

# Univerzita Karlova

## Přírodovědecká fakulta

Studijní program:

Molekulární biologie a biochemie organismů

Ústav:

Katedra buněčné biologie



Jiří Trč

**Vliv PARP inhibitorů na aktivaci protinádorové imunity a výslednou odpověď  
na imunoterapeutickou léčbu karcinomu vaječníků**

The impact of PARP inhibitors on activation of anti-tumor immunity and successful  
response to immunotherapy in ovarian cancer

Bakalářská práce

Vedoucí práce: **prof. PharmDr. Jitka Palich Fučíková, Ph.D.**

Praha, 2025

**Poděkování:**

Na tomto místě bych chtěl upřímně poděkovat svému vedoucímu bakalářské práce, prof. PharmDr. Jitce Palich Fučíkové, Ph.D., ale také RNDr. Ireně Kůsové Moserové, Ph.D. za jejich trpělivost, vstřícnost a cenné rady, které mi byly velkou oporou během celého procesu psaní.

Velké díky patří také mé rodině – za to, že mě neustále podporovala, povzbuzovala a měla se mnou trpělivost. Děkuji i svým přátelům za jejich povzbuzení, humor a chvilky odreagování, které mi pomohly udržet si nadhled. Všechny, kteří mi jakýmkoli způsobem pomohli, si nesmírně vážím.

**Prohlášení:**

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracoval samostatně a že jsem uvedl všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu. Při psaní této práce byla využita umělá inteligence ChatGPT (model GPT-4 od společnosti OpenAI) výhradně za účelem kontroly gramatiky, stylistických úprav textu a zlepšení jazykové srozumitelnosti. Veškerý odborný obsah, struktura a argumentace práce jsou mým vlastním autorským dílem. AI nebyla použita k tvorbě nových informací ani k nahrazení vlastní analýzy.

V Praze, 8.2. 2025

Podpis: Jiří Trč

# Abstrakt

Zhoubné nádory vaječnicků představují přibližně 15% všech zhoubných nádorů u žen. Přibližně 70–90 % nádorů vzniká ze zárodečného epitelu povrchu vaječnicků, nazýváme je epiteliální nebo epitelové nádory. V posledním desetiletí došlo k výrazným pokrokům v genomovém mapování nádorových buněk a ve znalostech molekulárních mechanismů v jejich patogenezi. Ve farmakoterapii ovariálního karcinomu se začíná kromě cytostatik uplatňovat cílená molekulární léčba. Široce zkoumanou a slibnou možností cílené léčby jsou inhibitory PARP (poly-adenozindifosfát-ribózo-polymerázy). PARPi vedle vlastního cytotoxického účinku mají významný vliv na charakter imunitního infiltrátu uvnitř nádoru. Cílem bakalářské práce bude shrnout současné poznatky, které se zabývají vlivem PARPi na aktivaci protinádorové imunitní odpovědi pacientek s karcinomem vaječnicků a jejich případný přínos pro odpověď na imunoterapeutickou léčbu tohoto onemocnění.

## **Klíčová slova:**

PARPi, karcinom vaječnicků, imunoterapie, nádorové mikroprostředí, protinádorová imunita

# Abstract

Ovarian cancer accounts for approximately 15% of all cancers in women. Approximately 70-90% of tumors arise from the germinal epithelium of the ovarian surface, called epithelial or epithelial tumors. In the last decade, there have been significant advances in genomic mapping of cancer cells and in knowledge of the molecular mechanisms in their pathogenesis. Targeted molecular therapies in addition to cytostatics are beginning to be used in the pharmacotherapy of ovarian cancer. PARP (poly-adenosine diphosphate-ribose polymerase) inhibitors are a widely researched and promising targeted therapy option. In addition to their own cytotoxic effect, PARPs have a significant impact on the nature of the immune infiltrate within the tumor. The aim of this bachelor thesis will be to summarize the current knowledge regarding the influence of PARPi on the activation of the anti-tumor immune response in patients with ovarian cancer and their potential contribution to the response to immunotherapeutic treatment of this disease.

## Keywords:

PARPi, ovarian cancer, immunotherapy, tumor microenvironment, anti-tumor immunity

# Seznam použitých zkratek

<b>53BP1</b>	p53 vazebný protein 1
<b>ABC</b>	ATP vazebné kazety
<b>Acinus</b>	induktor apoptické kondenzace v jádře
<b>ADP</b>	adenosindifosfát
<b>AIF</b>	apoptózu indukující faktor
<b>AMP</b>	adenosinmonofosfát
<b>APCs</b>	antigen prezentující buňky
<b>ARG1</b>	argináza 1
<b>ART</b>	ADP-ribozyl transferáza
<b>ATP</b>	adenozintrifosfát
<b>BER</b>	oprava vyjmutím báze
<b><i>BRCA</i></b>	nádorové onemocnění prsou
<b>BRCT</b>	C-koncová část <i>BRCA</i>
<b>cGAS</b>	cyklická GMP-AMP syntáza
<b>cGAMP</b>	cyklický guanosinmonofosfát-adenosinmonofosfát
<b>CTLA-4</b>	cytotoxický T-lymfocyt antigen 4
<b>CTLs</b>	Cytotoxické T-lymfocyty
<b>DNA</b>	deoxyribonukleová kyselina
<b>DSBs</b>	dvouřetězcové zlomy
<b>FOXP3</b>	forkheadový protein P3
<b>GMP</b>	guanosinmonofosfát
<b>HDAC1</b>	histon deacetyláza 1
<b>HIF</b>	hypoxií indukovaný faktor

<b>HLA 1</b>	lidské leukocytární antigeny
<b>HRR</b>	homologní rekombinantní oprava
<b>ICIs</b>	imunitní inhibitory kontrolních bodů
<b>IFN-<math>\gamma</math></b>	interferon gama
<b>IL-2</b>	interleukinu-2
<b>IL-10</b>	interleukin-10
<b>IRF3</b>	interferon regulující faktor 3
<b>MDR1</b>	protein rezistentní vůči různým lékům
<b>MDSCs</b>	myeloidní supresorové buňky
<b>MHC</b>	hlavní histokompatibilní komplex
<b>MICA</b>	polypeptidový řetězec příbuzný MHC třídě I, sekvence A
<b>MRE11</b>	meiotická rekombináza
<b>MTA1</b>	protein asociovaný s metastázemi 1
<b>NAD</b>	nikotinamidadenindinukleotid
<b>NF-<math>\kappa</math>B</b>	nukleární faktor $\kappa$ B
<b>NHEJ</b>	nehomologní spojování konců
<b>NK</b>	přirozený zabíječ
<b>NKG2D</b>	přirozený zabíječ skupiny 2D
<b>NLS</b>	jaderný lokalizační signál
<b>OS</b>	celkové přežití
<b>PARG</b>	poly (ADP-ribóza) glykohydroláza
<b>PARP</b>	poly-adenozindifosfát-ribózo-polymerázy
<b>PARPi</b>	inhibitory poly-adenozindifosfát-ribózo-polymerázy
<b>PD-1</b>	programovaná buněčná smrt 1

<b>PD-L1</b>	ligand programované buněčné smrti 1
<b>PFS</b>	přežití bez progresu onemocnění
<b>PGE2</b>	prostaglandin E2
<b>PIAS</b>	protein inhibující aktivovaný STAT
<b>RAD51</b>	protein citlivý na radiaci
<b>RPA</b>	replikační protein A
<b>SAF-A</b>	faktor k připojení na jaderné lešení A
<b>SAP</b>	SAF-A, Acinus a PIAS
<b>SSBs</b>	jednořetězcové zlomy
<b>STING</b>	stimulátor interferonových genů
<b>TAMs</b>	makrofágy asociované s nádorem
<b>TARG1</b>	terminální ADP-ribóza glykohydroláza 1
<b>TBK1</b>	TANK-vazebná kináza 1
<b>TGF-<math>\beta</math></b>	transformující růstový faktor beta
<b>TILs</b>	lymfocytů infiltrující nádor
<b>TIM-3</b>	T-buněčný imunoglobulinový receptor a mucin-doménový protein 3
<b>TME</b>	nádorové mikroprostředí
<b>TNF-<math>\alpha</math></b>	nádor nekrotizující faktor alpha
<b>Tregs</b>	regulační T-lymfocyty
<b>VEGF</b>	vaskulární endoteliální růstový faktor
<b>XRCC1</b>	opravný protein pro křížovou komplementaci poškození rentgenovým zářením

# Obsah

1. Úvod.....	1
2. PARP.....	2
2.1. Obecný přehled a struktura PARP proteinů.....	2
2.2. Aktivita PARP enzymů.....	4
2.2.1. Role PARP proteinů v opravě DNA.....	4
2.2.2. Role PARP proteinů v transkripci.....	6
2.2.3. Role PARP proteinů v kontrole mitózy.....	6
2.2.4. Role PARP proteinů v buněčné smrti.....	6
3. PARP inhibitory.....	8
3.1. Hromadění SSBs a kolaps replikační vidlice.....	8
3.2. Blokace replikační vidlice.....	9
4. Protinádorová imunitní odpověď.....	11
4.1. Nádorové mikroprostředí a jeho nejdůležitější složky.....	11
4.1.1. Imunokompetentní složky protinádorové imunity.....	11
4.1.2. Imunosupresivní složky.....	12
4.2. Imunomodulační efekt PARPi na TME.....	13
4.2.1. cGAS/STING signální dráha.....	13
4.2.2. Vliv PARPi na populaci makrofágů.....	14
4.2.3. Vliv PARPi na populaci regulačních T-lymfocytů.....	14
4.2.4. Vliv PARPi na funkci NK buněk.....	15
5. Výsledky studií léčby karcinomu ovarií.....	17
5.1. SOLO1.....	17
5.2. SOLO2.....	18
5.3. PAOLA1.....	19
5.4. PRIMA.....	20
5.5. ATHENA COMBO.....	21
6. Rezistence vůči PARP inhibitorům.....	23

7.	Kombinované terapeutické přístupy.....	24
7.1.	Kombinace s imunoterapií .....	24
8.	Závěr.....	26
9.	Reference.....	28

# 1. Úvod

Nádorová zhoubná onemocnění se vyznačují nekontrolovatelným růstem buněk se schopností prorůstat a šířit se do ostatních tkání těla. Prevalence zhoubných nádorů se globálně každoročně zvyšuje, což podněcuje vývoj nových specifických terapeutických přístupů. Díky pokrokům v molekulární biologii se vedle klasické onkologické léčby, kterou představuje chirurgie, chemoterapie a radioterapie, dostává do popředí cílená molekulární léčba některých nádorových onemocnění. V terapii karcinomu vaječníků hrají zásadní roli, vedle úspěšné chirurgické léčby a chemoterapie, také cílená terapie pomocí inhibitorů poly-adenozindifosfát-ribózo-polymerázy (PARP).

Rodina PARP proteinů je nezbytnou součástí správného fungování nejen zdravých buněk lidského organismu, ale i buněk nádorových. Jejich hlavní aktivita spočívá ve schopnosti vyhledat zlomy v uspořádaném řetězci deoxyribonukleové kyseliny (DNA, z angl. deoxyribonucleic acid) a v následné rozvolnění struktury chromatinu, což umožní přístup ostatním proteinům, které jsou schopné toto poškození opravit. PARP se tedy podílí na opravě DNA. Kromě toho se účastní i dalších významných buněčných procesů, jako jsou transkripce, replikace, rekombinace a další (shrnuto v Morales *et al.*, 2014).

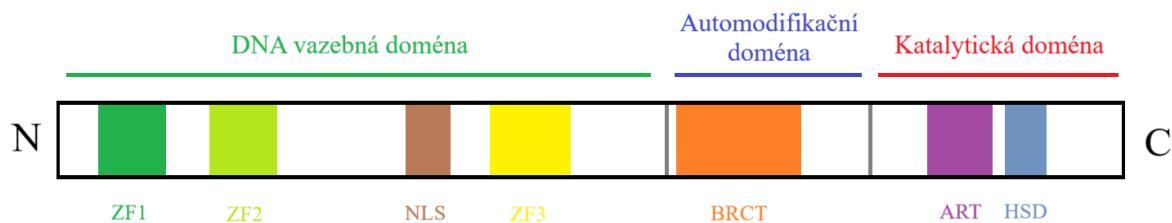
Současný terapeutický benefit inhibitoru poly-adenozindifosfát-ribózo-polymerázy (PARPi) limituje získaná rezistence na tuto terapii, která nejčastěji souvisí s reverzní mutací, která vede k obnově mechanismu opravy DNA (Shroff *et al.*, 2018). Nicméně výzkum v této oblasti je klíčový pro zvýšení terapeutického potenciálu této léčby. Vedle cytotoxických a cytostatických účinků, PARPi vykazují významné imunomodulační účinky. Z tohoto důvodu je předmětem intenzivního klinického hodnocení také kombinace PARPi s imunoterapií.

## 2. PARP

### 2.1. Obecný přehled a struktura PARP proteinů

PARP proteiny tvoří skupinu enzymů, které katalyzují přeměnu nikotinamidadeninukleotidu ( $\text{NAD}^+$ ) na adenosindifosfát-ribózu (ADP-ribózu) (Chambon, *et al.*, 1963). Tuto molekulu následně navazují buď glykosidickou vazbou na již existující řetězec ADP-ribózy, čímž dochází k jeho prodloužení (Nishizuka *et al.*, 1967), nebo esterovou vazbou na cílový protein (Burzio, *et al.*, 1979). Mezi PARP enzymy řadíme všechny proteiny, které mají určitou podobnost konzervované katalytické domény s PARP1. Experimentální studie tvrdí, že do této skupiny patří 18 různých členů (shrnuto v Amé, *et al.*, 2004).

První objevená polymeráza byl protein PARP1 (Chambon, *et al.*, 1963), který má 3 hlavní specifické domény. Jednou z nich je N-terminální DNA vazebná doména, která obsahuje repetici zinc finger domén, tento pár proteinů je schopen vyhledat zlomové poškození DNA a navázat se na něj. Jedná se o zinc finger 1 a zinc finger 2, toto navázání vytvoří blízký kontakt mezi cílovým substrátem (např. histonem) a to následně zprostředkuje katalytickou funkci polymerázy (Ali *et al.*, 2012). Další součástí N-terminální domény je aminokyselinová sekvence jaderného lokalizačního signálu (NLS, z angl. nuclear localization signal), který je nezbytný pro transport PARP1 do buněčného jádra (Schreiber *et al.*, 1992). Zinc finger 3, který je také součástí této domény, se účastní katalytické aktivity (Langelier *et al.*, 2008). Druhá doména je tzv. auto-modifikační, skládá se z aminokyselin, které na sebe vážou ADP-ribózu (Altmeyer *et al.*, 2009). Tato doména také obsahuje C-koncovou část *BRCA* subdomény (BRCT, z angl. breast C-terminus), která zprostředkovává interakce mezi proteiny (Loeffler *et al.*, 2011). Poslední je C-terminální katalytická doména, která obsahuje ADP-ribozyl transferázovou subdomény (ART subdomény). Za pomoci katalytického centra ART subdomény obsahující konzervovanou katalytickou triádu histidinu, tryptofanu a kyseliny glutamové dochází k interakci s  $\text{NAD}^+$ . Následně dochází k transformaci  $\text{NAD}^+$  na ADP-ribózu a připojení na substrát (Ruf *et al.*, 1996). Důležitou úlohu má helikální subdomény, která je také součástí C-terminální katalytické domény. Její funkce spočívá v blokaci katalytického centra, pokud PARP není navázána na DNA. Tuto aktivitu lze nazvat auto-inhibiční (Dawicki-McKenna *et al.*, 2015). Struktura proteinu PARP1 a její jednotlivé domény jsou znázorněny v Obrázku 1.



**Obrázek 1:** Domény PARP1

Ilustrační schéma PARP1. Obrázek byl vytvořen v programu Malování. ART – ADP-ribozyl transferáza, BRCT – C-terminální část proteinu spojeného s predispozicí k rakovině prsu, HSD – helikální subdoména, NLS – jaderný lokalizační signál, ZF – zinc finger.

