son causadas por radiación ionizante, productos genotóxicos e inestabilidad en la horquilla de replicación. Sin embargo, las células eucariotas han desarrollado sistemas complejos y altamente conservados para identificar de manera rápida y eficiente las lesiones. (12)

La reparación del ADN implica distintas vías, entre ellas la Reparación por Escisión de Bases (REB), Recombinación Homóloga (RH) y Unión de Extremos No Homólogos (UENH). El mecanismo de la vía REB corrige a las RSC y el daño es detectado por un tipo de Poli-ADP-ribosa Polimerasa (PARP), sin embargo, la falla de estas vías de reparación conduce a la inestabilidad genómica que puede dar lugar a mutaciones, deleciones y translocaciones cromosómicas, lo que lleva a varios resultados, como la senescencia, la muerte celular o contribuir a la etiología del cáncer. (12,13)

Resulta importante resaltar que, en los humanos las PARP conforman una familia de 17 enzimas que catalizan la modificación postraduccional reversible denominada ADP-ribosilación, acción que implica la transferencia de ADP-ribosa de NAD⁺ a proteínas o ácidos nucleicos diana. (14) Esta familia, se subdivide de tal manera que hay 12 monoenzimas PARP enzimáticamente activas, 4 polienzimas PARP enzimáticamente activas y 1 proteína clasificada como catalíticamente inactiva (PARP13). (15) Entre todas las PARP, solo las PARP 1, PARP 2 y PARP 3 están involucradas en la reparación del ADN, en particular, la PARP1, la cual contribuye con aproximadamente el 90 % de la función de reparación del ADN. (16)

La PARP1 es una enzima que está relacionada con la detección del daño y reparación del ADN, así como la remodelación de la cromatina y regulación de la transcripción. (17,18) Aunque la mayoría de los miembros de la familia PARP, solo pueden ensamblar una sola unidad de ADP ribosa, la PARP 1, lleva a cabo la poli ADP-ribosilación, ello se refiere a la síntesis simultánea de varias unidades de ADP-ribosa. (19) La PARP 1 posee una fuerte afinidad por el sitioapurínico/apirimidínico (AP) y RSC en ADN y es considerada una de las primeras enzimas en responder a la formación de lesiones de ADN, especialmente los sitios AP y RSC creados como intermediarios en la vía de REB. (18) Asimismo, la activación de puntos de control del ciclo celular y la promoción de la reparación de RDC a través de RH. (20)

Tras el daño del ADN, la PARP1 se activa hasta 1000 veces y se une rápidamente a la hebra de ADN a través de su dominio de dedo de zinc N-terminal (Zn1/Zn2). El dominio catalítico C-terminal (CAT) hidroliza NAD⁺ para producir una cadena de polímero de ribosa poli ADP (PAR) dentro de los 15 a 30 s del daño en el ADN, reclutando así factores de reparación. (21) Por otro lado, muchas de las enzimas involucradas en la reparación del ADN están presentes en grandes cantidades en las células cancerosas, lo cual les permite sobrevivir a los daños ocasionados con el tratamiento. (21)

En relación a lo anterior, se ha reportado que cuando se alcanzan altos niveles de daño en el ADN, comúnmente en células cancerosas proliferativas, existe una sobreactivación de PARP 1. (22) Sin embargo, la inestabilidad genómica es una característica del cáncer y, a menudo, es el resultado de la alteración de la capacidad de reparación del ADN en las células tumorales, es decir los defectos de reparación del daño en el ADN son comunes. (23) Entre los diferentes tipos de cáncer asociados a la sobreexpresión de la enzima PARP 1 se reporta el cáncer de ovario, la inestabilidad del genoma es un sello distintivo de este cáncer, debido a que alberga defectos en una o más vías de reparación del ADN. (24)

A través de estos eventos moleculares, la ADP-ribosilación regula la proliferación celular, la diferenciación, la muerte celular y la inmunidad, lo que implica a las PARP en el desarrollo del cáncer. Dirigirse a las PARP con inhibidores se ha convertido en parte de la práctica oncológica en los últimos años. Asimismo, se ha demostrado que la inhibición de la actividad de la PARP es altamente citotóxica para las células cancerosas con RH disfuncional debido a deficiencias de los genes BRCA1 y 2. En este sentido, las células neoplásicas reconfiguran las vías por supervivencia y promueve, lo que genera resistencia a la muerte celular y varias funciones de la enzima PARP1 están vinculadas a esta característica del cáncer. (25)

Por lo tanto, muchos inhibidores de la PARP (PARPi) se han desarrollado y aprobado por la Administración de Alimentos y Medicamentos (AAM) como moléculas antitumorales para varios tipos de cáncer, como el cáncer de ovario. (26) La AAM ha aprobado los PARPi, entre ellos el olaparib y la talazoparib para el tratamiento del cáncer de mama. (27)

Bajo este contexto, el estudio tiene como objetivo realizar una revisión sistemática en el buscador científico Science Direct, entre los años 2017 y 2022, con la finalidad de determinar el estado del arte respecto a las distintas rutas de investigación vinculadas a la PARP1 que se han asociado con diversos tipos de cáncer para contribuir con la investigación de esta patología cuya incidencia es elevada a nivel mundial y nacional. Así incentivar las investigaciones in vitro e in vivo para otorgar a los pacientes con cáncer mejores tratamientos y recursos. Asimismo, el estudio permitirá tener a disposición de la sociedad información actualizada que puede ser utilizada para el beneficio de la promoción de la salud en general.

OBJETIVOS DE LA REVISIÓN

2.1 Objetivo general

Determinar el estado de arte respecto a las distintas rutas de investigación vinculadas a la PARP 1 que se han asociado con diversos tipos de cáncer.

2.2 Objetivos específicos

- Recolectar información científica de las distintas rutas de investigación relacionadas con la enzima PARP 1 y sus mutaciones.
- Revisar los diferentes tipos de cáncer que estén asociados a la enzima PARP1.
- Revisar nuevos conceptos potenciales para prevenir y combatir la resistencia a PARP1.
- Hallar mediante la revisión sistemática los mecanismos de reacción postulados para los procesos de inhibición de la PARP1.

CAPITULO I

METODOLOGÍA

La base de datos empleada en la investigación fue ScienceDirect, porque es una base de datos que permite la búsqueda científica y médica, asimismo contiene artículos publicados de acceso abierto que pueden ser revisados gratuitamente. Para ello, se analizaron los artículos científicos desde enero de 2017 hasta diciembre de 2022, haciendo uso de los siguientes descriptores: “PARP1 and cancer”, “PARP1 in the activity”, “PARP1 links”, “PARP1 and PARP2”, “resistance to PARP”, “mutations to PARP1”, “biology of PARPs” or “breast cancer PARP-1”, “structure of PARPs”, “activation of PARP-1”, “role of PARP1”, “domain of PARP1”, “cancer through the PARP1”, “Parp1 activation” (Tabla 1).

Asimismo, los criterios de inclusión fueron:

- Artículos originales publicados en la base de datos Science Direct publicados entre los años 2017 y 2022.
- Artículos en inglés.
- Artículos disponibles a texto completo, que abordaran los siguientes temas: enzima PARP1, PARP 1 y cáncer, enzimas que participan en el mecanismo de acción de la PARP1, mecanismo de acción de la PARP1 en diferentes células, mutaciones de la PARP 1, diferentes tipos de cáncer asociadas con la PARP 1.

Los criterios de exclusión fueron:

- Artículos que no estuvieran relacionados con el objetivo general y/o específicos de la revisión.
- Artículos relacionados a otras enzimas PARP (Por ejemplo, PARP2, PARP3).
- Artículos con un idioma diferente al inglés.

La recogida y extracción de datos se realizó utilizando una ficha de extracción de datos diseñado por la investigadora para el estudio, asimismo, los resultados fueron elaborados a partir de la lectura completa de cada artículo científico seleccionado.

Tabla 1. Estrategia de búsqueda empleada en la base de datos Science Direct.

Fuente de datos	Descriptores	Resultados
Science Direct	"PARP1 and cancer"	15
Science Direct	"PARP1 in the activity"	5
Science Direct	"PARP1 links"	1
Science Direct	"PARP1 and PARP2"	12
Science Direct	"resistance to PARP"	14
Science Direct	"mutations to PARP1"	13
Science Direct	"biology of PARPs" OR "breast cancer PARP-1"	4
Science Direct	"structure of PARPs"	1
Science Direct	"activation of PARP-1"	13
Science Direct	"role of Parp-1"	15
Science Direct	"domain of PARP1"	2
Science Direct	"cancer through the PARP1"	4
Science Direct	"Parp1 activation"	20
TOTAL		119

CAPITULO II

RESULTADOS

La estrategia de búsqueda determinó 119 referencias, las cuales pasaron por diferentes cribados, entre ellas, la eliminación de duplicados y la exclusión por título y/o resumen, dejando una elegibilidad de 38 artículos, los cuales fueron examinados a texto completo (Figura 1) hasta llegar a una selección final de 25 artículos científicos (Tabla 2).

Figura 1. Diagrama de flujo – PRISMA

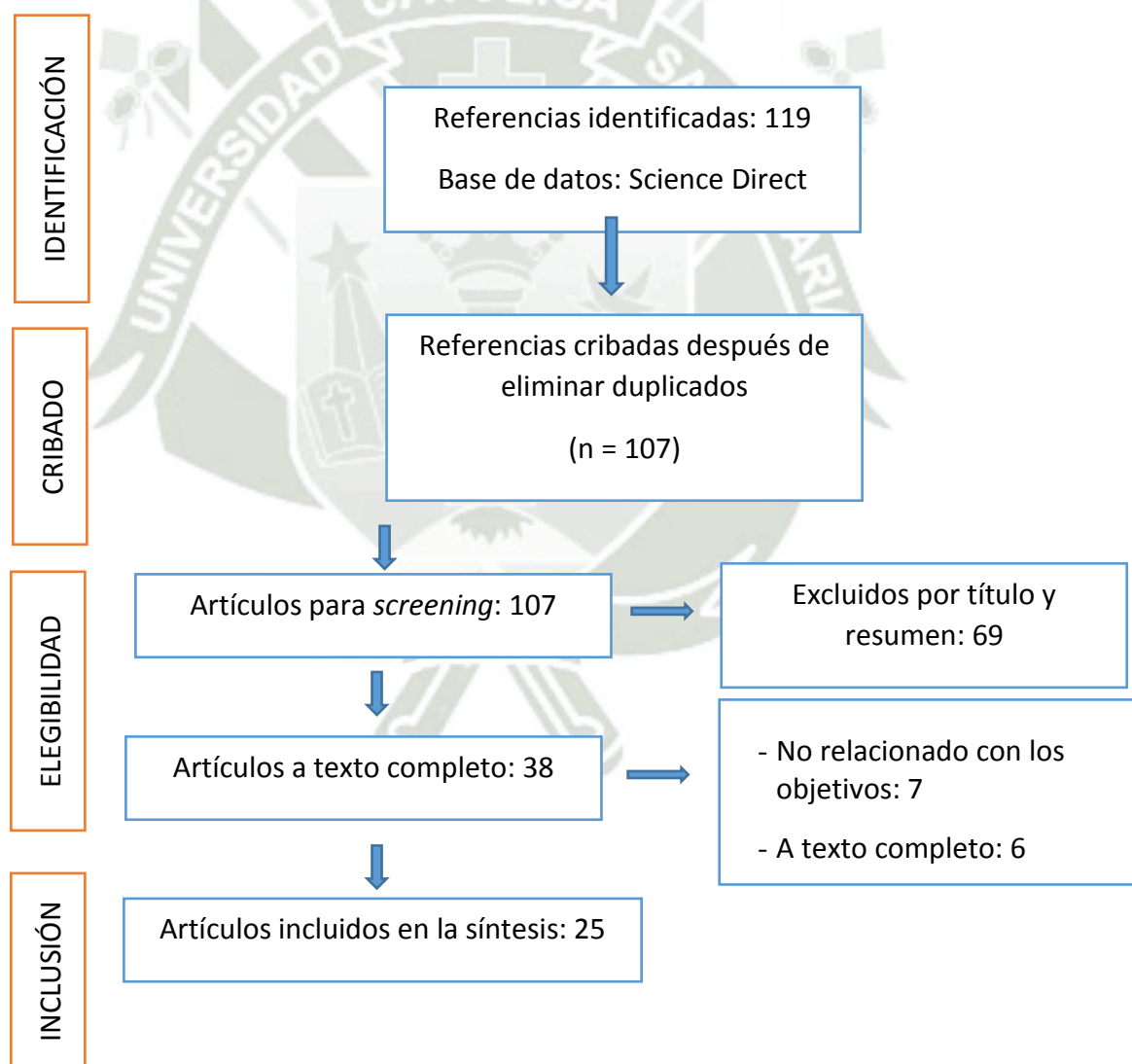


Tabla 2.1: Estudios incluidos en la revisión sistemática.