Méně prozkoumanou molekulou je PARP2, která má obdobnou katalytickou doménu (přibližně 60% podobnost) jako PARP1 (Amé *et al.*, 1999). PARP2 byla objevena v myších buňkách s deficientními PARP1 (Shieh *et al.*, 1998). PARP2 se liší zejména svojí N-terminální doménou a celkově jedná o strukturně menší protein (Amé *et al.*, 1999). Ze současných poznatků vyplývá, že PARP2 obsahuje na N-konci tzv. SAP motiv pojmenovaný podle proteinů faktor k připojení na jaderné lešení A (SAF-A, z angl. scaffold attachment factor A), induktor apoptické kondenzace v jádře (Acinus, z angl. apoptotic chromatin condensation inducer in the nucleus) a protein inhibující aktivovaný přenašeč signálu a aktivátory transkripce (PIAS, z angl. protein inhibitor of activated signal transducer and activator of transcription). SAP motiv se váže na AT bohatá místa na DNA, což by dokazovalo její DNA vazebnou aktivitu (Aravind and Koonin, 2000).

PARP3 je nejmenší protein celé rodiny s nejmenší N-terminální doménou. Stejně jako PARP1 a PARP2 obsahuje katalytickou doménu a je také schopna tvořit ADP-ribózové polymery. Je důležitou složkou kontroly mitózy a je součástí centrozomu, navíc se následně vyskytuje v centriole dceřiné buňky (Augustin *et al.*, 2003). Existují ale i novější studie, které naznačují jeho vlastnosti v potlačení transkripce a v odpovědi na poškození DNA (Rouleau *et al.*, 2007).

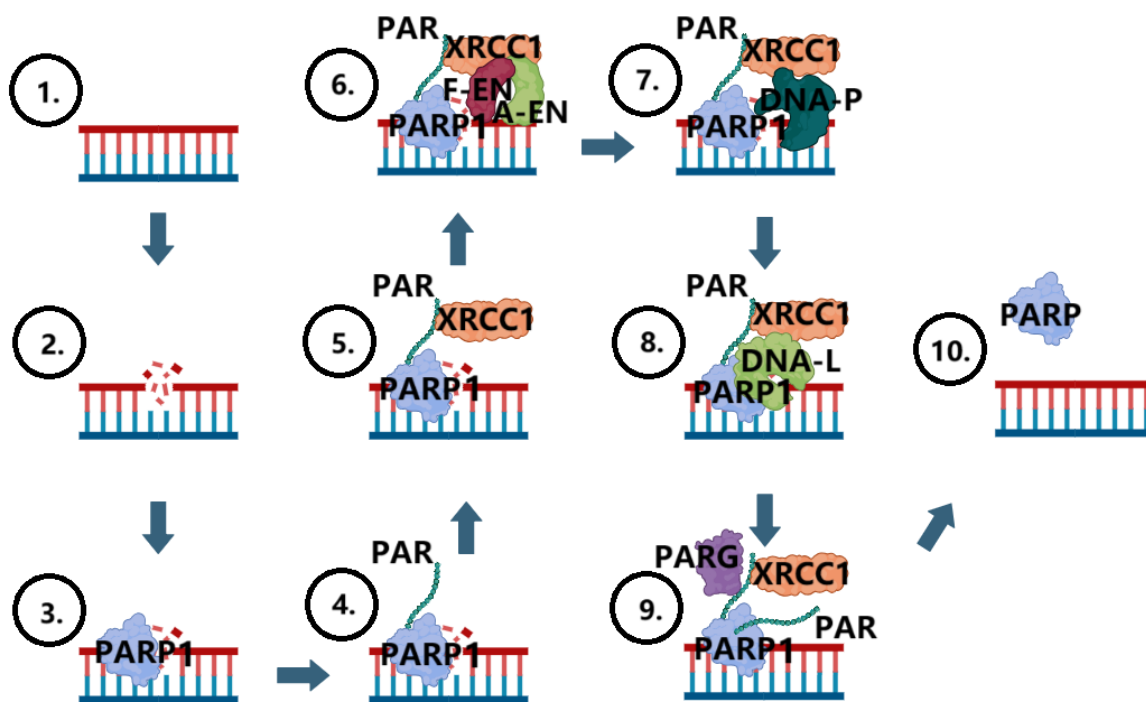
Poly (ADP-ribóza) glykohydroláza (PARG) je enzym, který hydrolyzuje vazbu mezi jednotlivými ribózami v polymeru a tím je schopen tento polymer degradovat na monomery ADP-ribózy. (Miwa and Sugimura, 1971; Miwa *et al.*, 1974). PARG není schopna poslední monomer hydrolyzovat, jelikož je připojený na proteinový substrát esterovou vazbou (Slade *et al.*, 2011). Tuto schopnost vykazuje protein terminální ADP-ribóza glykohydroláza 1 (TARG1) (Sharifi *et al.*, 2013).

## 2.2. Aktivita PARP enzymů

### 2.2.1. Role PARP proteinů v opravě DNA

Jednořetězcové zlomy (SSBs, z angl. single-strand breaks) mohou vznikat několika způsoby. Jedním z nich je nepřímé poškození DNA během procesu nazývaném oprava vyjmutím poškozené báze (BER, z angl. base excision repair), při kterém vzniká zlom nutný pro dokončení této opravy (Lindahl, 1974). Další nepřímý zlom vzniká působením komplexu topoizomerázy I, který je nezbytný pro rozvolňování dvoušroubovice DNA (Zhang *et al.*, 2011). Přímé poškození DNA může být způsobeno např. reaktivními formami kyslíku, které vznikají v dýchacím řetězci. Pokud buňka SSBs neopraví, dochází k blokaci replikace a transkripce, která vede k buněčné nestabilitě a následně k buněčné smrti.

Jednou z prvních odpovědí na poškození DNA je remodelace chromatinu. Tvorba ADP-ribózového polymeru na povrchu histonů H1 způsobí rozvolnění vlákna, což umožní přístup dalším proteinům (Poirier *et al.*, 1982). Klíčovým proteinem podílejícím se na opravě SSBs je opravný protein pro křížovou komplementaci poškození rentgenovým zářením (XRCC1, z angl. X-ray repair cross-complementing protein 1). Tento protein slouží jako lešení pro ostatní opravné proteiny (El-Khamisy, 2003). PARP1 katalyzuje syntézu poly(ADP-ribózy) v místě zlomu (Ruf *et al.*, 1996). Na vzniklý polymer se následně váže XRCC1 (El-Khamisy, 2003). PARP1 i XRCC1 se dále asociují s flap endonukleázou-1 a apurinní/apyrimidinovou endonukleázou, které odstraní špatně zařazené nukleotidy, a DNA polymerázou- $\beta$ , která dosyntetizuje chybějící nukleotidy (Lavrik *et al.*, 2001). DNA ligáza III katalyzuje vznik fosfodiesterové vazby v místě poškození DNA, aktivně se váže na protein XRCC1, poly(ADP-ribózu) a BRCT doménu PARP1 (Leppard *et al.*, 2003). Během opravy DNA dochází k tvorbě polymeru ADP-ribózy na samotném PARP proteinu. Díky silně negativně nabitému řetězci dochází k disociaci této polymerázy od DNA a opravě poškozené oblasti pomocí specifických proteinů (Sato and Lindahl, 1992). Následně PARG degraduje vytvořený polymer na molekuly ADP-ribózy, vrací chromatin do své původní nerozvolněné podoby (Obrázek 2) (Miwa and Sugimura, 1971; Miwa *et al.*, 1974).



**Obrázek 2:** Schématické znázornění molekulárních mechanismů vedoucí k opravě DNA

Schéma znázorňující opravu SSB. 1.) Řetězec DNA, 2.) Vznik SSB, 3.) PARP1 vyhledá SSB a pomocí své DNA vazebné domény se naváže na zlom, 4.) PARP1 vytvoří polymer ADP-ribózy na histonu 1, negativní náboj polymeru rozvolní řetězec DNA a tím umožní navázání ostatních opravných proteinů, 5.) Protein XRCC1 se váže na polymer, 6.) XRCC1 slouží jako lešení ostatním proteinům, prvně se váže flap endonukleáza-1 a apurinní/apyrimidinová endonukleáza, které dopraví řetězec odstraněním několika nukleotidů, 7.) DNA polymeráza-β se posléze naváže na XRCC1 a doplní chybějící nukleotidy, 8.) DNA ligáza III se váže na opravný komplex a doplní poslední fosfodiesterovou vazbu, 9.) Po opravě porušení PARG odstraní polymer na původním místě zlomu, což způsobí kondenzaci chromatinu. Zároveň PARP1 začne tvořit polymer na sobě samém, což způsobí jeho disociaci od DNA, 10.) Zpravený zlom a disociovaný PARP. Obrázek byl vytvořen na stránce BioRender.com a upraven v programu Malování. A-EN – apurinní/apyrimidinová endonukleáza, DNA-L – DNA ligáza III, DNA-P – DNA polymeráza-β, F-EN – flap endonukleáza-1, PAR – poly-adenozindifosfát-ribóza, PARG – poly (ADP-ribóza) glykohydroláza, PARP – poly-adenozindifosfát-ribózo-polymerázy, XRCC1 – opravný protein pro křížovou komplementaci poškození rentgenovým zářením.

U dvouřetězcových zlomů (DSBs, z angl. double-strand breaks) funguje mechanismus opravy na podobném principu. PARP1 vyhledá zlom ve struktuře DNA, syntetizuje polymer ADP-ribózy a na něj se naváže protein meiotická rekombináza 11 (MRE11). Ten následně ve spolupráci s dalšími opravnými proteiny vytvoří opravný komplex, který odstraní DNA zlom (Haince *et al.*, 2008). Nepostradatelnou funkcí PARP1 při opravě DSBs je inhibice nehomologního spojování konců (NHEJ, z angl. non-homologous end joining), který je méně přesným mechanismem opravy ve srovnání s ostatními opravnými mechanismy. Inhibiční aktivita PARP1 zabraňuje v místě zlomu navázání Ku proteinů, které iniciují opravu a interagují s proteiny NHEJ (Patel, Sarkaria and Kaufmann, 2011).

### **2.2.2. Role PARP proteinů v transkripci**

PARP1 se podílí na transkripci a působí jako transkripční faktor. Váže se na promotorovou oblast genu a inhibuje tím vazbu histonu H1. Navázáním PARP1 dochází k rozvolnění chromatinu podobně jako při opravě zlomů DNA, což následně umožňuje vazbu RNA polymerázy (Krishnakumar *et al.*, 2008). Dalším příkladem ovlivnění transkripce je tvorba polymeru ADP-ribózy na tumor supresorovým proteinu p53. Tato modifikace vede k asociaci s histon deacetylázami 1 (HDAC1) a HDAC2. Výsledný komplex blokuje transkripci transkripčního faktoru, který se nazývá protein asociovaný s metastázemi (MTA1, z angl. metastasis-associated protein 1), který pozitivně reguluje expresi genů spojených se zhoubnými nádory a agresivním fenotypem (Lee *et al.*, 2012). Z imunologického hlediska je významným důsledkem působení PARP1 na transkripci její schopnost ovlivňovat expresi a aktivitu transkripčního nukleárního faktoru  $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B) a této signalizační dráhy (Hassa and Hottiger, 1999).

### **2.2.3. Role PARP proteinů v kontrole mitózy**

PARP proteiny jsou klíčovou složkou kontroly správného průběhu mitózy, procesu, při němž dochází k oddělování sesterských chromatid (Holtlund *et al.*, 1980). PARP1 hraje zásadní roli ve správném fungování centrozomu a jeho amplifikaci. V buňkách deficientních na PARP1 nebo po podání inhibitoru PARP1 byla pozorována hyperamplifikace centrozomů vedoucí k aneuploidii (Kanai *et al.*, 2003). Další funkcí PARP1 je regulace mitotických a post-mitotických kontrolních bodů buněčného cyklu. Z výsledků experimentálního pozorování vyplývá, že zatímco u buněk s funkčním PARP1 proteinem dochází k apoptóze nebo se buněčné dělení zastaví v procesu mitóza, PARP1 deficientní populace se rozdělila na aneuploidní buňky (Halappanavar and Shah, 2004).

### **2.2.4. Role PARP proteinů v buněčné smrti**

Apoptózu indukující faktor (AIF, z angl. apoptosis-inducing factor) je flavoprotein nacházející se za normálních podmínek v mezimembránovém prostoru mitochondrií. Pokud je buňka vystavena velkému množství stresových signálů, dochází k uvolnění AIF z mitochondrií. Následně se tento protein přesouvá do jádra, kde způsobuje fragmentaci DNA, což vede k apoptotické buněčné smrti (Susin *et al.*, 1999). AIF spouští na kaspázových nezávislou dráhu buněčné smrti (Joza *et al.*, 2001). Z experimentálních pozorování vyplývá, že po indukci stresových podmínek u buněk deficientních na PARP1 nedochází k translokaci AIF do jádra, a tedy k blokaci následné apoptózy (Yu *et al.*, 2002). Dále bylo prokázáno, že aktivačním faktorem v tomto procesu není samotný PARP1 protein, ale polymer ADP-ribózy, který je produktem jeho enzymatické aktivity. Při nadměrné expresi PARP1, například v důsledku rozsáhlého poškození DNA, dochází k tvorbě dlouhých polymerních řetězců ADP-ribózy, které jsou uvolňovány do cytoplazmy. Odtud jsou pravděpodobně transportovány k mitochondriím, kde se na ně vážou, což zřejmě způsobuje únik AIF z mezimembránového prostoru.

Přesný mechanismus tohoto procesu však dosud není znám (Yu *et al.*, 2006). Tyto poznatky potvrzují klíčovou roli PARP1 v apoptotické buněčné smrti.

Za zmínku stojí také fakt, že aktivita PARP proteinů spotřebovává značné množství  $\text{NAD}^+$ , což vede ke snížení koncentrace adenosin trifosfátu (ATP). Pokud buňka čelí rozsáhlému poškození DNA a musí projít četnými opravnými procesy, zásoby ATP mohou klesnout na kritickou úroveň, což končí nekrotickou buněčnou smrtí (Ha and Snyder, 1999).

### 3. PARP inhibitory

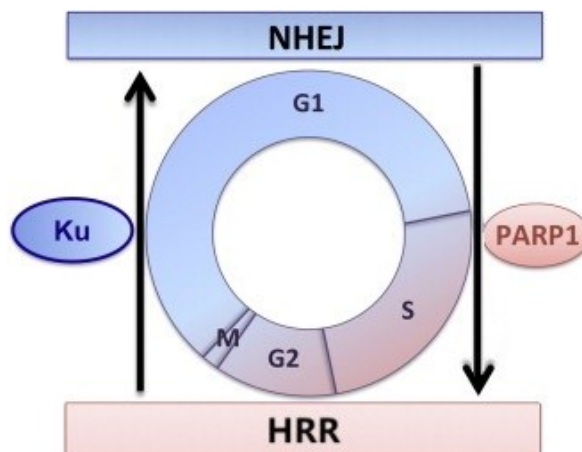
Chemoterapie je typ léčby zhoubných nádorových onemocnění, který se zaměřuje na rychle se dělící buňky. V důsledku tohoto nespecifického mechanismu dochází často k poškozování zdravých buněk, což vede k řadě nežádoucích vedlejších účinků, které souvisí s tímto typem terapie. Současný výzkum se proto zaměřuje na vývoj cílené terapie, která by působila výhradně na nádorové buňky. Jednou z perspektivních možností léčby některých nádorových onemocnění jsou inhibitory enzymů PARP.

Inhibitory PARP fungují na principu substrátové kompetitivní inhibice – molekula inhibitoru se váže do katalytického místa PARP a znemožní navázání  $\text{NAD}^+$ , čímž brání tvorbě ADP-ribózy (Preiss *et al.*, 1971). Jednotlivé inhibitory mohou blokovat více PARP proteinů, nejčastěji se jedná o PARP1 a PARP2. Základním mechanismem cytotoxického účinku PARPi je nahromadění SSBs, což vede ke kolapsu replikační vidlice a následné tvorbě DSBs, nebo k zablokování replikační vidlice (Murai *et al.*, 2012). Mohlo by se zdát, že inhibice PARP povede spíše k akumulaci SSBs a postupné buněčné smrti, avšak experimentální důkazy naznačují mechanismus účinku zablokování replikační vidlice jako stěžejní (Gottipati *et al.*, 2010).