Autores	Título	Año	País	Revista	Ref.	DOI
Sukhanova et al.	A Single-Molecule Atomic Force Microscopy Study of PARP 1 and PARP2 Recognition of Base Excision Repair DNA Intermediates.	2019	Rusia	Journal of Molecular Biology	(29)	https://doi.org/10.1016/j.jmb.2019.05.028
Rudolph et al	The BRCT domain of PARP 1 binds intact DNA and mediates intrastrand transfer.	2021	Estados Unidos	Cell Reports	(32)	https://doi.org/10.1016/j.molcel.2021.11.014
Kim et al.	Activation of PARP-1 by snoRNAs Controls Ribosome Biogenesis and Cell Growth via the RNA Helicase DDX21.	2019	Estados Unidos	Molecular Cell	(34)	https://doi.org/10.1016/j.molcel.2019.06.020
Mishra y Kowluru.	Role of PARP 1 as a novel transcriptional regulator of MMP-9 in diabetic retinopathy.	2017	Estados Unidos	Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease	(38)	https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2017.04.024
Hanna et al.	Massively parallel assessment of human variants with base editor screens.	2021	Estados Unidos	Cell Reports	(40)	https://doi.org/10.1016/j.cell.2021.01.012

Estudios incluidos en la revisión sistemática.

Tabla 2.1 – *Estudios incluidos en la revisión sistemática.*

Autores	Título	Año	País	Revista	Ref.	DOI
Jayasinghe et al.	Systematic Analysis of Splice-Site-Creating Mutations in Cancer.	2018	Estados Unidos	Cell Reports	(41)	https://doi.org/10.1016/j.celrep.2018.03.052
Lin et al.	DDX18 prevents R-loop-induced DNA damage and genome instability via PARP 1.	2022	Estados Unidos	Cell Reports	(42)	https://doi.org/10.1016/j.celrep.2022.111089
Zhen, Zhang y Yu.	A Cell-Line-Specific Atlas of PARP-Mediated Protein Asp/Glu-ADP-Ribosylation in Breast Cancer.	2017	Estados Unidos	Cell Reports	(44)	https://doi.org/10.1016/j.celrep.2017.10.106
Galindo Campos et al.	Distinct roles for PARP 1 and PARP 2 in c-Myc-driven B-cell lymphoma in mice.	2022	España	Blood	(45)	https://doi.org/10.1182/blood.2021012805
Li et al.	High PARP 1 expression predicts poor survival in acute myeloid leukemia and PARP-1 inhibitor and SAHA-bendamustine hybrid inhibitor combination treatment synergistically enhances anti-tumor effects.	2018	China	eBioMedicine	(46)	https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2018.11.025

Estudios incluidos en la revisión sistemática.

Tabla 2.1 – *Estudios incluidos en la revisión sistemática.*

Autores	Título	Año	País	Revista	Ref.	DOI
Xu et al.	Landscape analysis of lncRNAs shows that DDX11-AS1 promotes cell-cycle progression in liver cancer through the PARP 1/p53 axis.	2021	China	Cancer Letters	(47)	https://doi.org/10.1016/j.canlet.2021.08.001
Kumar et al.	PARP 1 induces EMT in non-small cell lung carcinoma cells via modulating then transcription factors Smad4, p65 and ZEB1.	2021	India	Life Sciences	(52)	https://doi.org/10.1016/j.lfs.2020.118994
Assaf et al.	Unusual metastasis in BRCA mutated pancreatic cancer while on maintenance Olaparib: Two case reports and review of the literature	2021	Bélgica	European Journal of Cancer	(54)	https://doi.org/10.1016/j.ejca.2021.07.042
Xiong et al.	Pamiparib is a potent and selective PARP inhibitor with unique potential for the treatment of brain tumor.	2020	China	Neoplasia	(57)	https://doi.org/10.1016/j.neo.2020.06.009
Go et al.	Augmentation of the antitumor effects of PARP inhibitors in triple-negative breast cancer via degradation by hydrophobic tagging modulation.	2020	Korea	European Journal of Medicinal Chemistry	(59)	https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2020.112635

Estudios incluidos en la revisión sistemática.

Tabla 2.1 – *Estudios incluidos en la revisión sistemática.*

Autores	Título	Año	País	Revista	Ref.	DOI
Dong et al.	Revealing biomarkers associated with PARP inhibitors based on genetic interactions in cancer genome.	2021	China	Computational and Structural Biotechnology Journal	(60)	https://doi.org/10.1016/j.csbj.2021.08.007
Hu et al.	A Quantitative Chemotherapy Genetic Interaction Map Reveals Factors Associated with PARP Inhibitor Resistance.	2018	Estados Unidos	Cell Reports	(61)	https://doi.org/10.1016/j.celrep.2018.03.093
Le et al.	TGFβR-SMAD3 Signaling Induces Resistance to PARP Inhibitors in the Bone Marrow Microenvironment.	2020	Estados Unidos	Cell Reports	(62)	https://doi.org/10.1016/j.celrep.2020.108221
Ho et al.	Protective effects of PARP 1-inhibitory compound in dry age-related macular degeneration.	2021	Korea	Biomedicine and Pharmacotherapy	(65)	https://doi.org/10.1016/j.biopha.2020.111041
Ghorai et al.	Sustained inhibition of PARP 1 activity delays glioblastoma recurrence by enhancing radiation-induced senescence.	2020	India	Cancer Letters	(66)	https://doi.org/10.1016/j.canlet.2020.06.023

Estudios incluidos en la revisión sistemática.

Tabla 2.1 – *Estudios incluidos en la revisión sistemática.*

Autores	Título	Año	País	Revista	Ref.	DOI
Zhang et al.	Triptolide interferes with XRCC1 /PARP 1- mediated DNA repair and confers sensitization of triple-negative breast cancer cells to cisplatin.	2019	China	Biomedicine y Pharmacotherapy	(71)	https://doi.org/10.1016/j.biopha.2018.11.008
Mitra et al.	Insight into the binding of a synthetic nitro-flavone derivative with human poly (ADP-ribose) polymerase 1.	2019	India	International Journal of Biological Macromolecules	(74)	https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.08.242
Deng et al.	Integrated proteomics identifies PARP inhibitor-induced prosurvival signaling changes as potential vulnerabilities in ovarian cancer.	2022	Estados Unidos	Journal of Biological Chemistry	(75)	https://doi.org/10.1016/j.jbc.2022.102550
Wang et al.	PARP-inhibition reprograms macrophages toward an anti-tumor phenotype.	2022	Estados Unidos	Cell Reports	(78)	https://doi.org/10.1016/j.celrep.2022.111462
Kruglov et al.	The synergistic proapoptotic effect of PARP 1 and HDAC inhibition in cutaneous T-cell lymphoma is mediated via Blimp-1.	2020	Estados Unidos	Blood Advances	(79)	https://doi.org/10.1182/bloodadvances.2020002049

CAPITULO III

CUERPO DE INVESTIGACIÓN

5.1 Distintas rutas de investigación relacionadas con la enzima PARP 1 y sus mutaciones

La poli(ADP-ribosa) polimerasa 1 (PARP1) es una enzima clave involucrada en la reparación del ADN y la regulación de procesos celulares, como la respuesta al estrés y la muerte celular programada. (28) Se debe precisar que, en la presente indagación solo abordaremos lo relacionado a su rol en la reparación de ADN.

PARP1 contiene diferentes dominios estructurales y funcionales, el primero de ellos es el dominio de unión al ADN, que permite la interacción de PARP1 con el ADN dañado y facilita la detección y reparación de lesiones en el ADN. Otro dominio es el dominio catalítico, donde se lleva a cabo la reacción de poli-ADP-ribosilación, en la que PARP1 agrega cadenas de poli(ADP-ribosa) a proteínas diana. Además, PARP1 contiene dominios de unión a cofactores, como el dominio de unión a NAD⁺, que es esencial para la actividad catalítica de PARP1, debido a que utiliza el NAD⁺ como sustrato para la síntesis de poli(ADP-ribosa). También se han identificado otros dominios en PARP1, como el dominio de interacción con proteínas, que permite la asociación con otras proteínas implicadas en la reparación del ADN y la regulación de la respuesta celular al daño genético. Estos diferentes dominios de PARP1 le confieren la capacidad de reconocer y reparar el ADN dañado, así como de regular la señalización celular en respuesta al estrés. (28) A continuación, se describirán los principales hallazgos sobre las rutas de investigación relacionadas a PARP1:

5.1.1 Rutas relacionadas al sitio de unión PARP1 y ADN

De acuerdo a los estudios de Sukhanova et al. (2019) se confirmó que las proteínas PARP1 y PARP2 intervienen en la regulación de escisión de bases cortas (BER), situándose en el lugar específico del daño. En el caso de PARP1 realiza una unión en el ADN dañado en el siguiente orden: 1 nucleótido (1-nt gap) > rotura (nick) > sitioapurínico/apirimidínico (AP), de tal forma, muestra una preferencia por espacios de 1 nucleótido en la interacción con el ADN dañado. Además, se confirmó que PARP1 y PARP2 pueden formar dímeros en el sitio de daño del ADN, sin embargo, preferentemente forma monómeros en sitios dañados, sitios AP y espacios de 1-nt en el ADN, sin embargo, forma dímeros en sitios de rotura

(nicks) del ADN. Por lo tanto, se sugiere que PARP1 participa en los primeros pasos de BER y la interacción de ambas PARP podrían contribuir a la regulación de la etapa final de reparación: la ligación entre el complejo DNA ligasa y III-XRCC1. Asimismo, los estudios evidenciaron que existen diferencias funcionales entre las enzimas PARP1 y PARP2, respecto a su afinidad por los intermediarios de ADN. (29)

Por otro lado, Rudolph et al. (2021), quiso estudiar la adhesión de PARP1 en moléculas de ADN intactas, encontrando que el ADN plasmídico se une firmemente a múltiples moléculas de PARP1, pero no activa la autoPARilación, es decir, el ADN plasmídico intacto se recubre con al menos una molécula de PARP1 por cada 44 ± 10 pares de bases sin que ello signifique que activará la PARilación. Esta unión de PARP1 al ADN intacto es consistente con resultados previos de microscopía de fuerza atómica y ensayos de ADN de cadena única en moléculas individuales (30,31). Posteriormente, otros análisis evaluaron la afinidad de PARP1 entre ADN intacto y ADN de fragmentos cortos (roturas de doble cadena) revelando que existe una afinidad de PARP1 por el ADN dañado de cien veces más que por el ADN intacto. Además, solo cuando el número de extremos dañados excede el número de sitios de unión intactos del ADN plasmídico, se observa una mayor afinidad de PARP1 por el ADN dañado. Estos resultados confirman que la unión del ADN intacto a PARP1 no activa su actividad catalítica de PARilación, siendo la primera demostración cuantitativa de que la unión del ADN intacto a PARP1 no conduce a su activación in vitro. (32)

Su estudio también exploró los sitios de unión del ADN intacto a PARP1, lo cual involucra los dominios Zn1, Zn2, Zn3 y BRCT, mientras que la unión del ADN dañado involucra los dominios Zn1, Zn2, Zn3 y WGR. Se demostró que el dominio BRCT se une a los dominios de unión al ADN de PARP1 y se reveló que desempeña un papel funcional en el movimiento de PARP1 de una hebra de ADN a otra. Además, una prueba de cromatografía líquida permitió identificar que ni el PARP1 de tipo salvaje ni la construcción DBRCT de PARP1 (variante de PARP1) fueron activados por el plásmido intacto, pero ambas proteínas fueron igualmente activadas por el plásmido digerido con una EC50 de 0.31 nM para el tipo salvaje y 0.25 nM para DBRCT. Por lo tanto, la eliminación del dominio BRCT no afecta la actividad de PARP1 activada por una rotura de doble cadena, resultados consistentes con Altmeyer (33).

Otro estudio, de Kim et al. (2019), encontró que los ARN largos no codificantes (lncARN) y los ARN mensajeros (mARN) fueron los tipos de ARN que más interactuaron con PARP1, mientras que los ARN pequeños nucleolares (snoARNs) fueron los más enriquecidos. Así, cerca de la mitad de snoARNs (46%) expresados en células de cáncer de mama se unieron a PARP1 (lecturas por kilobase de transcrito por millón de lecturas mapeadas [RPKM] > 1). Además, se observó una gran variación en la abundancia de diferentes snoARNs que interactuaban o no con PARP-1, lo que sugiere que la unión de PARP-1 a los snoARNs no depende de los niveles de expresión. Además, se evidenciaron interacciones similares entre PARP1-snoARN en células de cáncer de mama, lo que demuestra que las interacciones específicas de PARP1-snoARN se conservan en múltiples tipos de células. (34)

5.1.2 Rutas relacionadas a la actividad catalítica

Los estudios de Sukhanova et al. (2019) observaron que PARP1 interactúa con la rotura de ADN en forma de dímero, sugiriendo que su unión al nucleótido 1 en forma de monómero lleva a una fuerte autoPARilación, mientras que la forma dimérica que tiene actividad con la rotura de ADN no tiene tanta efectividad en la síntesis de PAR, es decir, la síntesis de PAR resulta más efectiva cuando PARP1 actúa como monómero. En consecuencia, la transición de monómero a dímero puede contribuir a la regulación de la actividad enzimática de las PARPs. Finalmente, las lesiones en el ADN modulan la actividad total de PARP1. (29)

Además, se ha descubierto una vía de regulación dependiente de PARP1. En la investigación de Kim et al. (2019) se encontró que el dominio catalítico de PARP1 no interactúa con snoARNs, siendo la región de unión de ADN de PARP1 la responsable de la unión con snoARNs. Esto significa que la interacción entre PARP-1 y snoARNs se produce a través de la región de unión de ADN de PARP-1 y no a través de su dominio catalítico. Además, las interacciones entre PARP-1 y snoARNs ocurren con las formas maduras de snoARNs, en lugar de los transcritos primarios. Asimismo, se descubrió que PARP-1 podría regular la transcripción de rADN a través de interacciones directas con snoARNs y la actividad catalítica de PARP1 se activa mediante la interacción PARP1-snoARNs, debido a que los snoARNs son capaces de automodificar y activar PARP1, sin embargo, su activación previa disminuye su afinidad posterior por snoARNs, lo cual sugiere que PARP1 podría trasmodificar a otras proteínas objetivo. (34)

Asimismo, Kim et al. (2019) estudiaron la asociación entre PARP1 y DDX21, una helicasa de ARN de la familia DEAD-box, la cual constituye un sustrato de ADPRilación específico para PARP1 (35). Se encontró que DDX21 es ADPRilado por PARP1, siendo esta ADPRilación sensible al tratamiento con PJ34. Además, se identificaron cinco sitios de glutamato o aspartato en el extremo N-terminal de DDX21 que son ADPRilados por PARP1. Se determinó que DDX21 interactúa con PARP1 en las células y que estas interacciones podrían dar lugar a la ADPRilación dependiente de PARP-1 de DDX21. Además, el tratamiento con PJ34 (inhibidor de PARP) disminuyó significativamente la ADPRilación de DDX21 y su interacción con PARP1. Estos datos sugieren que la actividad catalítica de PARP-1 es un requisito previo para las interacciones entre DDX21 y PARP1. También se determinó la actividad catalítica de PARP1 en la regulación de la localización nucleolar de DDX21, lo que finalmente afecta la biogénesis de ribosomas. En conjunto, los resultados indican que la actividad catalítica de PARP1 controla la ADPRilación de DDX21, la localización nucleolar de DDX21, la transcripción del ADNr y la proliferación de células de cáncer de mama in vivo. (34)

5.1.3 Vías de transcripción

PARP1 es un cofactor importante en la regulación de la unión de factores de transcripción que regulan la expresión génica. (36,37) Según el estudio de Mishra y Kowluru (2017), se encontró que la inhibición de PARP1 con PJ34 pudo prevenir el aumento inducido por la glucosa en la expresión de la metaloproteinasa de matriz-9 (MMP-9), es decir, la glucosa alta aumenta la expresión de PARP1. Además, se encontró que la expresión de MMP-9 en la retina se asocia estrechamente con la unión de los factores de transcripción NF-kB y AP-1. Así, se descubrió que PARP1 actúa como un coactivador de NF-kB, además, su actividad está aumentada en la retina diabética. Ante la inhibición de PARP1 se disminuyó la apoptosis celular, encontrando que la acetilación de PARP1 está involucrada en la formación de complejos con factores de transcripción y su regulación post traduccional. El papel integral de PARP1 en la regulación de la unión de factores de transcripción se confirmó aún más al manipular los niveles de PARP-1 farmacológica o genéticamente en sistemas modelo in vitro e in vivo. (38)

5.1.4 Mutaciones de PARP1

En el estudio de Hanna et al. (2021), se realizó una mutagénesis de PARP1 empleando un editor de bases que permitió identificar las mutaciones puntuales y la regulación de la

respuesta ante fármacos. Además, se emplearon 5 inhibidores para evaluar la respuesta: olaparib, niraparib, rucaparib, talazoparib y veliparib. Así, se encontró que los sgARNs conferían resistencia a todos los inhibidores de PARP1, mientras que las mutaciones se hallaban en regiones cercanas a las interfaces interdominio críticas para la respuesta al daño del ADN. Por ejemplo, A774 y G871 (residuos de aminoácidos de PARP1) forman la interfaz $\alpha F/\alpha J$, una de las dos interfaces principales entre los dominios HD y ART de PARP1. Se ha demostrado que las mutaciones puntuales en estos residuos (A774S/L; G871S/L) interrumpen los contactos entre los dominios HD y ART, lo que lleva a la activación de PARP1. (39) Asimismo, otra mutación puntual (R591C) en la interfaz entre el dominio WGR y el dominio HD observada clínicamente, ha demostrado que interrumpe la captura de PARP, causando resistencia adquirida a olaparib (Pettitt et al., 2018). Por lo tanto, se puede concluir que las mutaciones puntuales cercanas cumplen un papel complejo del contacto entre dominios en la actividad de PARP1. Además, las mutaciones puntuales afectaron en la respuesta de los inhibidores. (40)

Otro estudio de Jayasinghe et al. (2018), realizaron dos mutaciones silenciosas en PARP1 y RAD51C, las cuales ya habían sido reportados con anterioridad, encontrando mutaciones en el gen PARP1 con un puntaje de empalme significativamente más fuerte en presencia de la mutación. Esto indica que estas mutaciones en el gen PARP1 tienen un impacto importante en el proceso de empalme del ARN. Además, se observó que las variantes con puntajes de empalme más fuertes mostraron niveles más altos de productos de empalme alternativos en comparación con el tipo salvaje. Esto sugiere que las mutaciones en PARP1 pueden alterar la forma en que se empalma el ARN y potencialmente afectar la función y la expresión de este gen. (41) Otro estudio similar, de Rudolph et al. (2021) crearon el mutante denominado DBRCT (truncación de PARP1 en la que se carece del dominio BRCT de PARP1) para determinar la relación entre la ausencia del dominio BRCT y la PARP1. Concluyeron que las mutaciones en residuos clave de lisina del dominio BRCT interrumpen su unión al ADN, lo que confirma la importancia de estas interacciones. Así, el dominio BRCT no actúa como un inhibidor de la activación de PARP1 por el ADN intacto, y su eliminación no afecta la actividad de PARP1 en presencia de ADN dañado, es decir, en experimentos in vivo, se observó que la eliminación del dominio BRCT no afecta significativamente la acumulación de PARP1 en sitios de daño en el ADN. (32)

5.1.5 Otras vías de investigación

Lin et al. (2022) halló que DDX18 participa en la eliminación de los R-loop asociados con lesiones del ADN. Se demostró que PARP1 y DDX18 se relacionan en la detección y regulación de los R-loops en una vía común, así, la depleción de PARP1 disminuye la unión a distintas helicasas, entre ellas, DDX18, DDX1 y DDX5 a los R-loops. Asimismo, encontraron que la inhibición de PARP1 y la degradación de los R-loops mediante enzimas específicas ocasiona que la PARilación medie la interacción entre DDX18 y los R-loops. Además, la activación de PARP1 induce la acumulación de DDX18 en sitios de daño de ADN. En conclusión, los polímeros de PAR en PARP1 facilitan la localización de proteínas DDX, entre ellas, -18, interviniendo en la reparación del ADN. (42)

5.2 Diferentes tipos de cáncer asociados a la enzima PARP1

La asociación entre el cáncer de mama y la enzima PARP1 fue estudiado por Zhen et al. (2017), quienes realizaron análisis con células epiteliales benignas de mama y líneas celulares de carcinoma de mama para determinar el mecanismo de regulación de PARP1 en estas líneas celulares. Así, se determinó que el nivel de PARilación de proteínas era altamente variable con expresiones de PARP1 similares, es decir, PARP1 se activa de forma diferencial en cada línea celular. En este caso, el número de péptidos ADP-ribosilados de PARP1 en células de cáncer de mama seguía de cerca el número total de péptidos ADP-ribosilados en esta línea celular, en otras palabras, hay una estrecha correlación entre el número de péptidos ADP-ribosilados derivados de PARP1 y el número total de péptidos ADP-ribosilados identificados en las células con cáncer de mama; lo cual coincide con lo mencionado por D'Amours (43), quien expresó que la fracción de cadenas de PAR son sintetizadas por PARP1 en condiciones de daño del ADN. También, se demostró que los factores de transcripción son una clase importante de sustratos de PARP1 (GATA3) en la línea celular tumoral MDA-MB-468. Por último, los investigadores plantearon que el cáncer de mama es un modelo ideal para el estudio de la señalización específica de PARP1 por su alta expresión en él, destacando que la ADP-ribosilación de residuos de aminoácidos (aminoácidos aspártico y glutámico) D/E son una parte importante de señalización de PARP1. (44)

Por otro lado, Galindo-Campos et al. (2022) estudiaron las deficiencias de PARP1 y PARP2 en el desarrollo del linfoma de Células B impulsado por genes c-Myc (cuya desregulación ocasiona una amplia variedad de problemas oncológicos hematológicos). Sus resultados evidenciaron que los ratones con la enzima PARP1 desarrollaron el linfoma terminal, sugiriendo que PARP1 puede tener un rol en la aceleración de tumorigénesis en

presencia del gen c-Myc; mientras que la ausencia de PARP2 o PARP1 no afecta la expresión de c-Myc en células precursoras de linfocitos B de médula ósea en ratones. Además, se realizó un análisis transcriptómico en células precursoras de linfocitos B, cuyos hallazgos indican que la deficiencia de PARP-2 o PARP-1 puede tener un impacto significativo en la expresión de múltiples genes en las células pre-B de ratones con el transgén c-Myc, lo que sugiere la participación de estos genes en los mecanismos moleculares implicados en la formación y desarrollo del linfoma de células B impulsado por el gen c-Myc. Finalmente, los resultados del estudio indican que la pérdida de PARP-2 retrasa el inicio del tumor y prolonga la supervivencia en ratones transgénicos Em-Myc, mientras que la pérdida de PARP-1 acelera la tumorigénesis. (45)

Otro estudio de Li et al. (2018) encontraron que la expresión de PARP1 estaba significativamente aumentada en pacientes con leucemia mieloide aguda citogenéticamente normales (CN-AML) ($p < 0.05$, prueba t) y líneas celulares de AML ($p < 0.01$, prueba t) en contraste con células normales de médula ósea. Además, las proteínas de PARP1 mostraron una fuerte correlación con los niveles de mRNA y aquellos que tuvieron una expresión alta de mRNA presentaron un mayor número de blastos en médula ósea, niveles altos de glóbulos blancos y mayor expresión de mutación FLT3-ITD. Por tanto, la expresión de PARP-1 está asociada con características clínicas específicas en pacientes con AML, como un mayor grado de enfermedad y mutaciones en FLT3-ITD. También se encontró que la sobreexpresión de PARP-1 se asocia con un mal resultado clínico en pacientes con CN-AML, independientemente de otros factores de confusión y variables clínicas ajustadas. (46)

Asimismo, la investigación de Xu et al. (2021), detectó 23 proteínas unidas a un tipo de ARN largo no codificable (lncRNA) denominado DDX11-AS1 (relacionado con la progresión del carcinoma hepatocelular, cáncer de hígado) y se evidenció que estaban asociadas a la vía de reparación y procesos metabólicos del ADN. Entre estas proteínas se encontró a las PARP1, unidas mediante el exón 2 del fragmento DDX11-AS1 con PARP1, sin embargo, otros fragmentos no lo hacen. Por lo tanto, esta interacción podría tener implicaciones en las funciones biológicas y patogénesis del cáncer de hígado. El estudio también evaluó la unión de PARP1 con p53, demostrándose que la sobreexpresión de DDX11-AS1 fue capaz de inhibir la unión entre p53 y PARP1, disminuyendo la expresión de p53. Esto tiene un impacto en la progresión del ciclo celular, desempeñando una función oncológica en el carcinoma hepatocelular (HCC). Por el contrario, la interacción entre

DDX11-AS1 y PARP1 podría ser una estrategia terapéutica potencial en el tratamiento de HCC. (47)

Otros estudios mencionan que PARP1 está implicada en la regulación de la transición epitelial a mesenquimal (EMT), característica asociada a cáncer metástasis, a través de diferentes mediadores como ZEB1, Twist1, p65, Snail y complejos Smad. (48,49) Así, la investigación de Kumar et al. (2021), encontró que la reducción de PARP1 en células de cáncer de pulmón disminuye los factores de transcripción asociados a EMT (p65, Smad 54 y ZEB1). En el estudio, se observó que la inhibición de PARP-1 mediante knockdown (disminución de la expresión) en células de carcinoma de pulmón reduce la expresión de marcadores mesenquimales. Además, se encontró una disminución en la expresión de Snail1 y Twist1, que son factores asociados con el fenotipo mesenquimal en diversas células cancerosas. Estos hallazgos indican que la inhibición de PARP-1 puede suprimir la transición a un fenotipo mesenquimal en células de cáncer de pulmón. También investigaron el aumento significativo en la expresión de β -catenina asociada a la membrana ante la inhibición de PARP1. β -catenina está involucrada en procesos celulares, como la EMT, de tal forma que cuando se encuentra en la membrana representa un carácter epitelial y a nivel citoplasmático y nuclear promueve la transcripción de factores en la EMT. (50,51) Se encontró un ligero aumento en el nivel de β -catenina después del knockdown de PARP1 en células de carcinoma de pulmón, lo que sugiere que la disminución de PARP-1 puede influir en la localización y expresión de β -catenina. En resumen, se observó una disminución significativa de los factores de transcripción p65, Smad4 y ZEB1 después de la reducción de PARP-1 y una disminución notable de Snail1 y Twist1, marcadores mesenquimales, después del knockdown de PARP1. (52)

5.3 Nuevos conceptos potenciales para prevenir y combatir la resistencia a PARP1

La resistencia a los inhibidores de PARP1 es un desafío importante en el tratamiento del cáncer. A medida que se desarrollan y utilizan cada vez más los inhibidores de PARP1, ha sido fundamental explorar nuevos enfoques y conceptos para prevenir y combatir la resistencia a esta terapia. Así, los nuevos conceptos para prevenir y combatir la resistencia a PARP1 se centran en tratamientos combinados, desarrollo de inhibidores más potentes y selectivos, estrategias de degradación de proteínas e identificación de biomarcadores. A continuación, se describirá un estudio de casos en el que el uso de un inhibidor PARP no tuvo

los efectos esperados y posteriormente se abordarán las diversas propuestas ante la resistencia a PARPs.