#### 3.1. Hromadění SSBs a kolaps replikační vidlice

Když replikační vidlice narazí na SSBs, dochází ke kolapsu vidlice a jejímu vypadnutí z DNA a vzniku DSBs (Pavani *et al.*, 2024). Nejefektivnějším způsobem opravy je homologní rekombinantní oprava (HRR, z angl. homologous recombination repair). Klíčovou roli v opravě těchto molekulárních mechanismů hrají geny rodiny nádorového onemocnění prsou (*BRCA*, z angl. breast cancer), které hrají klíčovou roli v této opravě – asociují s proteinem citlivým na radiaci (RAD51, z angl. radiation sensitive protein 51), který nahrazuje replikační protein A (RPA) na jednovláknovém řetězci. Vlákno vnikne do sesterské chromatidy, kde dochází k hybridizaci s homologní sekvencí a následné opravě. (Jensen, Carreira and Kowalczykowski, 2010). Právě proto je mutace v genech *BRCA1/BRCA2* významným biomarkerem při léčbě pomocí PARPi. Vzhledem k tomu, že oprava prostřednictvím HRR vyžaduje sesterskou chromatidu, tento mechanismus probíhá výhradně v S a G2 fázi buněčného cyklu. Některé studie však ukazují, že v G2 fázi dochází k HRR jen velmi omezeně (Mao *et al.*, 2008).

Alternativním mechanismem opravy je NHEJ, které buňka využívá v případě deficitu HRR. Oproti HRR je NHEJ dominantní zejména v G1 fázi, ale může probíhat i v S a G2 fázi, čímž může do určité míry nahradit HRR (Mao *et al.*, 2008). Protože NHEJ nevyužívá sesterskou chromatidu jako templát, je tento proces méně přesný a vede k vyšší chybovosti (Patel, Sarkaria and Kaufmann, 2011). Jednotlivé fáze buněčného cyklu a opravy jsou viz Obrázek 3.



**Obrázek 3:** Fáze buněčného cyklu a opravy DSBs

NHEJ funguje během celé interfáze, HRR funguje pouze v přítomnosti sesterské chromatidy, tudíž k opravě může dojít pouze od vzniku sesterské chromatidy až po mitózu. Se zvyšující expresí PARP1 dochází k inhibici vázání Ku proteinů na zlomy, čímž dochází k upřednostnění HRR opravy. Obrázek byl pořízen z review (Frit *et al.*, 2014) a byl upraven v programu Malování. G – růstová fáze, HRR – homologní rekombinantní oprava, M – mitóza, NHEJ – nehomologní spojování konců, PARP1 – poly-adenozindifosfát-ribózo-polymeráza 1, S – fáze syntézy.

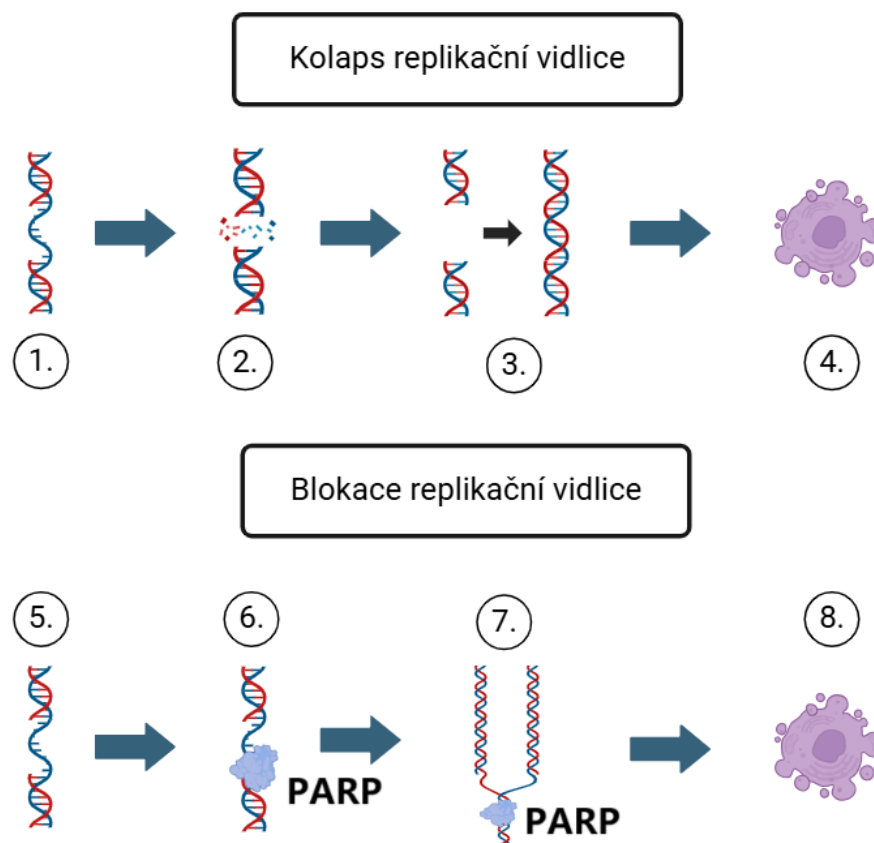
„Syntetická letalita“ je genová interakce, která popisuje stav buňky, kdy současný deficit dvou či více faktorů vede k její smrti. Cílem léčby PARPi je využití tohoto principu v nádorových buňkách s nefunkční HRR. PARPi podporují vznik DSBs, a pokud je HRR nefunkční, buňka musí opravit zlomy pomocí méně přesného mechanismu NHEJ. To vede k nadměrné akumulaci mutací, genomové nestabilitě a nakonec buněčné smrti (Bryant *et al.*, 2005). Dalším důkazem zvýšené aktivity NHEJ po podání PARPi je inhibiční vlastnost polymeru ADP-ribózy, který běžně blokuje navázání Ku proteinů. Pokud nedochází k tvorbě tohoto polymeru, Ku proteiny, které iniciují NHEJ opravu, se mohou vázat na DSBs a podporovat opravu mechanismem NHEJ. Dále bylo prokázáno, že podání PARPi vede k fosforylaci substrátů DNA-dependentní protein kinázy, která se také podílí na NHEJ, což dále posiluje tento opravný mechanismus (Patel, Sarkaria and Kaufmann, 2011)..

### 3.2. Blokace replikační vidlice

Novější studie ukazují, že klíčovým mechanismem při léčbě PARPi je blokace replikační vidlice komplexem PARP1/DNA nebo PARP2/DNA. K tomu dochází, když se PARP naváže například na intermediát BER, avšak následná inhibice katalytického místa zabrání syntéze polymeru ADP-ribózy. To znemožní disociaci PARP od vlákna, zůstává trvale vázána na DNA a brání tím replikačnímu a reparačnímu procesu. Jakmile replikační vidlice narazí na tento stabilizovaný PARP/DNA komplex, zastaví se, tím se aktivuje signální kaskáda S-fázových kontrolních bodů, vedoucí k apoptóze (Kedar *et al.*, 2012). Dále bylo prokázáno, že PARPi alostericky modifikují polymerázu tak, že se pevněji váže na DNA, což dále posiluje stabilitu PARP/DNA komplexu (Murai *et al.*, 2012).

Mezi důkazy podporující blokaci replikační vidlice patří například experimenty s malou interferující ribonukleovou kyselinou, jejichž cílem bylo zamezit syntéze PARP proteinů. Tyto pokusy ukázaly, že zamezení exprese PARP je mnohem méně účinné než jeho farmakologická inhibice. (Bryant *et al.*, 2005). Dále bylo zjištěno, že po podání inhibitoru nedochází k akumulaci SSBs, to je v rozporu s původní hypotézou, že právě tato akumulace je hlavním mechanismem účinku PARPi (Gottipati *et al.*, 2010). Buňky s funkčním PARP1 vykazují mnohem vyšší citlivost na PARPi než buňky bez funkčního PARP1, což naznačuje, že přítomnost PARP je pro účinnost léčby klíčová (Kedar *et al.*, 2012).

Z těchto poznatků vyplývá, že inhibitory PARP působí dvěma hlavními mechanismy. Na jedné straně blokuji opravu SSBs vedoucí k hromadění DSBs vedoucí k následné buněčné smrti. Zároveň stabilizují komplex PARP/DNA, což brání replikaci a spouští apoptózu. Tento kombinovaný účinek významně přispívá k cytotoxicitě PARPi a jejich efektivitě v léčbě nádorových onemocnění. Jednotlivé efekty jsou prezentovány v Obrázku 4.



**Obrázek 4:** Molekulární mechanismus působení PARPi

Schéma znázorňuje dva možné účinky PARPi v nádorové buňce. 1.) Nahromadění SSBs, 2.) Vznik DSB po destabilizaci replikačního aparátu, 3.) Buňka deficientní v HRR využívá NHEJ, což vede k akumulaci chyb, 4.) Buňka podléhá buněčné smrti v důsledku genomové nestability, 5.) Vznik SSB, 6.) PARP se váže na zlom, avšak bez polymerizace PAR nemůže dojít k jeho disociaci, 7.) Replikační vidlice se zastaví v důsledku blokace PARP, což aktivuje signální kaskádu S-fázových kontrolních bodů, 8.) Apoptóza buňky. Obrázek byl vytvořený na stránce BioRender.com a upraven v programu Malování. PARP – poly-adenozindifosfát-ribózo-polymeráza.

## 4. Protinádorová imunitní odpověď

Vztah imunitního systému a nádorových buněk v progresi nádorového onemocnění popisuje teorie protinádorového imunitního dohledu (z angl. Cancer Immunoediting theory). Tato teorie popisuje interakce mezi nádory a imunitním systémem ve třech fázích. První fází je tzv. eliminace, kdy imunitní systém rozpozná a ničí nádorové buňky dříve, než se stihnou klinicky projevit. V této fázi se uplatňuje jak vrozená, tak i adaptivní imunita. Druhou fází je tzv. rovnováha, buňky imunitního systému vyvíjí selektivní tlak na nádorové buňky. Nádorové buňky, zejména díky zvýšené genetické nestabilitě, tak vytvářejí maligní klony, které jsou schopné unikat kontrole imunitního systému a nekontrolovatelně se množit. Poslední fází je tzv. únik, nádorové buňky se adaptují na tlak imunitního systému a unikají jeho kontrole (shrnutí v Dunn, Old and Schreiber, 2004).

### 4.1. Nádorové mikroprostředí a jeho nejdůležitější složky

Nádorové mikroprostředí (TME, z angl. tumor microenvironment) představuje komplexní a heterogenní strukturu, která se skládá nejen z nádorových buněk, nádorového stromatu, extracelulární matrix a cév, ale také z jednotlivých komponent imunity. Rozvoj a progresy nádorového onemocnění tak do značné míry ovlivňuje nejen charakter nádorových buněk, ale také míra aktivace protinádorové imunity.

#### 4.1.1. Imunokompetentní složky protinádorové imunity

Výsledné složení TME ovlivňuje zastoupení imunokompetentních buněk, které mohou potlačovat růst a rozvoj nádoru. Jejich vliv vede k tvorbě prozánětlivého prostředí a k vyvolání protinádorové imunitní odpovědi. Mezi tyto buňky patří zejména  $CD8^+$  T-lymfocyty,  $CD4^+$  T-lymfocyty, které polarizují k Th1 odpovědi, B-lymfocyty a NK lymfocyty (NK buňky, z angl. natural killer cells).

Cytotoxické  $CD8^+$  T-lymfocyty (CTLs, z angl. cytotoxic T lymphocytes) jsou specifické produkcí cytotoxických molekul perforinu a granzymu, které mají vlastní cytotoxický efekt na nádorové buňky. Současně CTLs expresí Fas ligandu, který po asociaci s Fas receptorem na cílových buňkách, indukuje apoptózu cílových buněk. Pomocné  $CD4^+$  T-lymfocyty, které polarizují k Th1 odpovědi, se liší od cytotoxických T-lymfocytů zejména zvýšenou produkcí protinádorových cytokinů jako např. interferonu gama ( $IFN-\gamma$ ). Infiltrace nádoru T-lymfocyty vykazuje lepší prognózu a je spojena s vyšším přežitím bez progresu onemocnění (PFS, z angl. progression-free survival) a celkovým přežitím (OS, z angl. overall survival). Pozitivní prognóza je asociována zejména s  $CD8^+$  T-lymfocyty,  $CD4^+$  T-lymfocyty, které polarizují k Th1 odpovědi a celkově se zvýšením koncentrace lymfocytů infiltrující nádor (TILs, z angl. tumor infiltrating lymphocytes), které migrují ze stroma do centra nádoru (Truxova *et al.*, 2018).

Z výsledků preklinického a klinického testování však vyplývá, že díky imunosupresivnímu vlivu nádorových buněk v TME dochází postupně k funkčnímu vyčerpání CTLs, což vede k vyšší expresi inhibičních receptorů. Tyto receptory jsou zástupci imunitních kontrolních bodů a asociují s ligandy, které exprimují na svém povrchu nádorové buňky, to vede k vyčerpání a utlumení funkce T-lymfocytů (Fucikova *et al.*, 2019; Hamanishi *et al.*, 2007). Přítomnost těchto funkčně vyčerpaných buněk s vyšší expresí receptoru programované buněčné smrti 1 (PD-1, z angl. programmed cell death 1), cytotoxickému T-lymfocyt antigenu 4 (CTLA-4) a T-buněčnému imunoglobulinovému receptoru a mucin-doménovému proteinu 3 (TIM-3) koreluje u většiny nádorových onemocnění s horší prognózou.

#### 4.1.2. Imunosupresivní složky

Vedle imunokompetentních buněk je v TME také řada buněk, které naopak podporují růst a progresy nádoru. Tuto funkci můžeme pozorovat u regulačních T-lymfocytů (Tregs, z angl. regulatory T cells), s nádorem asociovaných makrofágů a myeloidních supresorových buněk (MDSCs, z angl. myeloid-derived suppressor cells).

Tregs jsou klíčové buňky udržující homeostázu a hrají klíčovou roli v prevenci rozvoje autoimunitních onemocnění. Jedná se o CD4<sup>+</sup> T-lymfocyty, často exprimují transkripční faktor FOXP3 (FOXP3, z angl. forkhead box P3), díky kterému dochází také k tvorbě a vystavování receptoru CD25 na buněčném povrchu. CD25 zvyšuje pravděpodobnost navázání interleukinu-2 (IL-2), který je klíčový pro výslednou proliferaci buňky (shrnutí v Li *et al.*, 2020). V TME má přítomnost Tregs jednoznačně pronádorový charakter. Vyšší zastoupení Tregs vede k rozvoji imunosupresivního TME a funkčně souvisí s funkčním poškozením či transformací na vyčerpané CTLs, inhibicí antigen prezentujících buněk (APCs, z angl. antigen presenting cells) a sekrecí protizánětlivých cytokinů, např. interleukinu-10 (IL-10) a transformujícího růstového faktoru beta (TGF- $\beta$ , z angl. transforming growth factor  $\beta$ ) (shrnutí v Sakaguchi *et al.*, 2020).