Assaf et al. (2021) realizaron una investigación de estudio de casos en la que el tratamiento con Olaparib en pacientes con cáncer no hizo efecto. En el primer caso, un hombre con adenocarcinoma poco diferenciado de páncreas fue tratado con FOLFIRINOX, sin embargo, debido a que desarrolló cáncer de páncreas metastásico con mutación gBRCA2 fue tratado con olaparib como terapia de mantenimiento y respondió bien durante 12 meses. No obstante, posterior a ello se le diagnosticó carcinomatosis leptomeníngea (CL) sin metástasis cerebral, recibiendo radioterapia de tratamiento, pero falleció en un mes por complicaciones. En el segundo caso, un hombre fue diagnosticado con adenocarcinoma poco diferenciado de páncreas siendo tratado con FOLFIRINOX por 18 meses y ante el desarrollo de metástasis hepática, pulmonar y adenopatía retroperitoneal se inició el tratamiento con olaparib, sin embargo, desarrolló metástasis cutánea de adenocarcinoma pancreático y falleció en dos semanas. En ambos casos se discutió lo poco probable que es el desarrollo de metástasis con mutación BRCA1/2, sin embargo, hace factible su tratamiento con olaparib, no obstante, en el primer caso a pesar del buen desenvolvimiento en el tratamiento del paciente 1, terminó desarrollando LC. Presumiblemente, el nivel de inhibidores de PARP podría ser insuficiente, teniendo en cuenta que son tratamientos relativamente nuevos, así, el nivel de inhibidores PARP que cruzan la barrera hematoencefálica podría no ser suficiente, lo que podría explicar el desarrollo de LC. Otra explicación es que BRCA 1/2 adquiere mecanismos para evadir a los PARPi desarrollando resistencia a través de múltiples vías que pueden conducir a la heterogeneidad y complejidad de la evolución del tumor. (53) En el segundo caso, el paciente 2 tuvo una supervivencia de 3 a 4 meses con olaparib, surge la posibilidad que se haya desarrollado una resistencia a PARPi, cambiando la naturaleza de la enfermedad y desarrollando metástasis en sitios poco comunes. Además, otra hipótesis podría sugerir que el paciente tuvo una supervivencia prolongada que llevó al desarrollo de metástasis en sitios poco comunes. Por último, el estudio plantea la interrogante si el mecanismo para evadir a PARPi cambia la fisiopatología y evolución de la enfermedad y surge la necesidad de seguir estudiando los mecanismos de resistencia y cómo superarlos. (54)

Por otro lado, debido a que existe evidencia que los inhibidores de PARP pueden potenciar la eficacia de los agentes genotóxicos (por ejemplo, agentes alquilantes de ADN), mediante la interrupción de la vía de reparación de ADN por escisión de bases (55), se sugiere

que se utilicen inhibidores PARP en combinación con quimioterapia. (56) En primer lugar, el estudio de Xiong et al. (2020), utilizó el inhibidor de PARP1/2 denominado Pamiparib. Este inhibidor se caracteriza por ser muy potente en cáncer humano con mutaciones de BRCA1/2. El estudio encontró valores de IC50 de 1.3 o 0.92 nM en la inhibición de la enzima PARP1 y 2, respectivamente. Además, se probó en otras enzimas como PARP3, tankirasa1/2 y otras isoformas de PARP, hallando que era menos activo e incluso inactivo con valores de IC50 de 50 a 100 veces más altos. Por lo tanto, Pamiparib constituye un inhibidor selectivo y potente contra PAR1/2. Además, se determinó que Pamiparib tenía una fuerte actividad para atrapar complejos ADN-PARP1 con valores de EC50 de 13 nM y además puede inhibir la actividad intracelular de PARP1. Posterior a ello, se realizó la evaluación de Pamiparib en el sitio del tumor, encontrando que una dosis de 1.5 mg/kg causó una inhibición de PARP del 89% a las 0.5 horas después del tratamiento, manteniendo un valor del 81% durante las primeras 12 horas, mientras que una dosis de 25 mg/kg de olaparib produjo una inhibición del 100% pero disminuyó a 72% en las 12 horas siguientes al tratamiento, concluyendo que Pamiparib causa una mejor inhibición en los lugares tumorales. Además, tuvo una eficacia con regresión del tumor del 100% en el día 29 del tratamiento (1.6 mg/kg), en contraste, olaparib tuvo respuestas objetivas del 100% ante altas dosis (50 mg/kg). En resumen, pamiparib tiene una eficacia 16 veces mayor que olaparib. En segundo lugar, el estudio de Xiong et al. (2020), encontró que Pamiparib muestra una fuerte sinergia antitumoral con temozolomida (TMZ), un agente alquilante de ADN utilizado en el tratamiento de tumores cerebrales. La combinación de pamiparib con TMZ supera la resistencia a PARP y muestra efectos significativos de inhibición tumoral y una mayor esperanza de vida. Estos datos sugieren que la combinación de pamiparib con TMZ tiene un potencial único para el tratamiento de tumores cerebrales. (57)

Respecto a la degradación de proteínas, los inhibidores de moléculas pequeñas como PROTAC (Proteolysis Targeting Chimera) representan una herramienta efectiva para la escisión de PARP y apoptosis de células cancerosas de manera efectiva. (58) De igual manera, el etiquetado hidrofóbico (HyT) representa un enfoque innovador para degradar proteínas. En el estudio de Go et al. (2020) se utilizó un intermediario 1 de olaparib con una amina piperidina como precursor sintético de los compuestos PARP con etiqueta hidrofóbica. De los resultados, se obtuvo que los compuestos PARP etiquetados hidrofóbicamente (3a) promovieron la degradación de PARP1 de manera más efectiva en células de cáncer de mama triple negativo (TNBC), mientras que la presencia de un espaciador de carbono entre olaparib

y moiety de fluoreno fue capaz de reducir la eficiencia de degradación de PARP1, lo cual sugiere que la combinación adecuada de espaciadores de carbono y sustituyentes de etiquetado es trascendental para la degradación de la proteína objetivo. Finalmente, se determinó que el compuesto 3a indujo la muerte de TNBC de manera más efectiva. En resumen, el tratamiento con 3a mostró efectos antitumorales con mejores resultados que olaparib en células TNBC, utilizando el método de etiquetado hidrofóbico que resultó en la degradación de la proteína objetivo, proponiendo que la eliminación de las proteínas objetivo podría tener un mejor efecto que los inhibidores de proteínas, porque la degradación de la proteína objetivo es escasamente probable que induzca una respuesta de resistencia al medicamento potencial. (59)

Acerca de la identificación de biomarcadores, el estudio de Dong et al. (2021) aborda un método computacional con el fin de precisamente identificar biomarcadores candidatos con respuesta y resistencia de a los PARPi mediante el uso de pantallas de CRISPR/Cas9 y RNAi, así como un conjunto de datos farmacogenómicos pan-cáncer. En primer lugar, el uso de pantallas de CRISPR/Cas9 y RNAi permitió identificar interacciones genéticas (GIs) asociadas a PARP1/2/3. Así, se identificaron genes mutados que causaron un efecto significativo en los PARPi en células cancerosas ($p < 0.01$), aquellos que presentaban interacciones de letalidad sintética con inhibición de PARP1/2/3 se asociaron con sensibilidad a PARPi y se predijeron como biomarcadores candidatos sensibles de los PARPi, mientras que los genes mutados con efecto de viabilidad sintética con inhibición de PARP1/2/3 fueron asociados a la resistencia de PARPi se predijeron como biomarcadores resistentes candidatos de PARPi ($p < 0.01$) en células cancerosas. Se lograron identificar 41 genes resistentes y 130 genes sensibles, donde la mayoría de estos genes están relacionados con la respuesta a los PARPi, específicamente con la desregulación de la reparación por recombinación homóloga (RH) e interactuaban con PARP1/2/3 en la red de interacción proteína-proteína (PPI). También, se determinó que la mutación de BRCA1 era un biomarcador sensible para PARPi ($p < 0.05$) y las mutaciones de algunos genes cancerígenos como RB1 ($p < 0.01$) y MACF1 ($p < 0.01$) eran biomarcadores candidatos sensibles para PARPi, mientras que las mutaciones TTN y TRIP12 eran biomarcadores candidatos resistentes para PARPi. Asimismo, los biomarcadores de los PARPi revelados mediante este método fueron validados en diferentes conjuntos de datos farmacológicos a través del mecanismo de HR y la correlación de funciones. Posteriormente, el análisis funcional reveló que los pacientes con glioma de grado bajo (LGG) con mutaciones en el conjunto de genes resistentes propuestos (TNN, PLEC y

TRIP12) mostraron un mal pronóstico, y los pacientes con cáncer de ovario con mutaciones en el conjunto de genes sensibles propuestos (BRCA2, TOP3A y ASCC3) tuvieron un mejor pronóstico. Finalmente, el estudio fue capaz de predecir una terapia combinada de inhibidor de EGFR (erlotinib) y PARPi (veliparib) en pacientes con cáncer de pulmón, y pacientes con LGG con mutación en TTN podrían ser tratados con una combinación de PARPi y fármacos antiangiogénicos (bevacizumab). Estos hallazgos proporcionan una vía para ampliar el grupo de pacientes beneficiarios para los cuales se puede considerar el uso de los PARPi, y se ofrecen nuevas opciones de tratamiento para dirigirse a los mecanismos de resistencia de los PARPi. (60)

En el estudio de Hu et al. (2018) se generó un mapa de interacciones químico-genéticas que predijeron la resistencia a los inhibidores de PARP (olaparib, veliparib, rucaparib y BMN673) y al cisplatino. Este mapa cuantitativo fue capaz de predecir interacciones en líneas celulares, identificación de factores de reparación del ADN, predicción de las respuestas de líneas celulares de cáncer a la terapia y permitió sugerir combinaciones de fármacos sinérgicos. Además, se identificaron dos genes, GPBP1 y ARID1A, que al ser silenciados producían resistencia a BMN673 en múltiples líneas celulares (cáncer de mama y de ovario), encontrando evidencia que la pérdida de ARID1A se asoció con resistencia a los inhibidores de PARP y quimioterapia a base de platino en cánceres de ovario de alto grado. Por tanto, estaba asociado a un mal resultado y menor grado de supervivencia en cáncer ovárico con tratamiento de rucaparib en fase II. Además, se encontró que la pérdida de GPBP1 (factor de transcripción) contribuye a la resistencia a los inhibidores de PARP y al platino a través de la regulación de factores involucrados en la reparación por recombinación homóloga, lo cual tiene implicaciones tanto en la comprensión de los mecanismos de resistencia como en la selección de terapias dirigidas en el tratamiento del cáncer. El mapa reveló similitudes entre los inhibidores de PARP y los agentes de entrecruzamiento de ADN, destacando su letalidad sintética en combinación con la pérdida de genes de la vía de reparación por recombinación homóloga. Los hallazgos específicos del estudio indican que la pérdida de ARID1A y GPBP1 contribuye a la resistencia a los inhibidores de PARP. Se ha asociado la baja expresión de ARID1A con malos resultados y resistencia a los platinos en ciertos tipos de cáncer de ovario. También, se encontró que GPBP1, un regulador transcripcional involucrado en la regulación de genes relacionados con HR, está fuertemente asociado con la resistencia a los inhibidores de PARP y cisplatino. Finalmente, se propuso el uso de mapas genéticos cuantitativos para comprender las implicaciones funcionales y

terapéuticas de la genética tumoral, es decir, la utilidad del mapa sistemático surge como un recurso para identificar biomarcadores clínicamente relevantes de susceptibilidad a fármacos. Asimismo, se destacó su potencial para la integración con otros conjuntos de datos de cáncer con el fin de mejorar los esfuerzos de desarrollo de fármacos y biomarcadores. (61)