S nádorem asociované makrofágy lze rozdělit podle jejich funkční aktivity na dvě základní skupiny – M1 a M2 – které se liší svým vlivem na nádorové prostředí. M1 makrofágy jsou aktivovány prozánětlivými cytokiny, jako jsou IFN- $\gamma$  nebo tumor nekrotizující faktor alfa (TNF- $\alpha$ ), a samy produkují další prozánětlivé cytokiny a chemokiny. Ty podporují Th1 odpověď, která je charakteristická protinádorovým účinkem. Naopak M2 makrofágy, často označované také jako makrofágy asociované s nádorem (TAMs, z angl. tumor-associated macrophages), jsou aktivovány protizánětlivými cytokiny, například IL-6. Tyto buňky vykazují Th2 odpověď, která má imunomodulační a naopak pronádorový charakter. Ve skutečnosti však makrofágy vykazují současně znaky jak M1, tak M2 fenotypu, přičemž mohou mírně preferovat jeden z nich. Proto je vhodnější označovat je jako M1-polarizované a M2-polarizované (shrnutí v Strizova *et al.*, 2023). Makrofágy jsou do TME přitahovány prostřednictvím

svých chemotaktických receptorů, a to zejména do hypoxických oblastí, kde následně zůstávají uvězněny. Tato migrace je podporována cytokiny, jako jsou oncostatin M a eotaxin, které jsou produkovány samotnými nádorovými buňkami (Tripathi *et al.*, 2014). M2-polarizované makrofágy jsou také zodpovědné za neo-angiogenezi přispívající k proliferaci nádorových buněk (Yin *et al.*, 2016).

Další stěžejní populací buněk, které tlumí protinádorovou imunitu a vedou k progresy nádoru jsou MDSCs (Komura *et al.*, 2020). Dělí se na dva základní typy, granulocytární a monocytární MDSCs. Liší se zejména svým původem (shrnutí v Veglia, Sanseviero and Gabrilovich, 2021). Monocytární MDSCs zprostředkují svojí imunosupresivní odpověď skrz arginázu 1 (ARG1) a prostaglandinu E2 (PGE2), což inhibuje efektivitu zejména T-lymfocytů (Obermajer *et al.*, 2013). Granulocytární MDSCs produkují IL-10, TGF- $\beta$  a exprimují ligand programované buněčné smrti 1 (PD-L1, z angl. programmed cell death ligand 1) jako zdroj imunosuprese cílící zejména na T-lymfocyty (Condamine *et al.*, 2016).

## 4.2. Imunomodulační efekt PARPi na TME

Poškozené fragmenty nádorové DNA jsou uvolňovány do extracelulárního prostoru, kde jsou zachyceny populací APCs, včetně dendritických buněk. Tyto fragmenty jsou dále prezentovány na molekulách hlavního histokompatibilního komplexu I (MHC, z angl. major histocompatibility complex) jako tzv. neoantigeny, což je zásadní pro aktivaci CD8<sup>+</sup> T-lymfocytů. Existují také důkazy o tom, že PARPi mohou přímo zvyšovat expresi MHC I molekul i na povrchu samotných nádorových buněk (Seyedin *et al.*, 2020). Dalším efektem PARPi je zvýšená exprese PD-L1 na nádorových buňkách, což podporuje strategii jejich kombinace s imunitními inhibitory kontrolních bodů (ICIs, z angl. immune checkpoint inhibitors). (Jiao *et al.*, 2017).

Z výsledků preklinického a klinického testování vyplývá, že vedle cytotoxického účinku, PARPi vykazují řadu imunomodulačních funkcí v TME (shrnutí v Yi *et al.*, 2023). U většiny solidních nádorů byl zaznamenán nárůst cytotoxických CD8<sup>+</sup> T-lymfocytů, B-lymfocytů a NK buněk, což naznačuje stimulaci protinádorové imunity. Současně však tyto studie dokumentují nárůst počtu Tregs buněk, zatímco podíl MDSCs se snižuje. Dále byla detekována zvýšená produkce IFN- $\gamma$  a TNF- $\alpha$ , především populací CD8<sup>+</sup> T-lymfocytů. Z výsledků těchto pozorování vyplývá, že PARPi pozitivně modulují protinádorovou imunitní odpověď díky zvýšené migraci komponent imunitního systému do TME (Huang *et al.*, 2015).

### 4.2.1. cGAS/STING signální dráha

Protein cyklická guanosinmonofosfát-adenosinmonofosfát syntáza (cGAS) rozpoznává dvouřetězcové fragmenty DNA volně přítomné v cytosolu, načež katalyzuje tvorbu cyklického guanosinmonofosfát-adenosinmonofosfátu (cGAMP). Tento molekulární signál následně aktivuje protein stimulator interferonových genů (STING), který je lokalizován na membráně endoplazmatického retikula.

Po navázání cGAMP dochází k translokaci STING do perinukleárního prostoru, kde se aktivuje autofosforylací TANK-vazebné kinázy 1 (TBK1, z angl. TANK-binding kinase 1). Aktivovaná TBK1 následně fosforyluje transkripční interferon regulující faktor 3 (IRF3), který se váže na DNA a podporuje expresi genů pro interferon typu I (Corrales *et al.*, 2016). Léčba PARPi vede mimo jiné ke vzniku cytosolických dvouřetězcových fragmentů DNA, čímž dochází ke spuštění výše popsané cGAS/STING signální dráhy. Experimentálně bylo potvrzeno, že po podání PARPi dochází ke zvýšené fosforylaci TBK1 a IRF3, což svědčí o aktivaci této dráhy. Interferon typu I, který je následně uvolňován z buňky, stimuluje imunitní odpověď typu I a podporuje infiltraci nádorového mikroprostředí TILs a napomáhá polarizaci TAMs do M1. Efektivita těchto lymfocytů je však často potlačena expresí imunitních kontrolních bodů, především PD-L1. Podání ICIs může obnovit a zvýšit funkčnost TILs (Shen *et al.*, 2019).

Signální dráha cGAS/STING však nevede pouze k produkci interferonů. Významným paralelním mechanismem je aktivace transkripčního faktoru NF- $\kappa$ B, který může být rovněž fosforylován TBK1 (namísto IRF3). Tato cesta vede ke zvýšené produkci prozánětlivých cytokinů, jako jsou IL-1 $\alpha$  a TNF- $\alpha$  (Abe and Barber, 2014; Yum *et al.*, 2021).

Aktivace STING dráhy dále podporuje sekreci chemokinů, jako jsou CXCL2 a CXCL10, které jsou nezbytné pro přilákání imunitních buněk – především monocytů, makrofágů a CD8+ T-lymfocytů – do nádorového mikroprostředí (Jing *et al.*, 2019).

#### **4.2.2. Vliv PARPi na populaci makrofágů**

Jednou z klíčových vlastností makrofágů je jejich schopnost adaptace na hypoxické prostředí, což je zprostředkováno aktivací transkripčních hypoxií indukovaných faktorů (HIF). Tyto faktory se podílejí na regulaci metabolismu, produkci cytokinů, migraci, infiltraci i angiogenezi (Boutens *et al.*, 2018; Imtiyaz *et al.*, 2010). Hypoxie je přitom častěji spojována s aktivitou M2 makrofágů (Zheng *et al.*, 2020). Zajímavé je, že PARPi vykazují schopnost deaktivovat HIF transkripční faktory, čímž dochází k inhibici makrofágy indukované angiogeneze (Gonzalez-Flores *et al.*, 2014).

Dalším významným účinkem PARPi je polarizace populace makrofágů směrem k funkčně aktivnímu prozánětlivému M1 fenotypu. Experimentální studie prokázaly, že několik dní po aplikaci PARPi dochází k nárůstu produkce reaktivních forem kyslíku a oxidu dusnatého, k posílení fagocytární aktivity a k zesílení glykolytické aktivity. Tyto změny jsou charakteristické pro M1-polarizovaný protinádorový fenotyp makrofágů (Wang *et al.*, 2022).

#### **4.2.3. Vliv PARPi na populaci regulačních T-lymfocytů**

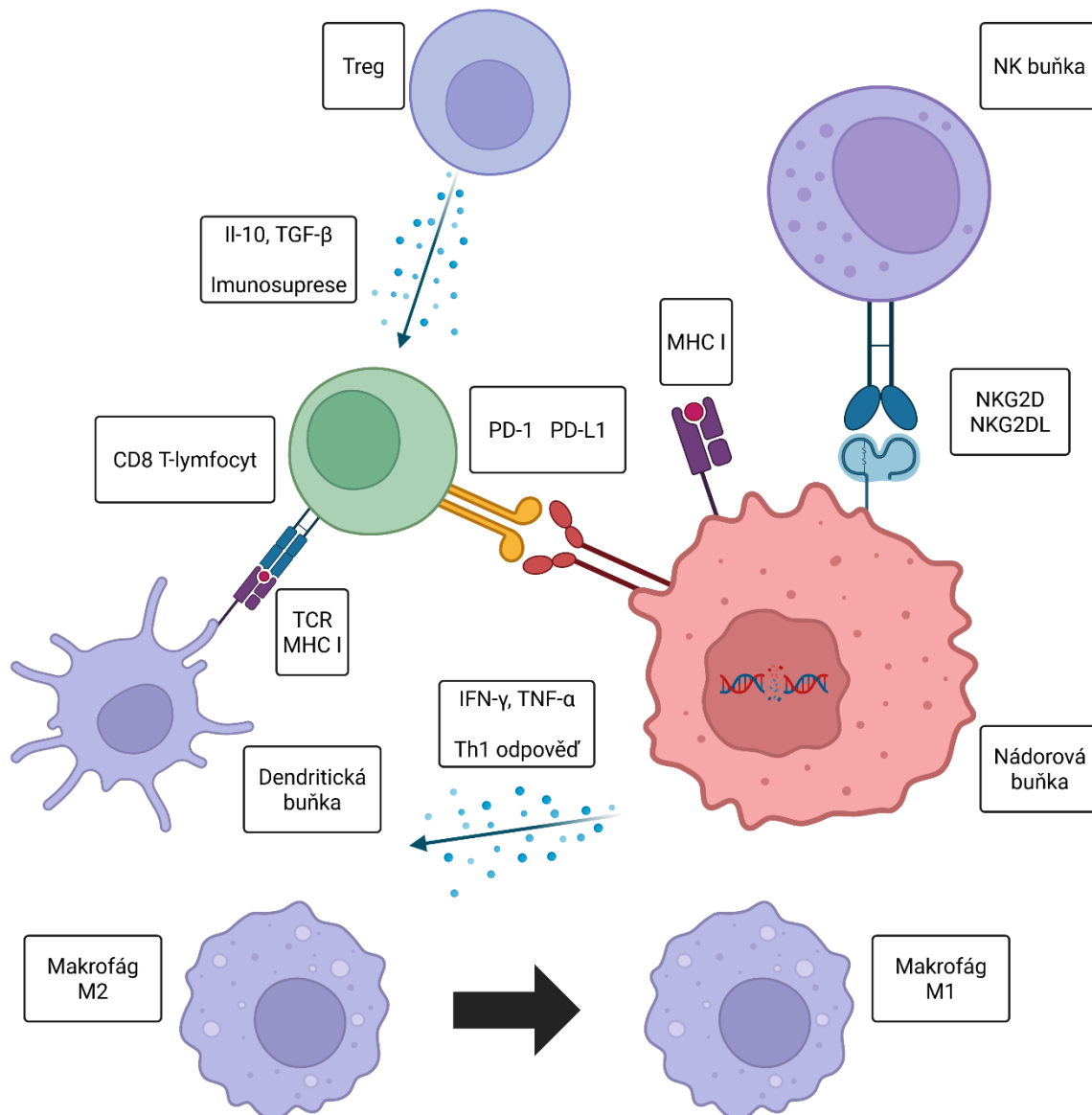
Aktuální poznatky naznačují, že PARPi mohou ovlivňovat imunosupresivní aktivitu Tregs prostřednictvím modifikace transkripčního faktoru FOXP3. PARP-1 modifikuje FOXP3 polymerem

ADP-ribózy, čímž inhibuje jeho schopnost regulovat transkripci genů spojených s imunosupresivní funkcí. Výsledkem této modifikace je snížená exprese protizánětlivých cytokinů, jako jsou IL-10 a TGF- $\beta$  a snížená exprese CTLA-4 – molekuly, která tlumí aktivitu cytotoxických T-lymfocytů. Inhibice PARP-1 – ať už pomocí PARPi nebo zvýšenou aktivitou enzymu PARG – vede k odstranění ADP-ribózové modifikace FOXP3, čímž je FOXP3 opět schopný vázat se na DNA a spustit expresi imunosupresivních genů (Luo *et al.*, 2015). Lze tedy s jistotou říci, že kombinace PARPi s ICI s může být v tomto ohledu velmi přínosná.

#### **4.2.4. Vliv PARPi na funkci NK buněk**

Receptor přirozený zabíječ skupiny 2D (NKG2D, z angl. natural killer group 2D) je exprimovaný především na povrchu NK buněk a CD8+ cytotoxických T-lymfocytů, je asociovaný s aktivitou efektorových buněk a jejich cytotoxicitou (Jamieson *et al.*, 2002). NKG2D rozpoznává stresové ligandy, mezi nimiž hraje významnou roli polypeptidový řetězec příbuzný MHC třídě I, sekvence A (MICA, z angl. MHC class I polypeptide-related sequence A), což je homolog lidských leukocytárních antigenů třídy I (HLA, z angl. human leukocyte antigen) (Bauer *et al.*, 1999). V nádorových buňkách léčených PARPi dochází v důsledku poškození DNA a její fragmentace ke spuštění signálních drah, které vedou ke zvýšené expresi ligandů pro receptor NKG2D. Tato zvýšená exprese následně aktivuje stimulační signál v NK buňkách prostřednictvím vazby NKG2D na jeho ligand, což vede k eliminaci poškozené buňky (Gasser *et al.*, 2005). Tento mechanismus byl prokázán mimo jiné na leukemických kmenových buňkách, které za fyziologických podmínek ligand NKG2D téměř neexprimují nebo jen v minimální míře. Po podání PARPi však došlo k výraznému zvýšení jeho exprese, což podpořilo efektivní rozpoznání a likvidaci těchto buněk imunitním systémem (Paczulla *et al.*, 2019).

Všechny vysvětlené efekty PARPi jsou vyobrazeny v Obrázku 5.



**Obrázek 5:** Schéma znázorňující imunomodulační účinky PARPi v TME

PARPi pozitivně regulují imunosupresi zprostředkovanou regulačními T-lymfocyty a mohou inhibovat cytotoxickou aktivitu  $CD8^+$  T-lymfocytů. Dendritické buňky endocytózou přijímají fragmenty DNA nádorových buněk a následně prezentují neoantigeny na molekulách MHC I, čímž dochází k aktivaci  $CD8^+$  T-lymfocytů z naivního do efektorového stavu. V nádorových buňkách aktivita PARPi stimuluje signální kaskády vedoucí k produkci  $IFN-\gamma$ , což podporuje rozvoj Th1 imunitní odpovědi. Tato odpověď zajišťuje přilákání protinádorových imunitních buněk do nádoru, spolu se zvýšenou expresí MHC I a NKG2DL, což přispívá k eliminaci nádorových buněk. Současně PARPi zvyšují expresi PD-L1, což podporuje vysokou účinnost kombinované léčby s ICIs. Makrofág typu 2 se polarizuje na makrofága 1 po vystavení  $IFN-\gamma$ . Obrázek byl vytvořen na stránce BioRender.com.  $IFN-\gamma$  – interferon gama,  $IL-10$  – interleukin-10, MHC I – hlavní histokompatibilní komplex I, NK – přirozený zabíječ, NKG2D – přirozený zabíječ skupiny 2D, NKG2DL – ligand přirozeného zabíječe skupiny 2D, PD-1 – programovaná smrt 1, PD-L1 – ligand programované smrti 1, TCR – T-buněčný receptor,  $TGF-\beta$  – transformující růstový faktor beta,  $TNF-\alpha$  – nádor nekrotizující faktor alpha, Tregs – regulační T-lymfocyt.

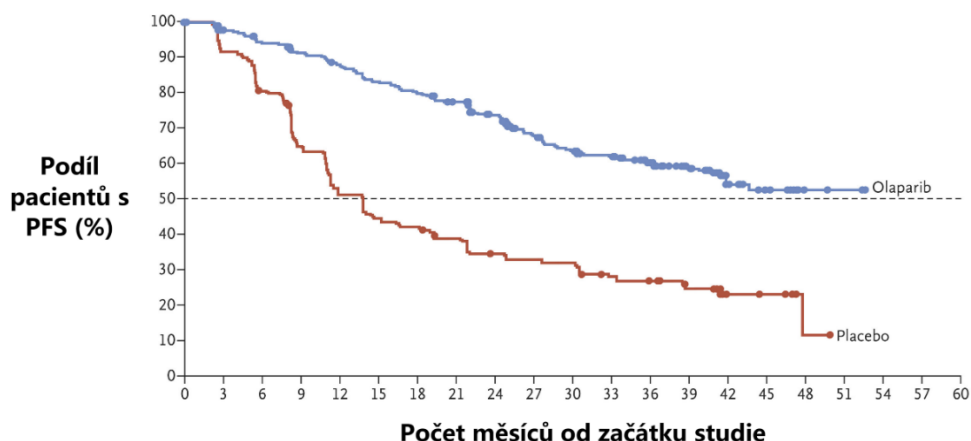
## 5. Výsledky studií léčby karcinomu ovarii

V současnosti jsou v České republice v klinické praxi využívány dva inhibitory PARP schválené k léčbě nádorových onemocnění. Jedná se o účinné látky olaparib a niraparib, přičemž oba inhibitory jsou indikovány především v rámci udržovací léčby (*Lynparza* | *European Medicines Agency (EMA)*, 2015; *Zejula* | *European Medicines Agency (EMA)*, 2017). Tyto látky jsou užívány na základě klinických studií.

### 5.1. SOLO1

Jednou z klíčových klinických studií hodnotících účinnost PARP inhibitorů je studie SOLO1, která probíhala mezi roky 2013 a 2015 v 15 zemích světa. Jednalo se o randomizovanou, dvojitě zaslepenou studii fáze III. Do studie byly zařazeny ženy starší 18 let s nově diagnostikovaným pokročilým karcinomem vaječníků (stadium III nebo IV) a potvrzenou mutací *BRCA1/BRCA2*. Zařazeny byly pouze pacientky, které po první linii chemoterapie na bázi platiny dosáhly úplné nebo alespoň částečné léčebné odpovědi. Pacientky byly náhodně rozděleny v poměru 2:1 k podávání buď olaparibu (300 mg dvakrát denně), nebo placebo po dobu maximálně dvou let. Celkem se studii zúčastnilo 390 pacientek, z nichž 260 obdrželo olaparib a 130 placebo (Moore *et al.*, 2018).

Primárním cílem studie bylo posoudit prodloužení PFS. Výsledky ukázaly, že olaparib významně snižuje riziko progresce nebo smrti – o 70 % oproti placebo (Moore *et al.*, 2018). Po 41 měsících sledování nebyl ve skupině s olaparibem medián PFS dosud dosažen, zatímco ve skupině s placebem činil 13,8 měsíce, tyto údaje jsou znázorněny v Grafu 1. Po pěti letech byl medián PFS ve skupině s olaparibem 56 měsíců. Aktualizovaná data po sedmi letech sledování přinesla také informace o OS: ve skupině s olaparibem přeživalo 67 % pacientek od začátku léčby, zatímco ve skupině s placebem pouze 46,5 % (DiSilvestro *et al.*, 2023).



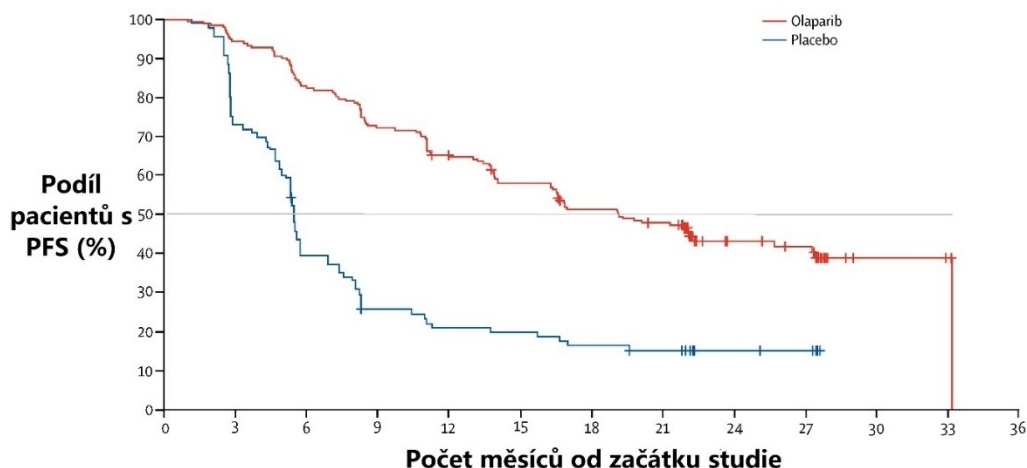
**Graf 1:** Rozdíl PFS u pacientů léčených olaparibem vs placebo skupina

Po 41 měsících se medián PFS u olaparib pacientek neprojevil, u placebo pacientek k tomu došlo už v 13,8 měsíci. Graf byl pořízen ze stránky studie (Moore *et al.*, 2018) a následně upraven v programu Malování. PFS – přežití bez progresse onemocnění.

## 5.2. SOLO2

Studie SOLO2 navázala na výsledky předchozí studie SOLO1. Opět se jednalo o randomizovanou, dvojitě zaslepenou studii fáze III. Na rozdíl od SOLO1 však byla cílovou skupinou pacientky s rekurentním, platinově senzitivním karcinomem vaječníků s potvrzenou mutací v genech *BRCA1* nebo *BRCA2*, nikoli pacientky s nově diagnostikovaným onemocněním. Pro zařazení do studie musely pacientky absolvovat alespoň dvě linie předchozí chemoterapie, přičemž poslední léčba musela být založena na platinových derivátech a musel se potvrdit pozitivní účinek léčby. Do studie bylo zařazeno celkem 294 pacientek, z nichž 195 obdrželo olaparib (300 mg 2× denně) a 99 pacientek placebo.

Výsledky studie potvrdily výrazný klinický přínos léčby olaparibem. Medián PFS činil ve skupině s olaparibem 19,1 měsíce, zatímco ve skupině s placebem pouze 5,5 měsíce (Pujade-Lauraine, Ledermann, Selle, GebSKI, Penson, Oza, *et al.*, 2017). OS bylo rovněž delší u pacientek léčených olaparibem – medián OS činil 51,7 měsíce oproti 38,8 měsíce ve skupině s placebem (Poveda *et al.*, 2020). Obě studie – SOLO1 i SOLO2 – tak potvrzují klinicky významný účinek olaparibu u pacientek s karcinomem ovarií a mutací *BRCA1/2*, a to jak u nově diagnostikovaných, tak u pacientek s rekurentní formou onemocnění. Viz Graf 2.



**Graf 2:** Rozdíl PFS u pacientů léčených olaparibem vs placebo skupina

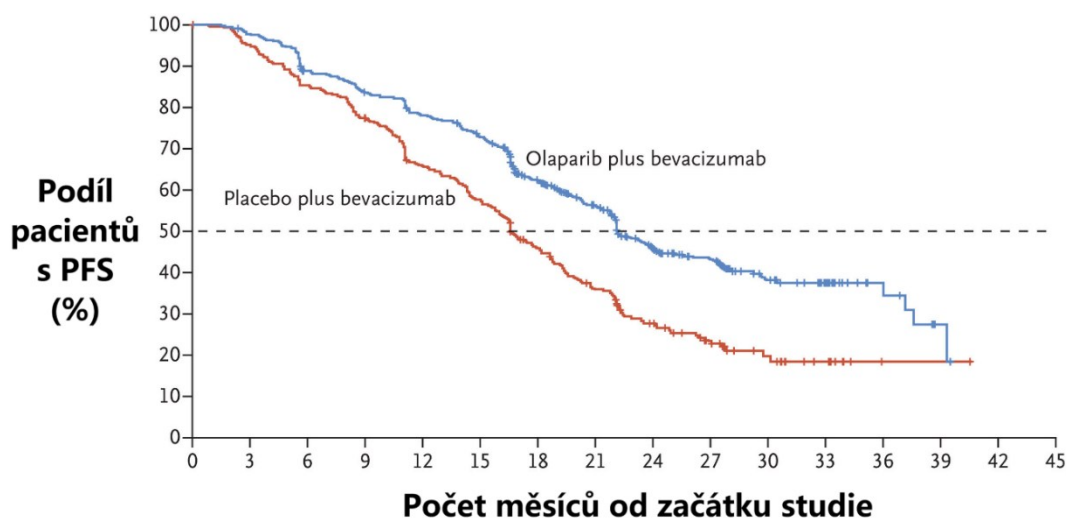
Medián PFS u pacientů léčených olaparibem dosáhl na 19,1 měsíce, zatímco u pacientů, kterým se podávalo placebo, pouze na 5,5 měsíců. Graf byl pořízen ze stránky studie (Pujade-Lauraine, Ledermann, Selle, GebSKI, Penson, Vergote, *et al.*, 2017) a následně upraven v programu Malování. PFS – přežití bez progresse onemocnění.

### 5.3. PAOLA1

Studie PAOLA-1 hodnotila účinnost kombinované udržovací léčby olaparibem a bevacizumabem u pacientek s nově diagnostikovaným pokročilým epitelialním karcinomem vaječníků (stadium III nebo IV). Bevacizumab, anti-vaskulární endoteliální růstový faktor (VEGF, z angl. vascular endothelial growth factor), je již standardně používán v kombinaci s chemoterapií (Colombo *et al.*, 2019). Jednalo se o randomizovanou, dvojitě zaslepenou studii fáze III, do které bylo zařazeno celkem 806 pacientek. Z nich 537 obdrželo kombinaci olaparibu (300 mg 2× denně) a bevacizumabu, 269 pacientek obdrželo placebo v kombinaci s bevacizumabem. U všech pacientek musela být před zahájením studie prokázána pozitivní odpověď na první linii chemoterapie s bevacizumabem. Udržovací fáze léčby trvala jeden rok (Ray-Coquard *et al.*, 2019).

Výsledky ukázaly, že přítomnost *BRCA* mutací má významný podíl na rozdíl v mediánu PFS. Medián PFS pacientek léčených kombinací olaparibu a bevacizumabu byl 37,2 měsíců, zatímco u skupiny s placebem a bevacizumabem byl medián pouze 21,7 měsíců. Pacientky bez *BRCA* mutace zaznamenaly mnohem menší rozdíl – 18,9 měsíců u skupiny léčené olaparibem a bevacizumabem a 16 měsíců u placebo a bevacizumab skupiny. Pacientky, které neměly detekovatelnou HRR deficienci zaregistrovaly ještě menší rozdíl – pouze 4 měsíce, přičemž medián PFS ve skupině s olaparibem a bevacizumabem činil 16,6 měsíců a ve skupině s placebem a bevacizumabem 16,2 měsíce (Ray-Coquard *et al.*, 2019). Viz Graf 3.

Tato studie potvrzuje účinnost kombinace olaparibu a bevacizumabu v léčbě karcinomu ovarií, zejména u patientek s deficiencí HRR.



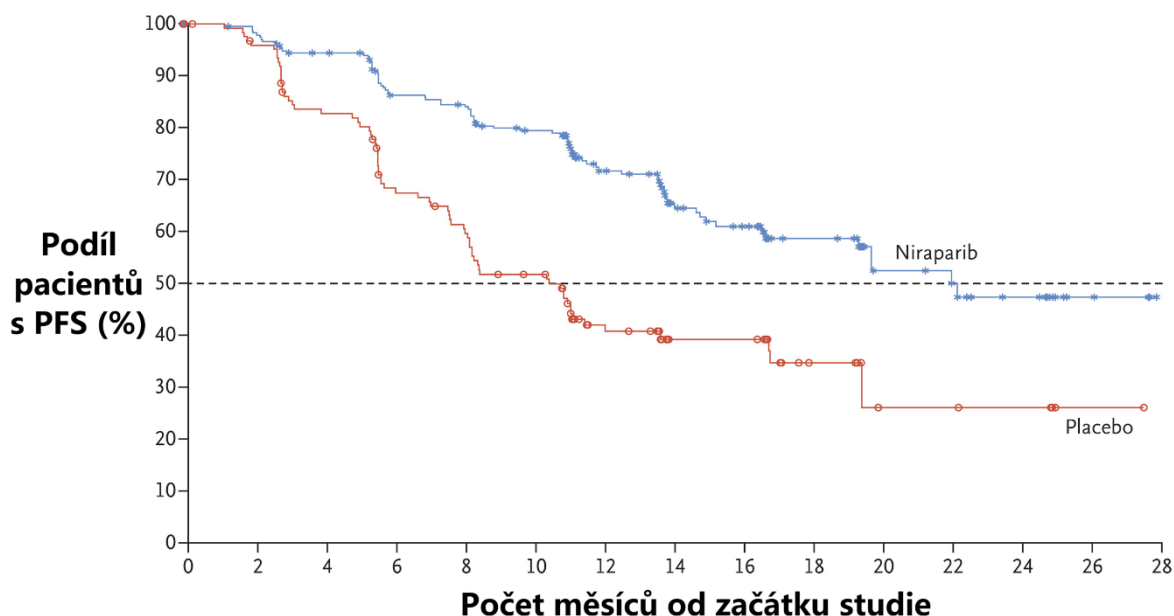
**Graf 3:** Rozdíl PFS u pacientů s *BRCA* mutací léčených kombinací bevacizumabu + olaparibu vs bevacizumabu + placebo

Medián PFS u pacientů léčených kombinací bevacizumabu + olaparibu dosáhl na 37,2 měsíců, zatímco u pacientů léčených kombinací bevacizumabu + placebo pouze na 21,7 měsíců. Graf byl pořízen ze stránky studie (Ray-Coquard *et al.*, 2019) a následně upraven v programu Malování. PFS – přežití bez progresce onemocnění.

## 5.4. PRIMA

PRIMA je klinická studie hodnotící niraparib. Studie byla provedena na základě náhodného výběru patientek s nově diagnostikovaným karcinomem vaječníků ve stádiích III nebo IV a jednalo se o dvojitě zaslepenou studii fáze III. Vybrané pacientky podstoupily 6 až 9 linií chemoterapie a byly rozděleny do skupin na základě mutace v HRR. Celkově bylo do studie zařazeno 728 patientek, které byly rozděleny v poměru 2:1; 484 z nich bylo léčeno niraparibem a 244 placebem, přičemž léčba trvala až 3 roky.

U patientek s mutací HRR a *BRCA* léčených niraparibem byl medián PFS 22,1 měsíců, u patientek na placebo činil 10,9 měsíců. Pacientky bez mutace v genu *BRCA* ve skupině léčených niraparibem zaznamenaly medián PFS 19,6 měsíců a ve skupině s placebem 8,2 měsíců. Medián PFS u skupiny s funkčním HRR dosáhl 8,1 měsíců u patientek léčených niraparibem a 5,4 měsíce u těch, které užívaly placebo (González-Martín *et al.*, 2019). Z těchto výsledků lze usuzovat, že niraparib vykazuje pozitivní účinnost i u patientek bez mutace v genu *BRCA*, na rozdíl od olaparibu. Viz Graf 4.