Asimismo, otro elemento fundamental para prevenir la resistencia a PARPi es el conocimiento del mismo. En el estudio de Le et al. (2020) se descubrió que el microambiente de la médula ósea (BMM) facilita la actividad de reparación de RDC en las células de leucemia para protegerlas contra la letalidad sintética mediada por PARPi. Así, este factor depende de la sobreexpresión inducida por la hipoxia de la quinasa del receptor del factor de crecimiento transformante beta (TGFbR) en las células malignas, que es activada por el factor de crecimiento transformante beta 1 (TGF-b1) derivado de las células estromales de la médula ósea, encontrándose que la inhibición de la quinasa de TGFbR y de SMAD3 redujo la expresión de genes asociados a la reparación del ADN (ATM, BRCA1, BRCA2, DNA-PKcs, LIG4), asimismo, inhibió las actividades de RH y D-NHEJ, y restauró la sensibilidad de las células malignas hematopoyéticas a la letalidad sintética mediada por PARPi. Por lo tanto, el estudio identificó un nuevo mecanismo de resistencia a PARPi, que depende de la activación mediada por TGF-b1 del receptor de TGFbR quinasa en las células de leucemia en la médula ósea. Este hallazgo puede llevar a la aplicación terapéutica del inhibidor de TGFbR en pacientes que reciben PARPi. (62)

Finalmente, se debe mencionar que, aunque los inhibidores de PARP1 se utilizan para el tratamiento contra el cáncer, la sobre activación de PARP1 está asociada con enfermedades neurodegenerativas como la degeneración macular relacionada con la edad (AMD) seca, por lo que los fármacos de inhibición PARP1 esperan su aprobación para su uso. (63,64) La investigación de Ho et al. (2021), utilizó un compuesto inhibidor de PARP1 denominado PIC para la AMD seca. Este compuesto fue identificado como inhibidor contra la actividad catalítica de PARP1 a través de un ensayo in vitro, además presentaba una eficacia protectora en células epiteliales pigmentarias de la retina humana (ARPE-19). El compuesto denominado PIC evidenció un IC de 0.41 ± 0.15 nM, por debajo de olaparib (1.71 ± 0.18 nM), rucaparib (1.72 ± 0.20 nM), niraparib (3.42 ± 0.84 nM) y talazoparib (0.73 ± 0.11 nM). El potencial inhibitorio de PIC se midió de la siguiente manera: los polímeros de PAR que aumentaron después del tratamiento con peróxido de hidrógeno, disminuyeron significativamente con la administración de PIC en células ARPE-19, con un IC50 de 0.11 ± 0.02 nM. Por lo tanto, PIC

protegió a las células del daño inducido por el peróxido de hidrógeno con un EC50 de $0,22 \pm 0,02$ nM, por debajo al de olaparib ($2,02 \pm 0,22$ nM), rucaparib ($2,96 \pm 0,18$ nM), niraparib ($33,2 \pm 27,59$ nM) y talazoparib ($0,41 \pm 0,06$ nM). Por último, se evaluó el perfil de inhibición de PIC en distintas isoformas de PARP, encontrando que PIC tenía una alta capacidad inhibitoria sobre PARP1/2 superior al 90%, una actividad moderada contra tankilasa 1/2 y PARP10 superior al 22% y ninguna inhibición en PARP3, 6, 7, 8, 11, 12 y 15. En conclusión, PIC tiene un efecto protector superior en las células epiteliales pigmentarias de la retina contra la muerte inducida por peróxido de hidrógeno en comparación con olaparib, rucaparib, niraparib y talazoparib. (65)

5.4 Mecanismos de reacción postulados para los procesos de inhibición de la PARP1

Los mecanismos de reacción postulados para los procesos de inhibición de la PARP1 hacen referencia a áreas de investigación que buscan comprender en detalle la interacción entre los inhibidores de PARP y esta enzima, asimismo, busca conocer el efecto que tienen en los procesos celulares relacionados. A continuación, se describirán los principales hallazgos:

Ghorai et al. (2020) hallaron que el inhibidor Olaparib redujo la proliferación celular en glioblastoma (GMB), para ello, se trataron a diferentes líneas celulares (U87MG, SF268, PS1, PS2 y PS5) de GMB por 72 horas, mostrando que U87MG, PS1 y PS2 tuvieron una reducción del 10% en la viabilidad celular a $50 \mu\text{M}$ de Olaparib, mientras que SF268 mostró una reducción significativa en la viabilidad a $10 \mu\text{M}$ y PS5 a $25 \mu\text{M}$. Ante el tratamiento a diferentes dosis de olaparib, se encontró que existió una inhibición del crecimiento dependiente de la dosis en todos los tipos de células, con una inhibición casi completa del crecimiento a concentraciones de Olaparib superiores a $25 \mu\text{M}$. De tal forma, se confirmó que una concentración de $5 \mu\text{M}$ de Olaparib inhibió la actividad de PARP1 en las células U87MG tratadas. Sumado a ello, se realizó un experimento para determinar la eficacia de olaparib más radiación, encontrando que más del 90% de la población residual consistía en células gigantes multinucleadas (MNGCs), mientras que el tratamiento con Olaparib solo no tenía efecto en la morfología de las células. En resumen, estos hallazgos demuestran que la inhibición de PARP1 aumentó la formación de MNGCs y se retrasó la recurrencia de GBM. Finalmente, en sus ensayos in vivo encontraron que el tratamiento con (radioterapia) RR + olaparib tuvieron una supervivencia significativamente mayor en contraste a otros tratamientos. (66)

Zhang et al. (2019) propusieron otro tratamiento en el cáncer de mama triple negativo (TNBC) con triptolide, un monómero de la medicina tradicional china extraído de

Tripterygium wilfordii y que posee múltiples funciones biológicas, (67,68) al cual se le ha atribuido actividades anticancerígenas mediante la apoptosis. (69,70) Así, después del tratamiento con triptolide (10 nM y 30 nM) por 24 horas, los niveles de PARP1 y XRCC1 disminuyeron alrededor de dos veces en las células con 30 nM de triptolide, mientras que los niveles de RAD51 disminuyeron ligeramente en las células TNBC. Se sabe, además, que el de PARP1 y XRCC1 están asociados a la reparación de roturas de cadena simple (RSC) y la reparación de escisión de bases (BER), mientras que RAD51 tiene función en la recombinación homóloga. Por lo tanto, estos resultados sugieren que el triptolide interfiere con la reparación de RSC y BER, y también puede regular ligeramente la RH. Después de estos resultados, se realizó otro análisis en una diferente línea celular de TNBC (BT549), encontrando que una concentración de 3 μ M de cisplatino en combinación con 30 nM de triptolide puede inhibir el crecimiento de las células BT549 hasta un 25%. Por tanto, el efecto del triptolide en las células BT549 es mejor que en las células MDA-MB231, lo que sugiere que sus efectos dependen del perfil genético del TNBC. Los ensayos muestran que el triptolide promueve que el cisplatino induzca más roturas de doble cadena y sensibiliza al TNBC al cisplatino. Estos resultados demuestran que el triptolide afecta la reparación del ADN celular y causa daño al ADN para desencadenar la apoptosis. En conclusión, se podría utilizar el triptolide en el tratamiento de TNBC a nivel clínico. (71)

Kim et al. (2019) encontraron una vía alternativa para el control de crecimiento de células cancerosas mediada por PARPi en células de cáncer de mama con BRCA 1/2. Se debe tener en cuenta que DDX21 es una ARN helicasa ubicada en los nucleolos que promueve la transcripción de ADNr. Se encontró que los inhibidores de PARP provocan una reducción significativa de la localización nucleolar de PARP1, indicando que la automodificación de PARP-1 y la ADPRilación de DDX21 son importantes para su retención nucleolar. Se demostró que DDX21 es capaz de unirse al complejo de transcripción de Poli I en los loci del ADNr con la finalidad de regular la transcripción de ADNr, sin embargo, esta unión disminuyó ante el tratamiento con PJ34 o niraparib. Posterior a ello, se determinó el papel de la ADPRilación mediada por PARP-1 de DDX21 en la proliferación de células de cáncer de mama. En células cancerosas de mama, la inhibición de PARP-1 con PJ34 o niraparib causaron una reducción significativa en la proliferación celular. En conjunto, los resultados indican que la actividad catalítica de PARP1 controla la ADPRilación de DDX21, la localización nucleolar de DDX21, la transcripción del ADNr y la proliferación de células de cáncer de mama in vivo. Además, los análisis demostraron que la vía de biogénesis de

ribosomas snoRNA-PARP1-DDX21 se encuentra regulada al alza en cánceres de mama. En síntesis, el estudio permitió conocer el mecanismo de reacción del inhibidor nariparib y proporciona un nuevo objetivo potencial para la terapia del cáncer de mama independiente del daño en el ADN, ampliando considerablemente la utilidad clínica de los inhibidores de PARP. Por tanto, se presenta la transcripción del ADNr y la biogénesis de ribosomas como un objetivo alternativo para los inhibidores de PARP en el cáncer. (34)

En el estudio de Mitra et al. (2019) se propuso el flavonoide 2,4-nitrofenilcromen-4-ona (4NCO) como un inhibidor potencial de PARP1 y el análisis *in silico* como una herramienta útil para estudiar las interacciones proteína-ligando, herramienta útil en el proceso de descubrimiento y desarrollo de fármacos. El potencial inhibidor demostró que tiene una buena absorción gastrointestinal, lo que representa una buena biodisponibilidad (72) y tiene una permeabilidad de la barrera hematoencefálica convirtiéndolo en un importante candidato como fármaco. Sumado a ello, la limitación de algunos fármacos se debe en muchos casos por la resistencia a múltiples fármacos, principalmente por la expulsión del fármaco de las células por la glicoproteína P (73), sin embargo, 4NCO no es sustrato de la glicoproteína P por lo que se garantiza una adecuada acción del fármaco al objetivo sin ser expulsado del sistema. Asimismo, se realizaron otros exámenes fisicoquímicos que determinaron la idoneidad de 4NCO. El estudio también realizó una predicción del porcentaje de inhibición mediante análisis QSAR, obteniendo un valor predictivo de 0.96 para 4NCO, lo que proporciona una estimación teórica de su actividad, a una concentración de 100 $\mu\text{mol/L}$ de 4NCO, por lo tanto, se inhibiría el 96% de la actividad de hPARP1, lo cual denota buenas cualidades de inhibición. Por otro lado, los estudios de simulación de dinámica molecular permitieron identificar que el complejo hPARP1-4NCO exhibió estabilidad desde 20 ns hasta 100 ns, mientras que hPARP1-NAD⁺ alcanzó una estructura estable desde 40 ns hasta 100 ns, esto indicó que hPARP1 adquirió una conformación más estable cuando se unió a 4NCO que cuando se unió a NAD⁺, mientras que el análisis de movimiento y dinámica de la proteína evidenció que los movimientos de PARP1 estaban restringidos a un espacio de fase menor en el caso de la unión a 4NCO en comparación con la unión a NAD⁺, es decir, la unión de 4NCO confería estabilidad a la estructura de la proteína y reducía sus propiedades dinámicas. Estos hallazgos permitieron sugerir la efectividad de 4NCO como un potente inhibidor, comprometiendo la función normal de PARP1. (74)

Por otro lado, Deng et al. (2022) estudiaron los mecanismos de reacción de los inhibidores de PARP, tales como olaparib, rucaparib y niraparib. En primer lugar, se encontraron que las células de cáncer de ovario (UWB) nulas para BCRA1 (carecen de la proteína BCRA1) fueron más sensibles a todos los inhibidores de PARP, mientras que la expresión reconstituida de BRCA1 resultó en la pérdida de citotoxicidad frente al tratamiento con PARPi. Las células que no respondieron al tratamiento con PARPi mostraron cambios significativos en los complejos multiproteicos de PARP1, teniendo cada PARPi un sitio distinto de destino. Además, las células UWB sensibles a los PARPi presentaban un mayor coenriquecimiento de los complejos proteicos PARP1/Ku70/Ku80 en comparación con las células UWB+B insensibles a los PARPi. Así, las diferencias en las composiciones de los complejos proteicos PARP1:Ku70/Ku80 o PARP2 podrían determinar la sensibilidad o resistencia primaria a los PARPi en el OC. Otro análisis de fosfoproteómica global permitió elucidar que las vías de señalización relacionadas con la reparación del ADN, como la unión no homóloga de extremos (UENH), la replicación del ADN y la recombinación homóloga, estaban significativamente enriquecidas en las células UWB sensibles a los PARPi. Se observó que rucaparib aumentó la fosforilación de DNAPK en la posición S2056, un sitio conocido de autofosforilación y un indicador de la actividad de DNAPK, en las células UWB, pero no en las células UWB+B. Esto sugiere que los PARPi inducen la activación de la reparación UENH en las células de OC deficientes en BRCA1, lo cual está relacionado con una reparación errónea del ADN y un papel en la sensibilidad celular a los PARPi. Además, las proteínas ADP-ribosiladas en células UWB y UWB+B tratadas con rucaparib se encontraron diferentes componentes relacionados con la señalización del ciclo celular, como MRE11, SOS1, GRB2, CDK6, CASP6 y CASP8 en las células UWB y proteínas MARCKS en las células UWB+B. El análisis de las vías de señalización mostró que en las células UWB sensibles a los PARPi, la disminución de la ADP-ribosilación afectó preferentemente a los factores implicados en el sistema inmune adaptativo y el ciclo celular, mientras que en las células UWB+B insensibles a los PARPi, el análisis de las vías de señalización sugirió un enriquecimiento de la apoptosis, la adhesión focal, la señalización ErbB (vía de señalización mediada por una familia de receptores de superficie celular denominados receptores ErbB) y la traducción. Estos hallazgos indican que los patrones de ADP-ribosilación son diferentes entre las células sensibles e insensibles a los PARPi y que la fosforilación de AKT (proteína quinasa B) se ve afectada específicamente en las células insensibles a los PARPi. Asimismo, estos resultados proporcionan información sobre los eventos de señalización mediados por la fosforilación que podrían contribuir a la respuesta diferencial al tratamiento con PARPi en el

cáncer de ovario. En resumen, se observó que los inhibidores de PARP evitan la poli ADP-ribosilación de las proteínas Ku70/Ku80, lo que promueve la actividad de la c- UENH y aumenta la inestabilidad genómica y la muerte celular. Además, se demostró que la inhibición combinada de PARP1 y AKT tuvo un efecto sinérgico en células resistentes a los inhibidores de PARP, lo que respalda la combinación de inhibidores de PARP y AKT como una estrategia terapéutica potencial tanto en células deficientes como proficientes en BRCA1. Estos hallazgos proporcionan una comprensión más completa de la resistencia primaria a los inhibidores de PARP en el cáncer de ovario y sugieren que la asociación de PARP1/PARP2 con los complejos Ku70/Ku80 y la PARilación de AKT podrían ser biomarcadores y dianas terapéuticas relevantes en el tratamiento de este tipo de cáncer. (75)

Respecto a la acción de los PARPi con los macrófagos, se conoce que estas células son una población heterogénea de monocitos diferenciados terminalmente que varían en su función desde proinflamatorios y antitumorales (fenotipo M1) hasta remodelación de tejidos promotores de tumores (fenotipo M2), inducidos por IL-4, IL-10, IL-13 y CSF-1. (76) Recientemente se ha demostrado que la ablación de esta última subpoblación utilizando anticuerpos contra el receptor CSF-1 (CSF-1R) mejoró los resultados de los tratamientos con olaparib. (77) En el estudio de Wang et al. (2022) se examinó el mecanismo de inhibición de PARP respecto a la función de los macrófagos asociados al tumor (TAMs) en tumores con mutaciones BCRA1, encontrándose que la inhibición de PARP causa una reprogramación del metabolismo de los TAMs, contribuyendo a un resultado favorable. En ratones inmunocompetentes con tumores de 4 a 7 mm se realizó la ablación de macrófagos con clodronato y tratamiento con olaparib (PARPi), resultando en una ablación de TAMs de más del 60% debido al clodranato, sin embargo, el agente clodranato en acción solo no afectó el crecimiento de los tumores (supervivencia tumoral mediana de 25 días). En cambio, olaparib fue altamente selectivo y mejoró la supervivencia en 70 días. No obstante, en combinación con clodronato, la supervivencia mediana disminuyó en 59 días, lo que indicó que la ablación de macrófagos tuvo un impacto negativo en la eficacia de olaparib. Aunque la evidencia menciona que la ablación de TAMs con clodronato ralentiza el crecimiento tumoral (Carron et al., 2017), estos hallazgos sugieren que cuando olaparib se combinó con clodronato en un huésped inmunocompetente dio malos resultados, asimismo, los TAMs no promovieron el crecimiento tumoral, sino que contribuyeron a la respuesta antitumoral con olaparib. Además, se observó que el número de macrófagos fagocíticos en los tumores tratados con olaparib era el doble que, en el control, aumentando considerablemente de tamaño y formaron

conglomerados de células gigantes con citoplasma expansivo y restos celulares ingeridos. Los macrófagos tratados con olaparib fueron capaces de ingerir células de cáncer de mama K14-Cre BRCA1f/fp53f/f marcadas con GFP y mostraron una mayor capacidad para matar células de cáncer de mama BRCA1-deficientes en comparación con los macrófagos de control. Finalmente, sus estudios evidenciaron que los macrófagos pretratados con olaparib retrasaron significativamente la progresión de los tumores de mama deficientes en BRCA1. En resumen, la inhibición de PARP con olaparib induce macrófagos más grandes con capacidad para fagocitar y matar células cancerosas. Estos macrófagos reprogramados contribuyen a la actividad anti-tumoral de olaparib tanto in vitro como in vivo. Además, esta reprogramación depende de la acumulación de NAD y sus derivados, como MNA, y está mediada por cambios transcripcionales y metabólicos en los macrófagos. (78)

Si bien PARP1 está sobreexpresado en muchos tumores hematológicos, su estudio en micosis fungoide (MF) es aún desconocida. La investigación de Kruglov et al. (2020) utilizó talazorip, un nuevo inhibidor de PARP1/2, demostrando que elimina el linfoma cutáneo in vitro e in vivo, además fue capaz de eliminar el cáncer de mama sensible. Se determinó la IC50 de talazoparib en 316.8 μM y detiene el ciclo celular en la fase G2/M (etapa de división celular). La eficacia de talazoparib redujo eficientemente el tamaño de los tumores cutáneos, así como de los ganglios linfáticos regionales afectados por el linfoma. Asimismo, se logró potenciar su efecto al combinarse con el inhibidor de la histona desacetilada (HDACi) romidepsina. Gracias a esta combinación se estimula la apoptosis, desaparición de la fase S del ciclo celular y una expansión de la fase G2/M, lo que indica el arresto del ciclo celular de las células de linfoma en esta fase. Esta sinergia se produce mediante el eje Blimp-1(PRDM1)/Bax. Esta combinación produce un efecto citotóxico mediada mediante la regulación al alza de Blimp-1 (gen PRDM1), lo que condujo a la apoptosis de las células de linfoma. Por lo tanto, se demostró que la combinación de PARPi con romidepsin tiene un efecto antilinfoma sinérgico, representando un buen candidato terapéutico que debe ser explorado clínicamente a mayor detalle. (79)

PERSPECTIVAS FUTURAS

Respecto al primer objetivo, las investigaciones relacionadas con las rutas de investigación asociadas a PARP1 y sus mutaciones abren nuevas perspectivas en la comprensión de los mecanismos moleculares involucrados en la reparación del ADN y la regulación de la expresión génica. Sin embargo, aún se necesitan mayores investigaciones sobre la actuación del ADN intacto con PARP1, por ejemplo, aún deben ser dilucidados cómo Zn1, Zn2 y Zn3 promueven la interacción del dominio BRCT con el ADN. De igual manera, aunque se viene estudiando la autoPARilación de PARP1, todavía no se comprende completamente la forma en la que se regula esta actividad, haciendo necesario que se investiguen los factores asociados que modulan la actividad catalítica de PARP1, incluyendo cofactores y proteínas reguladoras. Sumado a ello, mayores estudios sobre la interacción de PARP1 con otros sistemas de reparación de ADN son necesarios, entre ellos, reparación por recombinación homóloga y la reparación por unión terminal no homóloga.

Acercas de los estudios de PARP1 asociados a diferentes tipos de cáncer, se debe mencionar que se han realizado amplias investigaciones sobre el tema, sin embargo, la mayoría de ellos se sitúan en el cáncer de mama, ovario y páncreas, haciendo necesario que las indagaciones se extiendan a otros tipos de cánceres como pulmón, colorrectal y páncreas. Asimismo, se necesita una mayor investigación para comprender el papel preciso de PARP1 en la progresión tumoral y la metástasis en diferentes clases de cáncer.

Por otro lado, entre los nuevos enfoques y propuestas para prevenir y combatir la resistencia a PARP1, se propone el estudio de biomarcadores predictivos de respuesta a inhibidores de PARP1 mediante análisis genómico, inmunohistoquímica en muestras de tejido tumoral y mapas de interacciones químico-genéticos, por citar algunos métodos. También, se podría profundizar en el estudio de cisplatino, el cual representa un tratamiento prometedor, sin embargo, la resistencia al medicamento es un desafío para su uso clínico, por lo que mayores investigaciones son requeridas. Asimismo, recientemente la resistencia a PARP1 ha ocasionado que se desarrollen estudios orientados a encontrar nuevos y más potentes inhibidores de PARP1, por lo que la exploración de nuevos inhibidores o su combinación con otros tratamientos se presentan como propuestas atractivas para el tratamiento de diferentes tipos de cáncer.

Finalmente, la revisión sistemática permitió conocer el mecanismo de acción de una diversidad de actuales y novedosos inhibidores de PARP1, así como la comprensión de los tratamientos combinados sobre la enzima PARP1. En este sentido, el uso de PARPi promete ser una alternativa a la quimioterapia, haciéndola atractiva por no ser tóxica para las células no tumorales, sin embargo, se deben seguir realizando estudios sobre los mecanismos de resistencia. Se propone realizar estudios de cristalografía de rayos X u otras técnicas de análisis estructural para elucidar una comprensión detallada de la interacción entre los inhibidores de PARP1 y la enzima misma. El uso de simulación computacional también permitiría estudiar la interacción entre los inhibidores de PARP1 y su sitio de unión en la enzima y estudios de interacciones proteína-proteína permitirían investigar las interacciones entre PARP1 y otras proteínas involucradas en la vía de reparación del ADN, como BRCA1/2 u otras proteínas homólogas.

En el futuro cercano, se espera que los estudios sobre PARP1 y su asociación con el cáncer continúen avanzando y desempeñen un papel importante en el campo de la oncología. Además, los Ingenieros Biotecnólogos pueden contribuir con investigaciones sobre nuevos inhibidores de PARP1, implementación de técnicas de detección y diagnóstico de biomarcadores y en la ingeniería de sistemas para comprender mejor los mecanismos de acción de PARP1. Por lo tanto, la implicancia del ingeniero biotecnólogo en el avance de la investigación y el desarrollo de terapias dirigidas a PARP1 y el cáncer es fundamental.

CAPITULO IV

CONCLUSIONES

- De los 7 estudios seleccionados en el primer objetivo: rutas de investigación relacionadas con la enzima PARP1 y sus mutaciones, tres abordaron las rutas relacionadas al sitio de unión de PARP1 y ADN. Asimismo, otra investigación estudió la interacción entre PARP1 y los diferentes tipos de ARN. Otro de los estudios abordó la actividad catalítica de PARP1. Por último, dos estudios identificaron mutaciones puntuales en PARP1 que afectan su respuesta a los inhibidores de PARP.
- De los cinco estudios seleccionados en el objetivo dos: Diversos tipos de cáncer asociados a la enzima PARP1, uno de ellos abordó la expresión y actividad de PARP1 relacionada con el cáncer de mama, dos estudios mencionaron la relación de PARP1 con dos tipos distintos de cáncer hematológico, un estudio investigó la interacción entre el ARN DDX11-AS1 y PARP1 en el carcinoma hepatocelular y finalmente, otro estudio determinó la asociación entre la expresión de PARP1 y el estadio de metástasis. El estudio de la actividad y la regulación de PARP1 en estos contextos proporcionó información importante sobre la asociación del cáncer con PARP1.
- De los siete estudios seleccionados en el objetivo tres: Nuevos conceptos potenciales para prevenir y combatir la resistencia a PARP1, uno de ellos abordó la resistencia a olaparib en dos casos de cáncer, dos investigaciones propusieron nuevos inhibidores, uno sugirió una terapia combinada con inhibidores de PARP, otra investigación propuso la degradación de PARP con un tipo de inhibidor de moléculas pequeñas y dos estudios hicieron uso de métodos computacionales para la propuesta de biomarcadores y predicción de la resistencia de inhibidores de PARP, respectivamente.
- De las siete investigaciones consideradas en el objetivo cuatro: mecanismos de reacción postulados para los procesos de inhibición de la PARP1, dos de ellos abordaron el mecanismo de acción de olaparib y uno de ellos estudió la acción de otros inhibidores conocidos (rucaparib y niraparib), mientras que otro estudio halló una vía alterna relacionada al crecimiento de células cancerosas mediada por PARPi. Asimismo, tres estudios analizaron la unión entre tres potenciales inhibidores y

PARP1: triptolide, 4CNO y talazorip, respectivamente. Finalmente, la investigación de Wang et al. (2022) analizó la acción de los PARPi en los macrófagos, células conocidas por su acción antitumoral.