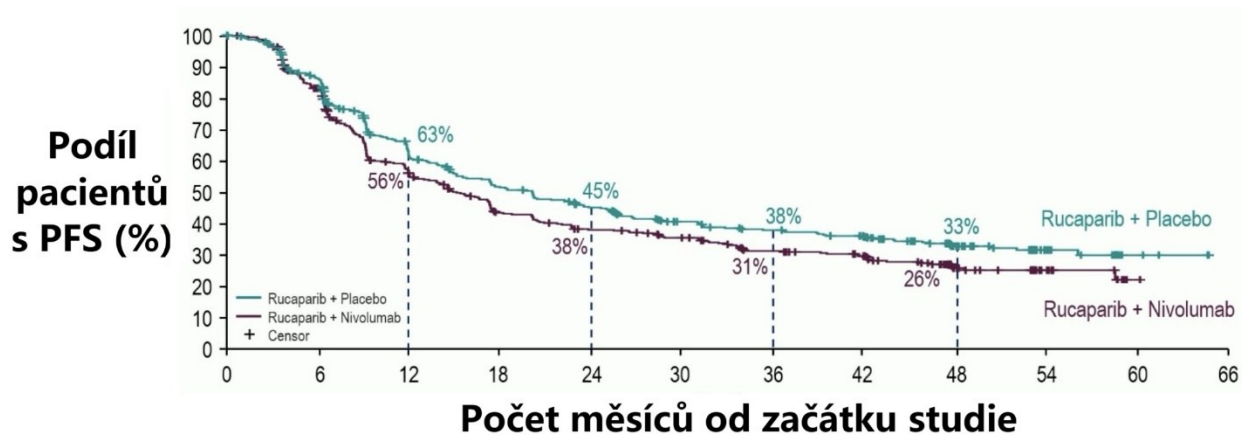
**Graf 4:** Rozdíl PFS u pacientů s *BRCA* mutací léčených niraparibem vs placebo skupina

Medián PFS u pacientek léčených niraparibem činil 22,1 měsíců, zatímco u pacientů podávaným placebo byl 10,9 měsíců. Graf byl pořízen ze stránky studie (González-Martín *et al.*, 2019) a následně upraven v programu Malování. PFS – přežití bez progresse onemocnění.

## 5.5. ATHENA COMBO

ATHENA COMBO je klinická studie hodnotící účinnost kombinace PARPi (rucaparib) s ICIs (nivolumab). Opět se jedná o randomizovanou, dvojité zaslepenou studii fáze III. Pokusu se zúčastnily pacientky s nově diagnostikovaným platinově senzitivním karcinomem vaječníku, které byly předem léčeny chemoterapií. Cílem pokusu bylo zjistit, zda-li se prodlouží PFS u pacientek léčených rucaparibem s nivolumabem oproti pacientkám léčených rucaparibem s placebem. Této studii se zúčastnilo 863 pacientek (Monk *et al.*, 2021).

Pacientky léčené kombinací rucaparib s nivolumabem vykazovaly medián PFS 15,0 měsíců oproti 20,2 měsícům u pacientek léčených rucaparibem s placebem. Účinek kombinace PARPi s ICIs se nepotvrdil (Monk *et al.*, 2024).



**Graf 5:** Rozdíl PFS u pacientů léčených kombinací rucaparibu + nivolumabu vs rucaparibu + placeba

Medián PFS u pacientů léčených kombinací rucaparibu + nivolumabu dosáhl na 15,0 měsíců, zatímco u pacientů léčených kombinací rucaparibu + placebo na 20,2 měsíců. Graf byl pořízen ze internetové stránky (*ESMO 2024: ATHENA-COMBO, a phase III, randomized trial comparing rucaparib (RUC) + nivolumab (NIVO) combination therapy vs RUC monotherapy as maintenance treatment in patients (pts) with newly diagnosed ovarian cancer (OC), no date*) a následně upraven v programu Malování. PFS – přežití bez progresse onemocnění.

## 6. Rezistence vůči PARP inhibitorům

Rezistence k PARPi představuje klíčovou klinickou výzvu v léčbě onkologických onemocnění. Existuje několik teorií, které vysvětlují, proč k této rezistenci dochází, přičemž nejpravděpodobnější je reverzní mutace, která vede k obnovení funkční HRR (Shroff *et al.*, 2018). Některé mutace v genu *BRCA* způsobují posun čtecího rámce, takže pokud dojde například k delecii, která posune čtecí rámec zpět do původní formy, může být *BRCA* gen opět správně transkribován a vytvoří se funkční protein (Sakai *et al.*, 2008). Tuto teorii potvrzují výsledky experimentálního pozorování, které naznačují, že po podání PARPi dochází k reverzní mutaci, což vede k rozvoji rezistence vůči léčbě (Lin *et al.*, 2019).

Dalším způsobem, jak mohou nádorové buňky vyvinout rezistenci, je potlačení NHEJ opravy. Příkladem je vyčerpání p53 vazebného proteinu 1 (53BP1, z angl. p53-binding protein 1), který hraje klíčovou roli v aktivaci NHEJ opravy. Pokud je množství 53BP1 nedostatečné, aktivace NHEJ je narušena, což může vést k částečné obnově funkce HRR a tím ke snížení účinnosti PARPi (Bouwman *et al.*, 2010). Jiným mechanismem, který může přispět k rezistenci vůči PARPi, je vyčerpání PARG, enzymu, který štěpí polymer ADP-ribózy vytvořený na PARP. PARG je důležitý pro udržení stabilního komplexu PARP/DNA, a pokud je vyčerpán, PARP může disociovat od DNA, což vede k rezistenci vůči PARPi (Gogola *et al.*, 2018).

Drug efflux (aktivní vylučování léků) představuje další z mechanismů, které vedou k rezistenci na PARPi. Při tomto procesu PARPi vyvolává zvýšení exprese transportních proteinů ATP-vazebných kazet (ABC, z angl. ATP-binding cassettes), konkrétně protein rezistentní vůči různým lékům (MDR1, z angl. multidrug resistance protein 1). Tento protein je schopen vylučovat molekuly PARPi z buňky, tím dochází ke snížení koncentrace léku uvnitř buňky a zvýšení rezistence (Rottenberg *et al.*, 2008).

Vzhledem k těmto mechanismům rezistence se současný preklinický a klinický výzkum zaměřuje na kombinované přístupy léčby, které by mohly částečně zvýšit klinickou odpověď na PARPi.

## 7. Kombinované terapeutické přístupy

Chemoterapie i nadále patří mezi nejčastěji využívané léčebné metody v onkologii. Mezi nejvýznamnější kategorie chemoterapeutik se řadí alkylační cytostatika, jejich účinek spočívá v navázání alkylační skupiny na DNA. To vede k poškození DNA, které následně přispívá ke smrti rychle se dělících buněk. Přesto však zůstává zásadním problémem vznik chemo-rezistentních buněk a nutnost podávat vysoké dávky léčiv, které způsobují závažné nežádoucí účinky (shrnuto v Anand *et al.*, 2023).

Možným řešením je kombinace alkylačních cytostatik s PARPi. Tato strategie byla testována ve studii, v níž byl použit veliparib (zástupce PARPi) v kombinaci s temozolomidem. Studie zahrnovala pacienty s *BRCA1/BRCA2* mutací i pacienty bez mutace v genech *BRCA*. Z celkového počtu 30 jedinců s *BRCA* mutací zaznamenalo 23 % výrazné zmenšení nádoru. U pacientů, kteří předtím neabsolvovali chemoterapii, byla tato odpověď zaznamenána u 32 %. Naopak u těch, kteří již chemoterapii podstoupili, došlo k výrazné odpovědi pouze u 9 %. U pacientů bez *BRCA* mutace nebyl zaznamenán žádný významný léčebný efekt (Xu *et al.*, 2021).

### 7.1. Kombinace s imunoterapií

Významnou roli v kombinované léčbě hraje rovněž imunoterapie, zejména s využitím ICI. Po podání PARPi dochází k fragmentaci DNA, což aktivuje signální dráhu cGAS/STING. Tato dráha spouští expresi prozánětlivých cytokinů, včetně interferonů typu I (shrnuto v Franzese and Graziani, 2022). Výsledkem tohoto procesu je mimo jiné zvýšená exprese PD-L1, CTLA-4 aj., což zvyšuje účinnost imunoterapie pomocí ICI (Parkes *et al.*, 2017).

Zásadní klinickou studií fáze II je MEDIOLA, které se celkem zúčastnilo 114 pacientek. Výsledky ukazují slibný efekt kombinace duvalizumabu (ICI) a olaparibu u kohorty se zhoubným, rekurentním nádorem ovarií s germinální *BRCA* mutací. Minimálně částečnou odpověď vykázalo 72 % pacientek a celkové potlačení nádoru 22 % pacientek. Bohužel jelikož nešlo o randomizovanou studii a nevytvořila se kohorta léčená pouze olaparibem, výsledky mohou být zkreslené (Drew *et al.*, 2024).

TOPACIO/KEYNOTE-162 naopak zkoumala účinek niraparibu s kombinací pembrolizumabu u 62 žen s rekurentním zhoubným nádorem vaječnicků, které byly platina rezistentní. Částečná odpověď se zaznamenala pouze u 18 %, avšak účinek této kombinace měly také pacientky s *BRCA* genem bez mutace (Konstantinopoulos *et al.*, 2019).

MOONSTONE klinická studie má naopak záporné výsledky. Z 41 pacientek, které měly opět rekurentní zhoubný nádor vaječnicků, byly platina rezistentní a nemají mutaci v *BRCA* genu, se částečná odpověď

zjistila pouze u 7,3 % pacientek, kompletní odpověď u žádné z nich. Z tohoto důvodu musela být klinická studie ukončena dříve (Randall *et al.*, 2023).

Velmi významnou klinickou studií fáze III je ATHENA COMBO, viz. kapitola Výsledky studií léčby karcinomu ovarií, která měla bohužel negativní výsledek v neprospěch kombinace PARPi s ICI.

Na základě mnoha klinických studií se stále nedošlo k definitivnímu závěru účinku této kombinace a hledá se definitivní odpověď. Dnes probíhá několik klinických studií zejména fáze III kombinující PARPi s ICI, u kterých se stále čeká na výsledek. Zástupci klinických studií jsou vyobrazeny v Tabulce 1.

Cíl	Lék	Klinická studie	Fáze	Charakteristika	Vzorek	Dávka	ORR (%)	CR (%)
PARPi+PD-L1	Olaparib+ Durvalumab	MEDIOLA (NCT02734004)	II	Relabující karcinom vaječníků s mutací BRCA v germinální linii, citlivý na platinu	34	Olaparib 300 mg po/bid+ Durvalumab 1500 mg iv/ q4w	72%	22%
	Olaparib+ Durvalumab	MEDIOLA (NCT02734004)	II	Relabující karcinom vaječníků s mutací BRCA v negerminální linii, citlivý na platinu	32	Olaparib 300 mg po/bid+ Durvalumab 1500 mg iv/ q4w	34.4%	NA
	Olaparib+ Durvalumab	NCT02484404	II	Relabující karcinom vaječníků	36	Olaparib 300 mg po/bid+ Durvalumab 1500 mg iv/ q4w	14%	0
	Olaparib+ Durvalumab	AMBITION/KGOG 3045 (NCT03699449)	II	HRR mutace, rezistentní na platinu	14	Olaparib 300 mg po/bid+ Durvalumab 1500 mg iv/ q4w	42.9%	7.1%
	Niraparib+ Atezolizumab	ENGOT-Ov41/ GEICO 69-O/ANITA (NCT03598270)	III	Recidivující karcinom vaječníků, vejcovodů nebo pobříšnice	414	NA	NA	NA
	Talazoparib+ Avelumab	JAVELIN PARP Medley (NCT03330405)	Ib, II	Pokročilý nebo metastatický karcinom vaječníků s alterací BRCA, citlivý na platinu	11	Talazoparib 1 mg po/qd+ Avelumab 800 mg iv/q2w	63.6%	18.2%
Talazoparib+ Avelumab	JAVELIN PARP Medley	Ib, II	Pokročilý nebo metastatický karcinom vaječníků s nemutovaným BRCA, citlivý na platinu	20	Talazoparib 1 mg po/qd+ Avelumab 800 mg iv/q2w	20%	NA	
PARPi+PD-1	Niraparib+ Pembrolizumab	TOPACIO/ KEYNOTE-162 (NCT02657889)	I, II	Recidivující karcinom vaječníků rezistentní na platinu	62	Niraparib 200 mg po/qd+ Pembrolizumab 200 mg iv/ q3w	18%	5%
	Niraparib+ Dostarlimab	NitChe(MITO 33) (NCT04679064)	III	Recidivující karcinom vaječníků, vejcovodů nebo primární peritoneální karcinom	NA	NA	NA	NA
	Niraparib+ Dostarlimab	FIRST (NCT03602859)	III	NA	NA	NA	NA	NA
	Rucaparib+ Nivolumab	ATHENA-COMBO (NCT03522246)	III	Nově diagnostikovaný pokročilý karcinom vaječníků, vejcovodů nebo primární peritoneální karcinom citlivý na platinu	NA	NA	NA	NA
	Pamiparib(BGB-290)+ Tislezizumab(BGB-A317)	NCT02660034	I	Recidivující epitelový karcinom vaječníků s mutací BRCA nebo HRR senzitivní na platinu	23	Tislezizumab 200 mg iv/ q3w + Pamiparib 40 mg po/bid	30.4%	8.7%
	Pamiparib(BGB-290)+ Tislezizumab(BGB-A317)	NCT02660034	I	Recidivující epitelový karcinom vaječníků s nemutovaným BRCA nebo HRR senzitivní na platinu	23	Tislezizumab 200 mg iv/ q3w + Pamiparib 40 mg po/bid	13.0%	4.3%
PARPi+CTLA-4	Olaparib+ Tremelimumab	NCT02571725	I, II	Recidivující karcinom vaječníků s mutovaným BRCA	50	NA	NA	NA
PARPi+PD-1+VEGF	Olaparib+ Pembrolizumab+ Bevacizumab	OPEB-01 (NCT04361370)	I, II	Recidivující karcinom vaječníků s nemutovaným BRCA a senzitivní na platinu	I-22 II-44	Olaparib 300 mg po/bid+ Pembrolizumab 200 mg iv/ q3w+	68.2%	NA

**Tabulka 1:** Klinické studie PARPi v kombinaci s ICI u karcinomu ovarií

Seznam studií, které se zabývaly nebo stále se zabývají kombinovaným terapeutickým přístupem za využití PARPi a ICI v léčbě karcinomu ovarií. Tabulka byla pořízena ze stránky (Zhou *et al.*, 2024), dále byla upravena na stránce [www.biorender.com](http://www.biorender.com) a v programu Malování. BRCA – nádorové onemocnění prsou, CR – kompletní odpověď, CTLA-4 – cytotoxický T-lymfocyt antigen 4, HRR – homologní rekombinantní oprava, NA – není k dispozici, ORR – celková četnost odpovědí, PARPi – inhibitor poly-adenozindifosfát-ribózo-polymerázy, PD-1 – programovaná buněčná smrt 1, PD-L1 – ligand programované buněčné smrti 1, VEGF – vaskulární endoteliální růstový faktor

## 8. Závěr

Rodina enzymů PARP představuje rozsáhlou skupinu proteinů s klíčovou úlohou v udržování genomové integrity, zejména prostřednictvím účasti na opravách DNA. Nejlépe charakterizovaným členem je PARP1, který detekuje poškození DNA, iniciuje syntézu ADP-ribózových polymerů a aktivuje opravný mechanismus. Zároveň se podílí na regulaci genové exprese prostřednictvím modifikace chromatinu a interakce s transkripčními faktory, jako je p53. PARP2 a PARP3 doplňují funkce PARP1 v reparačních procesech. Enzym PARG, který působí jako funkční antagonist PARP, zabezpečuje degradaci ADP-ribózových polymerů a uzavírá cyklus této posttranslační modifikace. Variabilita struktury i funkce jednotlivých členů PARP rodiny ukazuje na jejich široký biologický význam, který přesahuje rámec oprav DNA a zasahuje do řady dalších buněčných dějů.

PARPi se ukázaly jako efektivní nástroje cílené protinádorové terapie, zejména díky schopnosti selektivně eliminovat buňky s poruchou HRR. Jejich terapeutický efekt vychází především ze dvou mechanismů: indukce kolapsu replikační vidlice v důsledku hromadění neopravených jednovláknových zlomů a stabilizace komplexu PARP/DNA, který brání pokračování replikace. Tyto mechanismy vedou k akumulaci poškození a následné buněčné smrti. Účinnost PARPi je navíc zesílena konceptem syntetické letality, kdy nádorové buňky s defekty v HRR nedokážou kompenzovat ztrátu PARP funkce. Díky těmto vlastnostem se PARPi etablovaly jako důležitá součást moderní onkologické léčby a jsou předmětem rozsáhlého klinického i preklinického výzkumu.