REFERENCIAS

1. Biegała L, Gajek A, Marczak A, Rogalska A. PARP inhibitor resistance in ovarian cancer: Underlying mechanisms and therapeutic approaches targeting the ATR/CHK1 pathway. *Biochim Biophys Acta - Rev Cancer* [Publicación periódica en línea]. 2021; 1876(2): p. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0304419X21001311>.
2. Rostoft S, Thomas M, Slaaen M, Møller B, Syse A. The effect of age on specialized palliative care use in the last year of life for patients who die of cancer: A nationwide study from Norway. *J Geriatr Oncol* [Publicación periódica en línea]. 2022;: p. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S187940682200193X>.
3. Mortlock S, Corona R, Kho P, Pharoah P, Seo J, Freedman M, et al. A multi-level investigation of the genetic relationship between endometriosis and ovarian cancer histotypes. *Cell Rep* [Publicación periódica en línea]. 2022; 3(3): p. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2666379122000428>.
4. Burns D, Anokian E, Saunders E, Bristow R, Fraser M, Reimand J, et al. Rare Germline Variants Are Associated with Rapid Biochemical Recurrence After Radical Prostate Cancer Treatment: A Pan Prostate Cancer Group Study. *Eur Urol* [Publicación periódica en línea]. 2022; 82(2): p. 201-211. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0302283822023417>.
5. Antonarakis E, Gomella L, Petrylak D. When and How to Use PARP Inhibitors in Prostate Cancer: A Systematic Review of the Literature with an Update on On-Going Trials. *Eur Urol Oncol* [Publicación periódica en línea]. 2020; 3(5): p. 594-611. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2588931120300961>.
6. Kilian C, Rovira P, Neufeld M, Ferreira-Borges C, Rungay H, Soerjomataram I, et al. Modelling the impact of increased alcohol taxation on alcohol-attributable cancers in the WHO European Region. *Lancet Reg Health Eur* [Publicación periódica en línea]. 2021; 11: p. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2666776221002106>.
7. Barrios C, Sánchez-Vanegas G, Villarreal-Garza C, Ossa A, Lombana M, Monterrosa-Blanco A, et al. Barriers and facilitators to provide multidisciplinary care for breast cancer

- patients in five Latin American countries: A descriptive-interpretative qualitative study. *Lancet Reg Health Am* [Publicación periódica en línea]. 2022; 11: p. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2667193X22000710>.
8. Ministerio de Salud. Programa Presupuestal 0024 Prevención y Control de Cancer. 2021. Disponible en: https://www.minsa.gob.pe/presupuestales/doc2021/ANEXO2_6.pdf.
 9. Tabrez S, Hoque M, Suhail M, Khan M, Zughaihi T, Khan A. Identification of anticancer bioactive compounds derived from *Ficus* sp. by targeting Poly[ADP-ribose]polymerase 1 (PARP-1). *J King Saud Univ Sci* [Publicación periódica en línea]. 2022; 34(5): p. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1018364722002609>.
 10. Ghosh D, Ghosh D, Das A. Recent developments in nanocarriers for Cancer Chemotherapy. *Opennano* [Publicación periódica en línea]. 2022;: p. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2352952022000421>.
 11. Monge-Cadet J, Moyal E, Supiot S, Guimas V. DNA repair inhibitors and radiotherapy. *Cancer Radiothero* [Publicación periódica en línea]. 2022;: p. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1278321822001226>.
 12. Noordermeer S, Attikum H. PARP Inhibitor Resistance: A Tug-of-War in BRCA-Mutated Cells. *Trends Cell Biol* [Publicación periódica en línea]. 2019; 29(10): p. 820-834. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0962892419301242>.
 13. Hanna D, Chopra N, Hochhauser D, Khan K. The role of PARP inhibitors in gastrointestinal cancers. *Crit Rev Oncol Hematol* [Publicación periódica en línea]. 2022; 171: p. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1040842822000452>.
 14. Bejan D, Cohen M. Methods for profiling the target and off-target landscape of PARP inhibitors. *Curr Opin Chem Biol* [Publicación periódica en línea]. 2022; 2: p. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S266624692200009X>.
 15. Wigle T, Blackwell D, Schenkel L, Ren Y, Church D, Desai H, et al. In Vitro and Cellular Probes to Study PARP Enzyme Target Engagement. *Cell Chem Biol* [Publicación periódica en línea]. 2020; 27(7): p. 877-887. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2451945620302324>.

16. Wang X, Zeng X, Li D, Zhu C, Guo X, Feng L, et al. PARP inhibitors in small cell lung cancer: The underlying mechanisms and clinical implications. *Biomed Pharmacother* [Publicación periódica en línea]. 2022; 153: p. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0753332222008472>.
17. Lin W, Chen J, Wen X, He W, Zarceno G, Chen Y, et al. DDX18 prevents R-loop-induced DNA damage and genome instability via PARP-1. *Cell Rep* [Publicación periódica en línea]. 2022; 40(3): p. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2211124722008919>.
18. Prasad R, Horton J, Wilson S. Requirements for PARP-1 covalent crosslinking to DNA (PARP-1 DPC). *DNA Repair* [Publicación periódica en línea]. 2020; 90: p. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1568786420300951>.
19. Szántó M, Gupte R, Kraus W, Pacher P, Bai P. PARPs in lipid metabolism and related diseases. *Prog Lipid Res* [Publicación periódica en línea]. 2021; 84: p. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0163782721000333>.
20. Genta S, Martorana F, Stathis A, Colombo I. Targeting the DNA damage response: PARP inhibitors and new perspectives in the landscape of cancer treatment. *Crit Rev Oncol Hematol* [Publicación periódica en línea]. 2021; 168: p. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1040842821003267>.
21. Sethy C, Kundu C. PARP inhibitor BMN-673 induced apoptosis by trapping PARP-1 and inhibiting base excision repair via modulation of pol- β in chromatin of breast cancer cells. *Toxicol Appl Pharmacol* [Publicación periódica en línea]. 2022; 436: p. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0041008X21004646>.
22. Franzese E, Centonze S, Diana A, Carlino F, Guerrera L, Napoli M, et al. PARP inhibitors in ovarian cancer. *Cancer Treat Rev* [Publicación periódica en línea]. 2019; 73: p. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0305737218302007>.
23. Mateo J, Lord C, Serra V, Tutt A, Balmaña J, Castroviejo-Bermejo M, et al. A decade of clinical development of PARP inhibitors in perspective. *Ann Oncol* [Publicación periódica en línea]. 2019; 30(9): p. 1437-1447. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0923753419459851>.

24. Zheng F, Zhang Y, Chen S, Weng X, Rao Y, Fang H. Mechanism and current progress of Poly ADP-ribose polymerase (PARP) inhibitors in the treatment of ovarian cancer. *Biomed Pharmacother* [Publicación periódica en línea]. 2020; 123: p. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0753332219352837>.
25. Demény M, Virág L. The PARP Enzyme Family and the Hallmarks of Cancer Part 1. Cell Intrinsic Hallmarks. *Cancers* [Publicación periódica en línea]. 2021; 13(9): p. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8122967/>.
26. Gundogdu R, Erdogan K, Ditsiou A, Spanswick V, Garcia-Gomez J, Hartley J, et al. hMOB2 deficiency impairs homologous recombination-mediated DNA repair and sensitises cancer cells to PARP inhibitors. *Cell Signal* [Publicación periódica en línea]. 2021; 87: p. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0898656821001959>.
27. Mani C, Tripathi K, Omy T, Reedy M, Manne U, Palle K. GLI1-targeting drugs induce replication stress and homologous recombination deficiency and synergize with PARP-targeted therapies in triple negative breast cancer cells. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis* [Publicación periódica en línea]. 2022; 1868(2): p. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0925443921002337>.
28. Alemasova E, Lavrik O. Poly(ADP-ribosylation) by PARP1: reaction mechanism and regulatory proteins. *Nucleic Acids Research*. 2019 [cited 2023 Jun 01]; 47(8): p. 3811-3827. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30799503/>.
29. Sukhanova M, Hamon L, Kutuzov M, Joshi V, Abrakhi S, Dobra L, et al. A Single-Molecule Atomic Force Microscopy Study of PARP1 and PARP2 Recognition of Base Excision Repair DNA Intermediates. *Journal of Molecular Biology* [Internet]. 2019 [cited 2023 Jun 03]; 431(15): p. 2655-2673. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.jmb.2019.05.028>.
30. Liu L, Kong M, Gassman N, Freudenthal B, Prasad R, Zhen S, et al. PARP1 changes from three-dimensional DNA damage searching to one-dimensional diffusion after auto-PARylation or in the presence of APE1. *Nucleic Acids Research* [Internet]. 2017 [cited 2023 Jun 03]; 45(22): p. 12834-12847. Available from: <https://doi.org/10.1093/nar/gkx1047>.

31. Sukhanova M, Abrakhi S, Joshi V, Pastre D, Kutuzov M, Anarbaev R, et al. Single molecule detection of PARP1 and PARP2 interaction with DNA strand breaks and their poly(ADP-ribosylation) using high-resolution AFM imaging. *Nucleic Acids Research* [Internet]. 2016 [cited 2023 Jun 03]; 44(6): p. e60-e60. Available from: <https://doi.org/10.1093/nar/gkv1476>.
32. Rudolph J, Muthurajan U, Palacio M, Mahadevan J, Roberts G, Erbse A, et al. The BRCT domain of PARP1 binds intact DNA and mediates intrastrand transfer. *Molecular Cell* [Internet]. 2021 [cited 2023 Jun 03]; 81(24): p. 4994-5006. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2021.11.014>.
33. Altmeyer M, Messner S, Hassa P, Fey M, Hottiger M. Molecular mechanism of poly(ADP-ribosylation) by PARP1 and identification of lysine residues as ADP-ribose acceptor sites. *Nucleic Acids Research* [Internet]. 2009 [cited 2023 Jun 03]; 37(11): p. 3723-3738. Available from: <https://doi.org/10.1093/nar/gkp229>.
34. Kim D, Camacho C, Nagari A, Malladi V, Challa S, Kraus W. Activation of PARP-1 by snoRNAs Controls Ribosome Biogenesis and Cell Growth via the RNA Helicase DDX21. *Molecular Cell* [Internet]. 2019 [cited 2023 Jun 03]; 75(6): p. 1270-1285. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2019.06.020>.
35. Gibson B, Zhang Y, Jiang H, Hussey K, Shrimp J, Lin H, et al. Chemical genetic discovery of PARP targets reveals a role for PARP-1 in transcription elongation. *Science* [Internet]. 2016; 353(6294): p. 45-50. Available from: [10.1126/science.aaf7865](https://doi.org/10.1126/science.aaf7865).
36. Hassa P, Haenni s, Buerki C, Meier N, Lane W, Owen H, et al. Acetylation of poly(ADP-ribose) polymerase-1 by p300/CREB-binding protein regulates coactivation of NF-kappaB-dependent transcription. *The Journal of Biological Chemistry* [Internet]. 2005 [cited 2023 Jun 03]; 280(49): p. 40450-40464. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16204234/>.
37. Hassa P, Buerki C, Lombardi C, Imhof R, Hottiger M. Transcriptional coactivation of nuclear factor-kappaB-dependent gene expression by p300 is regulated by poly(ADP-ribose) polymerase-1. *The Journal of Biological Chemistry* [Internet]. 2003 [cited 2023 Jun 03]; 278(46): p. 45145-45153. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12960163/>.