Navzdory vysoké účinnosti však dlouhodobé podávání PARPi často vede ke vzniku rezistence prostřednictvím různorodých mechanismů, včetně reverzních mutací, aktivace alternativních reparačních drah nebo zvýšeného transportu léčiva z buňky. Tato skutečnost vedla k vývoji kombinovaných terapeutických režimů, jejichž cílem je zvýšit účinnost PARPi a překonat rezistenci. Kombinace s alkylačními cytostatiky, inhibitory proteinů reparační dráhy (např. ATR) nebo imunoterapií, včetně ICIs, vykazují slibné výsledky a rozšiřují spektrum indikací pro tuto skupinu léčiv. Tyto přístupy otevírají nové možnosti pro personalizovanou terapii zejména u rezistentních nebo obtížně léčitelných nádorů.

Protinádorová imunitní odpověď představuje složitý a dynamický proces, který je výrazně ovlivňován interakcemi mezi nádorovými buňkami a různorodými složkami imunitního systému v rámci nádorového mikroprostředí. Pokroky v imunoterapii, včetně využití PARP inhibitorů, ukazují, že lze cíleně ovlivňovat nejen složení imunitních buněk v mikroprostředí, ale také jejich funkční aktivitu. PARPi podporují aktivaci cytotoxických T-lymfocytů a NK buněk, zároveň modulují imunosupresivní mechanismy skrze Tregs, MDSCs a TAMs. Významnou úlohu hraje také aktivace cGAS/STING dráhy, která stimuluje produkci interferonů a prozánětlivých cytokinů, čímž podporuje nábor a aktivaci

efektorových buněk. Kombinace PARPi s ICIs se tak jeví jako slibná strategie, která může zásadně zlepšit účinnost protinádorové imunity.

Výsledky klíčových klinických studií SOLO1, SOLO2, PAOLA-1 a PRIMA jednoznačně potvrzují vysokou účinnost PARPi – zejména olaparibu a niraparibu – v léčbě karcinomu ovaria. Olaparib prokázal výrazný klinický přínos jak v první linii léčby (SOLO1), tak při léčbě recidivy (SOLO2). Kombinace s bevacizumabem (PAOLA-1) rozšířila možnosti udržovací terapie. Niraparib (PRIMA) pak vykázal účinnost i u pacientek bez *BRCA* mutací, čímž rozšířil terapeutické možnosti pro širší populaci. Přestože většina pacientek na tuto léčbu zpočátku reaguje, relaps zůstává častým výsledkem. Překonání této limitace představuje výzvu pro další výzkum a vývoj účinnějších kombinací a sekvenčních strategií léčby. Klinické studie fáze II, jako MEDIOLA a TOPACIO, ukázaly částečně pozitivní výsledky, nicméně často s metodologickými omezeními (např. absence kontrolní skupiny). Studie MOONSTONE a ATHENA COMBO pak přinesly negativní výsledky, čímž podtrhují dosud nejednoznačný přínos této kombinované terapie. Výzkum tedy nadále pokračuje a probíhající klinické studie fází III by měly přinést jednoznačnější důkazy o účinnosti této terapeutické strategie.

## 9. Reference

Reference označené \* jsou sekundární citace.

Abe, T. and Barber, G.N. (2014) 'Cytosolic-DNA-mediated, STING-dependent proinflammatory gene induction necessitates canonical NF- $\kappa$ B activation through TBK1', *Journal of Virology*, 88(10), pp. 5328–5341. Available at: <https://doi.org/10.1128/JVI.00037-14>.

Ali, A.A.E. *et al.* (2012) 'The zinc-finger domains of PARP1 cooperate to recognize DNA strand breaks', *Nature Structural & Molecular Biology*, 19(7), pp. 685–692. Available at: <https://doi.org/10.1038/nsmb.2335>.

Altmeyer, M. *et al.* (2009) 'Molecular mechanism of poly(ADP-ribosyl)ation by PARP1 and identification of lysine residues as ADP-ribose acceptor sites', *Nucleic Acids Research*, 37(11), pp. 3723–3738. Available at: <https://doi.org/10.1093/nar/gkp229>.

Amé, J.-C. *et al.* (1999) 'PARP-2, A Novel Mammalian DNA Damage-dependent Poly(ADP-ribose) Polymerase', *Journal of Biological Chemistry*, 274(25), pp. 17860–17868. Available at: <https://doi.org/10.1074/jbc.274.25.17860>.

\* Amé, J.-C., Spenlehauer, C. and de Murcia, G. (2004) 'The PARP superfamily', *BioEssays: News and Reviews in Molecular, Cellular and Developmental Biology*, 26(8), pp. 882–893. Available at: <https://doi.org/10.1002/bies.20085>.

\* Anand, U. *et al.* (2023) 'Cancer chemotherapy and beyond: Current status, drug candidates, associated risks and progress in targeted therapeutics', *Genes & Diseases*, 10(4), pp. 1367–1401. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.gendis.2022.02.007>.

Aravind, L. and Koonin, E.V. (2000) 'SAP – a putative DNA-binding motif involved in chromosomal organization', *Trends in Biochemical Sciences*, 25(3), pp. 112–114. Available at: [https://doi.org/10.1016/S0968-0004\(99\)01537-6](https://doi.org/10.1016/S0968-0004(99)01537-6).

Augustin, A. *et al.* (2003) 'PARP-3 localizes preferentially to the daughter centriole and interferes with the G1/S cell cycle progression', *Journal of Cell Science*, 116(8), pp. 1551–1562. Available at: <https://doi.org/10.1242/jcs.00341>.

Bauer, S. *et al.* (1999) 'Activation of NK cells and T cells by NKG2D, a receptor for stress-inducible MICA', *Science (New York, N.Y.)*, 285(5428), pp. 727–729. Available at: <https://doi.org/10.1126/science.285.5428.727>.

Boutens, L. *et al.* (2018) ‘Unique metabolic activation of adipose tissue macrophages in obesity promotes inflammatory responses’, *Diabetologia*, 61(4), pp. 942–953. Available at: <https://doi.org/10.1007/s00125-017-4526-6>.

Bouwman, P. *et al.* (2010) ‘53BP1 loss rescues BRCA1 deficiency and is associated with triple-negative and BRCA-mutated breast cancers’, *Nature Structural & Molecular Biology*, 17(6), pp. 688–695. Available at: <https://doi.org/10.1038/nsmb.1831>.

Bryant, H.E. *et al.* (2005) ‘Specific killing of BRCA2-deficient tumours with inhibitors of poly(ADP-ribose) polymerase’, *Nature*, 434(7035), pp. 913–917. Available at: <https://doi.org/10.1038/nature03443>.

Burzio, L.O., Riquelme, P.T. and Koide, S.S. (1979) ‘ADP ribosylation of rat liver nucleosomal core histones’, *The Journal of Biological Chemistry*, 254(8), pp. 3029–3037.

Chambon, P., Weill, J.D. and Mandel, P. (1963) ‘Nicotinamide mononucleotide activation of new DNA-dependent polyadenylic acid synthesizing nuclear enzyme’, *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 11, pp. 39–43. Available at: [https://doi.org/10.1016/0006-291x\(63\)90024-x](https://doi.org/10.1016/0006-291x(63)90024-x).

Colombo, N. *et al.* (2019) ‘ESMO-ESGO consensus conference recommendations on ovarian cancer: pathology and molecular biology, early and advanced stages, borderline tumours and recurrent disease†’, *Annals of Oncology: Official Journal of the European Society for Medical Oncology*, 30(5), pp. 672–705. Available at: <https://doi.org/10.1093/annonc/mdz062>.

Condamine, T. *et al.* (2016) ‘Lectin-type oxidized LDL receptor-1 distinguishes population of human polymorphonuclear myeloid-derived suppressor cells in cancer patients’, *Science Immunology*, 1(2), p. aaf8943. Available at: <https://doi.org/10.1126/sciimmunol.aaf8943>.

Corrales, L. *et al.* (2016) ‘The host STING pathway at the interface of cancer and immunity’, *The Journal of Clinical Investigation*, 126(7), pp. 2404–2411. Available at: <https://doi.org/10.1172/JCI86892>.

Dawicki-McKenna, J.M. *et al.* (2015) ‘PARP-1 Activation Requires Local Unfolding of an Autoinhibitory Domain’, *Molecular Cell*, 60(5), pp. 755–768. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2015.10.013>.

DiSilvestro, P. *et al.* (2023) ‘Overall Survival With Maintenance Olaparib at a 7-Year Follow-Up in Patients With Newly Diagnosed Advanced Ovarian Cancer and a BRCA Mutation: The SOLO1/GOG 3004 Trial’, *Journal of Clinical Oncology: Official Journal of the American Society of Clinical Oncology*, 41(3), pp. 609–617. Available at: <https://doi.org/10.1200/JCO.22.01549>.

Drew, Y. *et al.* (2024) ‘Olaparib plus Durvalumab, with or without Bevacizumab, as Treatment in PARP Inhibitor-Naïve Platinum-Sensitive Relapsed Ovarian Cancer: A Phase II Multi-Cohort Study’, *Clinical Cancer Research: An Official Journal of the American Association for Cancer Research*, 30(1), pp. 50–62. Available at: <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-23-2249>.

\* Dunn, G.P., Old, L.J. and Schreiber, R.D. (2004) ‘The immunobiology of cancer immunosurveillance and immunoediting’, *Immunity*, 21(2), pp. 137–148. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2004.07.017>.

El-Khamisy, S.F. (2003) ‘A requirement for PARP-1 for the assembly or stability of XRCC1 nuclear foci at sites of oxidative DNA damage’, *Nucleic Acids Research*, 31(19), pp. 5526–5533. Available at: <https://doi.org/10.1093/nar/gkg761>.

*ESMO 2024: ATHENA-COMBO, a phase III, randomized trial comparing rucaparib (RUCa) + nivolumab (NIVO) combination therapy vs RUCa monotherapy as maintenance treatment in patients (pts) with newly diagnosed ovarian cancer (OC)* (no date). Available at: <https://clin.larvol.com/abstract-detail/ESMO%202024/71834482> (Accessed: 20 April 2025).

\* Franzese, O. and Graziani, G. (2022) ‘Role of PARP Inhibitors in Cancer Immunotherapy: Potential Friends to Immune Activating Molecules and Foes to Immune Checkpoints’, *Cancers*, 14(22), p. 5633. Available at: <https://doi.org/10.3390/cancers14225633>.

Frit, P. *et al.* (2014) ‘Alternative end-joining pathway(s): Bricolage at DNA breaks’, *DNA Repair*, 17, pp. 81–97. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.dnarep.2014.02.007>.

Fucikova, J. *et al.* (2019) ‘TIM-3 Dictates Functional Orientation of the Immune Infiltrate in Ovarian Cancer’, *Clinical Cancer Research: An Official Journal of the American Association for Cancer Research*, 25(15), pp. 4820–4831. Available at: <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-18-4175>.

Gasser, S. *et al.* (2005) ‘The DNA damage pathway regulates innate immune system ligands of the NKG2D receptor’, *Nature*, 436(7054), pp. 1186–1190. Available at: <https://doi.org/10.1038/nature03884>.

Gogola, E. *et al.* (2018) ‘Selective Loss of PARG Restores PARylation and Counteracts PARP Inhibitor-Mediated Synthetic Lethality’, *Cancer Cell*, 33(6), pp. 1078–1093.e12. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.ccell.2018.05.008>.

Gonzalez-Flores, A. *et al.* (2014) ‘Interaction between PARP-1 and HIF-2 $\alpha$  in the hypoxic response’, *Oncogene*, 33(7), pp. 891–898. Available at: <https://doi.org/10.1038/onc.2013.9>.

- González-Martín, A. *et al.* (2019) ‘Niraparib in Patients with Newly Diagnosed Advanced Ovarian Cancer’, *New England Journal of Medicine*, 381(25), pp. 2391–2402. Available at: <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1910962>.
- Gottipati, P. *et al.* (2010) ‘Poly(ADP-ribose) polymerase is hyperactivated in homologous recombination-defective cells’, *Cancer Research*, 70(13), pp. 5389–5398. Available at: <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-09-4716>.
- Ha, H.C. and Snyder, S.H. (1999) ‘Poly(ADP-ribose) polymerase is a mediator of necrotic cell death by ATP depletion’, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 96(24), pp. 13978–13982. Available at: <https://doi.org/10.1073/pnas.96.24.13978>.
- Haince, J.-F. *et al.* (2008) ‘PARP1-dependent kinetics of recruitment of MRE11 and NBS1 proteins to multiple DNA damage sites’, *The Journal of Biological Chemistry*, 283(2), pp. 1197–1208. Available at: <https://doi.org/10.1074/jbc.M706734200>.
- Halappanavar, S.S. and Shah, G.M. (2004) ‘Defective control of mitotic and post-mitotic checkpoints in poly(ADP-ribose) polymerase-1(-/-) fibroblasts after mitotic spindle disruption’, *Cell Cycle (Georgetown, Tex.)*, 3(3), pp. 335–342.
- Hassa, P.O. and Hottiger, M.O. (1999) ‘A role of poly (ADP-ribose) polymerase in NF-kappaB transcriptional activation’, *Biological Chemistry*, 380(7–8), pp. 953–959. Available at: <https://doi.org/10.1515/BC.1999.118>.
- Holtlund, J. *et al.* (1980) ‘On the presence of poly(ADP-ribose) polymerase activity in metaphase chromosomes from HeLa S3 cells’, *FEBS letters*, 116(1), pp. 11–13. Available at: [https://doi.org/10.1016/0014-5793\(80\)80517-5](https://doi.org/10.1016/0014-5793(80)80517-5).
- Huang, J. *et al.* (2015) ‘The PARP1 inhibitor BMN 673 exhibits immunoregulatory effects in a Brca1(-/-) murine model of ovarian cancer’, *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 463(4), pp. 551–556. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2015.05.083>.
- Imtiyaz, H.Z. *et al.* (2010) ‘Hypoxia-inducible factor 2 $\alpha$  regulates macrophage function in mouse models of acute and tumor inflammation’, *The Journal of Clinical Investigation*, 120(8), pp. 2699–2714. Available at: <https://doi.org/10.1172/JCI39506>.
- Jamieson, A.M. *et al.* (2002) ‘The role of the NKG2D immunoreceptor in immune cell activation and natural killing’, *Immunity*, 17(1), pp. 19–29. Available at: [https://doi.org/10.1016/s1074-7613\(02\)00333-3](https://doi.org/10.1016/s1074-7613(02)00333-3).

Jensen, R.B., Carreira, A. and Kowalczykowski, S.C. (2010) ‘Purified human BRCA2 stimulates RAD51-mediated recombination’, *Nature*, 467(7316), pp. 678–683. Available at: <https://doi.org/10.1038/nature09399>.

Jiao, S. *et al.* (2017) ‘PARP Inhibitor Upregulates PD-L1 Expression and Enhances Cancer-Associated Immunosuppression’, *Clinical Cancer Research: An Official Journal of the American Association for Cancer Research*, 23(14), pp. 3711–3720. Available at: <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-16-3215>.

Jing, W. *et al.* (2019) ‘STING agonist inflames the pancreatic cancer immune microenvironment and reduces tumor burden in mouse models’, *Journal for Immunotherapy of Cancer*, 7(1), p. 115. Available at: <https://doi.org/10.1186/s40425-019-0573-5>.

Joza, N. *et al.* (2001) ‘Essential role of the mitochondrial apoptosis-inducing factor in programmed cell death’, *Nature*, 410(6828), pp. 549–554. Available at: <https://doi.org/10.1038/35069004>.

Kanai, M. *et al.* (2003) ‘Involvement of poly(ADP-Ribose) polymerase 1 and poly(ADP-Ribosyl)ation in regulation of centrosome function’, *Molecular and Cellular Biology*, 23(7), pp. 2451–2462. Available at: <https://doi.org/10.1128/MCB.23.7.2451-2462.2003>.

Kedar, P.S. *et al.* (2012) ‘Increased PARP-1 association with DNA in alkylation damaged, PARP-inhibited mouse fibroblasts’, *Molecular cancer research: MCR*, 10(3), pp. 360–368. Available at: <https://doi.org/10.1158/1541-7786.MCR-11-0477>.