38. Mishra M, Kowluru R. Role of PARP-1 as a novel transcriptional regulator of MMP-9 in diabetic retinopathy. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease* [Internet]. 2017; 1863(7): p. 1761-1769. Available from: [10.1016/j.bbadis.2017.04.024](https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2017.04.024).
39. Dawicki-McKenna J, Langelier M, DeNizio J, Riccio A, Cao C, Karch K, et al. PARP-1 Activation Requires Local Unfolding of an Autoinhibitory Domain. *Molecular Cell* [Internet]. 2015 [cited 2023 Jun 04]; 60(5): p. 755-768. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1097276515007807>.
40. Hanna R, Hegde M, Fagre C, DeWeirdt P, Sangree A, Szegetes Z, et al. Massively parallel assessment of human variants with base editor screens. *Cell* [Internet]. 2021 [cited 2023 Jun 04]; 184(4): p. 1064-1080. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.cell.2021.01.012>.
41. Jayasinghe R, Cao S, Gao Q, Wendl M, Vo N, Reynolds S, et al. Systematic Analysis of Splice-Site-Creating Mutations in Cancer. *Cell Reports* [Internet]. 2018; 23(1): p. 270-281. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2018.03.052>.
42. Lin W, Chen J, Wen X, He W, Zarceno G, Chen Y, et al. DDX18 prevents R-loop-induced DNA damage and genome instability via PARP-1. *Cell Reports* [Internet]. 2022 [cited 2023 Jun 04]; 40(3): p. 111089. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2022.111089>.
43. D'Amours D, Desnoyers S, D'Silva I, Poirier G. Poly(ADP-ribosyl)ation reactions in the regulation of nuclear functions. *The Biochemical Journal* [Internet]. 1999 [cited 2023 Jun 04]; 342(2): p. 249-268. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10455009/>.
44. Zhen Y, Zhang Y, Yu Y. A Cell-Line-Specific Atlas of PARP-Mediated Protein Asp/Glu-ADP-Ribosylation in Breast Cancer. *Cell Reports* [Internet]. 2017; 21(8): p. 2326-2337. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2017.10.106>.
45. Galindo-Campos M, Lutfi N, Bonnin S, Martínez C, Velasco-Hernandez T, García-Hernández V, et al. Distinct roles for PARP-1 and PARP-2 in c-Myc-driven B-cell lymphoma in mice. *Blood* [Internet]. 2022 [cited 2023 Jun 04]; 139(2): p. 228-239. Available from: <https://doi.org/10.1182/blood.2021012805>.
46. Li X, Li C, Jin J, Wang J, Huang J, Ma Z, et al. High PARP-1 expression predicts poor

- survival in acute myeloid leukemia and PARP-1 inhibitor and SAHA-bendamustine hybrid inhibitor combination treatment synergistically enhances anti-tumor effects. *eBioMedicine* [Internet]. 2018 [cited 2023 Jun 04]; 38(1): p. 47-56. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2018.11.025>.
47. Xu M, Zhao X, Zhao S, Yang Z, Yuan W, Han H, et al. Landscape analysis of lncRNAs shows that DDX11-AS1 promotes cell-cycle progression in liver cancer through the PARP1/p53 axis. *Cancer Letters* [Internet]. 2021; 520(1): p. 282-294. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.canlet.2021.08.001>.
48. Stanisavljevic J, Porta-de-la-Riva M, Batlle R, de Herreros A, Baulida J. The p65 subunit of NF- κ B and PARP1 assist Snail1 in activating fibronectin transcription. *Journal of Cell Science* [Internet]. 2011 [cited 2023 Jun 04]; 124(4): p. 4161-4171. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22223884/>.
49. Pu H, Horbinski C, Hensley P, Matuszak E, Atkinson T, Kyprianou N. PARP-1 regulates epithelial-mesenchymal transition (EMT) in prostate tumorigenesis. *Carcinogenesis* [Internet]. 2014 [cited 2023 Jun 04]; 35(11): p. 2592-2601. Available from: <https://academic.oup.com/carcin/article/35/11/2592/418395>.
50. Hu W, Wang Z, Zhang S, Lu X, Wu J, Yu K, et al. IQGAP1 promotes pancreatic cancer progression and epithelial-mesenchymal transition (EMT) through Wnt/ β -catenin signaling. *Scientific Reports* [Internet]. 2019 [cited 2023 Jun 03]; 9(1): p. 7539. Available from: <https://www.nature.com/articles/s41598-019-44048-y>.
51. Valenta T, Hausmann G, Basler K. The many faces and functions of β -catenin: β -Catenin: a life by, beyond, and against the Wnt canon. *The EMBO Journal* [Internet]. 2012 [cited 2023 Jun 03]; 31(12): p. 2714-2736. Available from: <https://www.embopress.org/doi/full/10.1038/emboj.2012.150>.
52. Kumar M, Jaiswal R, Prasad R, Yadav S, Kumar A, Yadava P, et al. PARP-1 induces EMT in non-small cell lung carcinoma cells via modulating the transcription factors Smad4, p65 and ZEB1. *Life Sciences* [Internet]. 2021 [cited 2023 Jun 04]; 269(1): p. 118994. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2020.118994>.
53. Tao H, Liu S, Huang D, Han X, Wu X, Shao Y, et al. Acquired multiple secondary

- BRCA2 mutations upon PARPi resistance in a metastatic pancreatic cancer patient harboring a BRCA2 germline mutation. *American Journal of Translational Research* [Internet]. 2020 [cited 2023 Jun 03]; 12(2): p. 612-617. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7061843/>.
54. Assaf I, Mans L, Sakr R, Verset G, Van L. Unusual metastasis in BRCA mutated pancreatic cancer while on maintenance Olaparib: Two case reports and review of the literature. *European Journal of Cancer* [Internet]. 2021 [cited 2023 Jun 05]; 157(1): p. 63-67. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.ejca.2021.07.042>.
55. Molla S, Hembram K, Chatterjee S, Nayak D, Sethy C, Pradhan R, et al. PARP inhibitor Olaparib Enhances the Apoptotic Potentiality of Curcumin by Increasing the DNA Damage in Oral Cancer Cells through Inhibition of BER Cascade. *Pathology & Oncology Research* [Internet]. 2020 [cited 2023 Jun 05]; 26(4): p. 2091-2103. Available from: <https://link.springer.com/article/10.1007/s12253-019-00768-0>.
56. Mateo J, Lord C, Serra V, Tutt A, Balmaña J, Castroviejo-Bermejo M, et al. A decade of clinical development of PARP inhibitors in perspective. *Annals of Oncology* [Internet]. 2019 [cited 2023 Jun 05]; 30(9): p. 1437-1447. Available from: <https://doi.org/10.1093/annonc/mdz192>.
57. Xiong Y, Guo Y, Liu Y, Wang H, Gong W, Liu Y, et al. Pamiparib is a potent and selective PARP inhibitor with unique potential for the treatment of brain tumor. *Neoplasia* [Internet]. 2020 [cited 2023 Jun 06]; 22(9): p. 431-440. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.neo.2020.06.009>.
58. Zhao Q, Lan T, Su S, Rao Y. Induction of apoptosis in MDA-MB-231 breast cancer cells by a PARP1-targeting PROTAC small molecule. *Chemical Communications* [Internet]. 2019 [cited 2023 Jun 05]; 55(3): p. 369-372. Available from: <https://doi.org/10.1039/C8CC07813K>.
59. Go A, Jang J, Lee W, Ha J, Kim H, Nam H. Augmentation of the antitumor effects of PARP inhibitors in triple-negative breast cancer via degradation by hydrophobic tagging modulation. *European Journal of Medicinal Chemistry* [Internet]. 2020 [cited 2023 Jun 05]; 204(1): p. 112635. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2020.112635>.

60. Dong Q, Liu M, Chen B, Zhao Z, Chen T, Wang C, et al. Revealing biomarkers associated with PARP inhibitors based on genetic interactions in cancer genome. *Computational and Structural Biotechnology Journal* [Internet]. 2021; 19(1): p. 4435-4446. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.csbj.2021.08.007>.
61. Hu H, Zhao X, Kaushik S, Robillard L, Barthelet A, Lin K, et al. A Quantitative Chemotherapy Genetic Interaction Map Reveals Factors Associated with PARP Inhibitor Resistance. *Cell Reports* [Internet]. 2018 [cited 2023 Jun 05]; 23(3): p. 918-929. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2018.03.093>.
62. Le B, Podszywalow-Bartnicka P, Maifrede S, Sullivan-Reed K, Nieborowska-Skorska M, Golovine K, et al. TGF β R-SMAD3 Signaling Induces Resistance to PARP Inhibitors in the Bone Marrow Microenvironment. *Cell Reports* [Internet]. 2020 [cited 2023 Jun 05]; 33(1): p. 108221. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2020.108221>.
63. Jang K, Do Y, Son D, Son E, Choi J, Kim E. AIF-independent parthanatos in the pathogenesis of dry age-related macular degeneration. *Cell Death & Disease* [Internet]. 2018 [cited 2023 Jun 05]; 8(1): p. e2526-e2526. Available from: <https://www.nature.com/articles/cddis2016437>.
64. Yu C, Kim B, Kim E. FAF1 mediates regulated necrosis through PARP1 activation upon oxidative stress leading to dopaminergic neurodegeneration. *Cell Death & Differentiation* [Internet]. 2016 [cited 2023 Jun 05]; 23(11): p. 1873-1885. Available from: <https://www.nature.com/articles/cdd201699>.
65. Ho J, Jang K, Koo T, Park C, Kim Y, Lee J, et al. Protective effects of PARP1-inhibitory compound in dry age-related macular degeneration. *Biomedicine & Pharmacotherapy* [Internet]. 2021 [cited 2023 Jun 05]; 133(1): p. 111041. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2020.111041>.
66. Ghorai A, Mahaddalkar T, Thorat R, Dutt S. Sustained inhibition of PARP-1 activity delays glioblastoma recurrence by enhancing radiation-induced senescence. *Cancer Letters* [Internet]. 2020 [cited 2023 Jun 06]; 490(1): p. 44-53. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.canlet.2020.06.023>.
67. Huang Y, Wu S, Zhang Y, Wang L, Guo Y. Antitumor effect of triptolide in T-cell

- lymphoblastic lymphoma by inhibiting cell viability, invasion, and epithelial–mesenchymal transition via regulating the PI3K/AKT/mTOR pathway. *OncoTargets and Therapy*. 2018 [cited 2023 Jun 06]; 11(1): p. 769-779. Available from: <https://doi.org/10.2147/OTT.S149788>.
68. Han F, Xue M, Chang Y, Li X, Yang Y, Sun B, et al. Triptolide Suppresses Glomerular Mesangial Cell Proliferation in Diabetic Nephropathy Is Associated with Inhibition of PDK1/Akt/mTOR Pathway. *International Journal of Biological Sciences* [Internet]. 2017 [cited 2023 Jun 06]; 13(10): p. 1266-1275. Available from: <https://www.ijbs.com/v13p1266.htm>.
69. Jiang C, Fang X, Zhang H, Wang X, Li M, Jiang W. AMD3100 combined with triptolide inhibit proliferation, invasion and metastasis and induce apoptosis of human U2OS osteosarcoma cells. *Biomedicine & Pharmacotherapy* [Internet]. 2017 [cited 2023 Jun 04]; 86(1): p. 677-685. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0753332216315591>.
70. Li X, Lu Q, Xie W, Wang Y, Wang G. Anti-tumor effects of triptolide on angiogenesis and cell apoptosis in osteosarcoma cells by inducing autophagy via repressing Wnt/ β -Catenin signaling. *Biochemical and Biophysical Research Communications* [Internet]. 2018 [cited 2023 Jun 04]; 496(2): p. 443-449. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0006291X18300585>.
71. Zhang Z, Sun C, Zhang L, Chi X, Ji J, Gao X, et al. Triptolide interferes with XRCC1/PARP1-mediated DNA repair and confers sensitization of triple-negative breast cancer cells to cisplatin. *Biomedicine & Pharmacotherapy* [Internet]. 2019 [cited 2023 Jun 06]; 109(1): p. 1541-1546. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2018.11.008>.
72. On N, Miller D. Transporter-based delivery of anticancer drugs to the brain: improving brain penetration by minimizing drug efflux at the blood-brain barrier. *Current Pharmaceutical Design* [Internet]. 2014 [cited 2023 Jun 06]; 20(10): p. 1499-1509. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23789953/>.
73. Amin M. P-glycoprotein Inhibition for Optimal Drug Delivery. *Drug Target Insights* [Internet]. 2013 [cited 2023 Jun 06]; 7(1): p. Available from: <https://journals.aboutscience.eu/index.php/dti/article/view/1349>.

74. Mitra A, Biswas R, Bagchi A, Ghosh R. Insight into the binding of a synthetic nitro-flavone derivative with human poly (ADP-ribose) polymerase 1. *International Journal of Biological Macromolecules* [Internet]. 2019 [cited 2023 Jun 06]; 141(1): p. 444-459. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.08.242>.
75. Deng O, Dash S, Nepomuceno T, Fang B, Yun S, Welsh E, et al. Integrated proteomics identifies PARP inhibitor-induced prosurvival signaling changes as potential vulnerabilities in ovarian cancer. *Journal of Biological Chemistry* [Internet]. 2022; 298(11): p. 102550. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.jbc.2022.102550>.
76. Pantelidou C, Sonzogni O, De Oliveria M, Mehta A, Kothari A, Wang D, et al. PARP Inhibitor Efficacy Depends on CD8+ T-cell Recruitment via Intratumoral STING Pathway Activation in BRCA-Deficient Models of Triple-Negative Breast Cancer. *Cancer Discovery* [Internet]. 2019 [cited 2023 Jun 06]; 9(6): p. 722-737. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2022.111462>.
77. Mehta A, Cheney E, Hartl C, Pantelidou C, Oliwa M, Castrillon J, et al. Targeting immunosuppressive macrophages overcomes PARP inhibitor resistance in BRCA1-associated triple-negative breast cancer. *Nature Cancer* [Internet]. 2021 [cited 2023 Jun 06]; 2(1): p. 66-82. Available from: <https://www.nature.com/articles/s43018-020-00148-7>.
78. Wang L, Wang D, Sonzogni O, Ke S, Wang Q, Thavamani A, et al. PARP-inhibition reprograms macrophages toward an anti-tumor phenotype. *Cell Reports* [Internet]. 2022; 41(2): p. 111462. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2022.111462>.
79. Kruglov O, Wu X, Hwang S, Akilov O. The synergistic proapoptotic effect of PARP-1 and HDAC inhibition in cutaneous T-cell lymphoma is mediated via Blimp-1. *Blood Advances* [Internet]. 2020 [cited 2023 Jun 06]; 4(19): p. 4788-4797. Available from: <https://doi.org/10.1182/bloodadvances.2020002049>.