Komura, N. *et al.* (2020) ‘The role of myeloid-derived suppressor cells in increasing cancer stem-like cells and promoting PD-L1 expression in epithelial ovarian cancer’, *Cancer immunology, immunotherapy: CII*, 69(12), pp. 2477–2499. Available at: <https://doi.org/10.1007/s00262-020-02628-2>.

Konstantinopoulos, P.A. *et al.* (2019) ‘Single-Arm Phases 1 and 2 Trial of Niraparib in Combination With Pembrolizumab in Patients With Recurrent Platinum-Resistant Ovarian Carcinoma’, *JAMA oncology*, 5(8), pp. 1141–1149. Available at: <https://doi.org/10.1001/jamaoncol.2019.1048>.

Krishnakumar, R. *et al.* (2008) ‘Reciprocal binding of PARP-1 and histone H1 at promoters specifies transcriptional outcomes’, *Science (New York, N.Y.)*, 319(5864), pp. 819–821. Available at: <https://doi.org/10.1126/science.1149250>.

Langelier, M.-F. *et al.* (2008) ‘A third zinc-binding domain of human poly(ADP-ribose) polymerase-1 coordinates DNA-dependent enzyme activation’, *The Journal of Biological Chemistry*, 283(7), pp. 4105–4114. Available at: <https://doi.org/10.1074/jbc.M708558200>.

Lavrik, O.I. *et al.* (2001) ‘Photoaffinity Labeling of Mouse Fibroblast Enzymes by a Base Excision Repair Intermediate’, *Journal of Biological Chemistry*, 276(27), pp. 25541–25548. Available at: <https://doi.org/10.1074/jbc.M102125200>.

Lee, M.-H. *et al.* (2012) ‘Poly(ADP-ribosyl)ation of p53 induces gene-specific transcriptional repression of MTA1’, *Oncogene*, 31(49), pp. 5099–5107. Available at: <https://doi.org/10.1038/onc.2012.2>.

Leppard, J.B. *et al.* (2003) ‘Physical and Functional Interaction between DNA Ligase III $\alpha$  and Poly(ADP-Ribose) Polymerase 1 in DNA Single-Strand Break Repair’, *Molecular and Cellular Biology*, 23(16), pp. 5919–5927. Available at: <https://doi.org/10.1128/MCB.23.16.5919-5927.2003>.

\* Li, C. *et al.* (2020) ‘Regulatory T cells in tumor microenvironment: new mechanisms, potential therapeutic strategies and future prospects’, *Molecular Cancer*, 19(1), p. 116. Available at: <https://doi.org/10.1186/s12943-020-01234-1>.

Lin, K.K. *et al.* (2019) ‘BRCA Reversion Mutations in Circulating Tumor DNA Predict Primary and Acquired Resistance to the PARP Inhibitor Rucaparib in High-Grade Ovarian Carcinoma’, *Cancer Discovery*, 9(2), pp. 210–219. Available at: <https://doi.org/10.1158/2159-8290.CD-18-0715>.

Lindahl, T. (1974) ‘An *N*-Glycosidase from *Escherichia coli* That Releases Free Uracil from DNA Containing Deaminated Cytosine Residues’, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 71(9), pp. 3649–3653. Available at: <https://doi.org/10.1073/pnas.71.9.3649>.

Loeffler, P.A. *et al.* (2011) ‘Structural studies of the PARP-1 BRCT domain’, *BMC Structural Biology*, 11(1), p. 37. Available at: <https://doi.org/10.1186/1472-6807-11-37>.

Luo, X. *et al.* (2015) ‘Poly(ADP-ribosyl)ation of FOXP3 Protein Mediated by PARP-1 Protein Regulates the Function of Regulatory T Cells’, *The Journal of Biological Chemistry*, 290(48), pp. 28675–28682. Available at: <https://doi.org/10.1074/jbc.M115.661611>.

*Lynparza* | *European Medicines Agency (EMA)* (2015). Available at: <https://www.ema.europa.eu/en/medicines/human/EPAR/lynparza> (Accessed: 25 February 2025).

Mao, Z. *et al.* (2008) ‘DNA repair by nonhomologous end joining and homologous recombination during cell cycle in human cells’, *Cell Cycle (Georgetown, Tex.)*, 7(18), pp. 2902–2906. Available at: <https://doi.org/10.4161/cc.7.18.6679>.

Miwa, M. *et al.* (1974) ‘Purification and properties of glycohydrolase from calf thymus splitting ribose-ribose linkages of poly(adenosine diphosphate ribose)’, *The Journal of Biological Chemistry*, 249(11), pp. 3475–3482.

Miwa, M. and Sugimura, T. (1971) ‘Splitting of the ribose-ribose linkage of poly(adenosine diphosphate-ribose) by a calf thymus extract’, *The Journal of Biological Chemistry*, 246(20), pp. 6362–6364.

Monk, B.J. *et al.* (2021) ‘ATHENA (GOG-3020/ENGOT-ov45): a randomized, phase III trial to evaluate rucaparib as monotherapy (ATHENA-MONO) and rucaparib in combination with nivolumab (ATHENA-COMBO) as maintenance treatment following frontline platinum-based chemotherapy in ovarian cancer’, *International Journal of Gynecological Cancer: Official Journal of the International Gynecological Cancer Society*, 31(12), pp. 1589–1594. Available at: <https://doi.org/10.1136/ijgc-2021-002933>.

Monk, B.J. *et al.* (2024) ‘LBA30 ATHENA-COMBO, a phase III, randomized trial comparing rucaparib (RUCA) + nivolumab (NIVO) combination therapy vs RUCA monotherapy as maintenance treatment in patients (pts) with newly diagnosed ovarian cancer (OC)’, *Annals of Oncology*, 35, pp. S1223–S1224. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.annonc.2024.08.2269>.

Moore, K. *et al.* (2018) ‘Maintenance Olaparib in Patients with Newly Diagnosed Advanced Ovarian Cancer’, *New England Journal of Medicine*, 379(26), pp. 2495–2505. Available at: <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1810858>.

\* Morales, J. *et al.* (2014) ‘Review of poly (ADP-ribose) polymerase (PARP) mechanisms of action and rationale for targeting in cancer and other diseases’, *Critical Reviews in Eukaryotic Gene Expression*, 24(1), pp. 15–28. Available at: <https://doi.org/10.1615/critreveukaryotgeneexpr.2013006875>.

Murai, J. *et al.* (2012) ‘Trapping of PARP1 and PARP2 by Clinical PARP Inhibitors’, *Cancer Research*, 72(21), pp. 5588–5599. Available at: <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-12-2753>.

Nishizuka, Y. *et al.* (1967) ‘Studies on the polymer of adenosine diphosphate ribose. I. Enzymic formation from nicotinamide adenine dinucleotide in mammalian nuclei’, *The Journal of Biological Chemistry*, 242(13), pp. 3164–3171.

Obermajer, N. *et al.* (2013) ‘Induction and stability of human Th17 cells require endogenous NOS2 and cGMP-dependent NO signaling’, *The Journal of Experimental Medicine*, 210(7), pp. 1433–1445. Available at: <https://doi.org/10.1084/jem.20121277>.

Oliver, A.W. (2004) ‘Crystal structure of the catalytic fragment of murine poly(ADP-ribose) polymerase-2’, *Nucleic Acids Research*, 32(2), pp. 456–464. Available at: <https://doi.org/10.1093/nar/gkh215>.

- Paczulla, A.M. *et al.* (2019) ‘Absence of NKG2D ligands defines leukaemia stem cells and mediates their immune evasion’, *Nature*, 572(7768), pp. 254–259. Available at: <https://doi.org/10.1038/s41586-019-1410-1>.
- Parkes, E.E. *et al.* (2017) ‘Activation of STING-Dependent Innate Immune Signaling By S-Phase-Specific DNA Damage in Breast Cancer’, *Journal of the National Cancer Institute*, 109(1), p. djw199. Available at: <https://doi.org/10.1093/jnci/djw199>.
- Patel, A.G., Sarkaria, J.N. and Kaufmann, S.H. (2011) ‘Nonhomologous end joining drives poly(ADP-ribose) polymerase (PARP) inhibitor lethality in homologous recombination-deficient cells’, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 108(8), pp. 3406–3411. Available at: <https://doi.org/10.1073/pnas.1013715108>.
- Pavani, R. *et al.* (2024) ‘Structure and repair of replication-coupled DNA breaks’, *Science (New York, N.Y.)*, 385(6710), p. eado3867. Available at: <https://doi.org/10.1126/science.ado3867>.
- Poirier, G.G. *et al.* (1982) ‘Poly(ADP-ribosyl)ation of polynucleosomes causes relaxation of chromatin structure.’, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 79(11), pp. 3423–3427. Available at: <https://doi.org/10.1073/pnas.79.11.3423>.
- Poveda, A. *et al.* (2020) ‘Final overall survival (OS) results from SOLO2/ENGOT-ov21: A phase III trial assessing maintenance olaparib in patients (pts) with platinum-sensitive, relapsed ovarian cancer and a BRCA mutation.’, *Journal of Clinical Oncology*, 38(15\_suppl), pp. 6002–6002. Available at: [https://doi.org/10.1200/JCO.2020.38.15\\_suppl.6002](https://doi.org/10.1200/JCO.2020.38.15_suppl.6002).
- Pujade-Lauraine, E., Ledermann, J.A., Selle, F., Gebski, V., Penson, R.T., Oza, A.M., *et al.* (2017) ‘Olaparib tablets as maintenance therapy in patients with platinum-sensitive, relapsed ovarian cancer and a BRCA1/2 mutation (SOLO2/ENGOT-Ov21): a double-blind, randomised, placebo-controlled, phase 3 trial’, *The Lancet. Oncology*, 18(9), pp. 1274–1284. Available at: [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(17\)30469-2](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(17)30469-2).
- Pujade-Lauraine, E., Ledermann, J.A., Selle, F., Gebski, V., Penson, R.T., Vergote, I., *et al.* (2017) ‘Olaparib tablets as maintenance therapy in patients with platinum-sensitive, relapsed ovarian cancer and a BRCA1/2 mutation (SOLO2/ENGOT-Ov21): a double-blind, randomised, placebo-controlled, phase 3 trial’, *The Lancet Oncology*, 18(9), pp. 1274–1284. Available at: [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(17\)30469-2](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(17)30469-2).
- Randall, L.M. *et al.* (2023) ‘Niraparib and dostarlimab for the treatment of recurrent platinum-resistant ovarian cancer: results of a Phase II study (MOONSTONE/GOG-3032)’, *Gynecologic Oncology*, 178, pp. 161–169. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.ygyno.2023.10.005>.

Ray-Coquard, I. *et al.* (2019) ‘Olaparib plus Bevacizumab as First-Line Maintenance in Ovarian Cancer’, *New England Journal of Medicine*, 381(25), pp. 2416–2428. Available at: <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1911361>.

Rottenberg, S. *et al.* (2008) ‘High sensitivity of BRCA1-deficient mammary tumors to the PARP inhibitor AZD2281 alone and in combination with platinum drugs’, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 105(44), pp. 17079–17084. Available at: <https://doi.org/10.1073/pnas.0806092105>.

Rouleau, M. *et al.* (2007) ‘PARP-3 associates with polycomb group bodies and with components of the DNA damage repair machinery’, *Journal of Cellular Biochemistry*, 100(2), pp. 385–401. Available at: <https://doi.org/10.1002/jcb.21051>.

Ruf, A. *et al.* (1996) ‘Structure of the catalytic fragment of poly(AD-ribose) polymerase from chicken.’, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 93(15), pp. 7481–7485. Available at: <https://doi.org/10.1073/pnas.93.15.7481>.

\* Sakaguchi, S. *et al.* (2020) ‘Regulatory T Cells and Human Disease’, *Annual Review of Immunology*, 38, pp. 541–566. Available at: <https://doi.org/10.1146/annurev-immunol-042718-041717>.

Sakai, W. *et al.* (2008) ‘Secondary mutations as a mechanism of cisplatin resistance in BRCA2-mutated cancers’, *Nature*, 451(7182), pp. 1116–1120. Available at: <https://doi.org/10.1038/nature06633>.

Satoh, M.S. and Lindahl, T. (1992) ‘Role of poly(ADP-ribose) formation in DNA repair’, *Nature*, 356(6367), pp. 356–358. Available at: <https://doi.org/10.1038/356356a0>.

Schreiber, V. *et al.* (1992) ‘The human poly(ADP-ribose) polymerase nuclear localization signal is a bipartite element functionally separate from DNA binding and catalytic activity’, *The EMBO journal*, 11(9), pp. 3263–3269. Available at: <https://doi.org/10.1002/j.1460-2075.1992.tb05404.x>.

Seyedin, S.N. *et al.* (2020) ‘Combination Therapy with Radiation and PARP Inhibition Enhances Responsiveness to Anti-PD-1 Therapy in Colorectal Tumor Models’, *International Journal of Radiation Oncology, Biology, Physics*, 108(1), pp. 81–92. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.ijrobp.2020.01.030>.

Sharifi, R. *et al.* (2013) ‘Deficiency of terminal ADP-ribose protein glycohydrolase TARG1/C6orf130 in neurodegenerative disease’, *The EMBO journal*, 32(9), pp. 1225–1237. Available at: <https://doi.org/10.1038/emboj.2013.51>.

Shen, J. *et al.* (2019) ‘PARPi triggers the STING-dependent immune response and enhances the therapeutic efficacy of immune checkpoint blockade independent of BRCAness’, *Cancer research*, 79(2), pp. 311–319. Available at: <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-18-1003>.

Shieh, W.M. *et al.* (1998) ‘Poly(ADP-ribose) Polymerase Null Mouse Cells Synthesize ADP-ribose Polymers’, *Journal of Biological Chemistry*, 273(46), pp. 30069–30072. Available at: <https://doi.org/10.1074/jbc.273.46.30069>.

Shroff, R.T. *et al.* (2018) ‘Rucaparib Monotherapy in Patients With Pancreatic Cancer and a Known Deleterious BRCA Mutation’, *JCO precision oncology*, 2018, p. PO.17.00316. Available at: <https://doi.org/10.1200/PO.17.00316>.

Slade, D. *et al.* (2011) ‘The structure and catalytic mechanism of a poly(ADP-ribose) glycohydrolase’, *Nature*, 477(7366), pp. 616–620. Available at: <https://doi.org/10.1038/nature10404>.

*Specific inhibition of poly adpribose polymerase by thymidine and nicotinamide in HeLa cells - Preiss - 1971 - FEBS Letters - Wiley Online Library* (no date). Available at: <https://febs.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1016/0014-5793%2871%2980524-0> (Accessed: 18 February 2025).

\* Strizova, Z. *et al.* (2023) ‘M1/M2 macrophages and their overlaps – myth or reality?’, *Clinical Science (London, England : 1979)*, 137(15), pp. 1067–1093. Available at: <https://doi.org/10.1042/CS20220531>.

Susin, S.A. *et al.* (1999) ‘Molecular characterization of mitochondrial apoptosis-inducing factor’, *Nature*, 397(6718), pp. 441–446. Available at: <https://doi.org/10.1038/17135>.

Tripathi, C. *et al.* (2014) ‘Macrophages are recruited to hypoxic tumor areas and acquire a pro-angiogenic M2-polarized phenotype via hypoxic cancer cell derived cytokines Oncostatin M and Eotaxin’, *Oncotarget*, 5(14), pp. 5350–5368. Available at: <https://doi.org/10.18632/oncotarget.2110>.

Truxova, I. *et al.* (2018) ‘Mature dendritic cells correlate with favorable immune infiltrate and improved prognosis in ovarian carcinoma patients’, *Journal for Immunotherapy of Cancer*, 6(1), p. 139. Available at: <https://doi.org/10.1186/s40425-018-0446-3>.

\* Veglia, F., Sanseviero, E. and Gabrilovich, D.I. (2021) ‘Myeloid-derived suppressor cells in the era of increasing myeloid cell diversity’, *Nature Reviews. Immunology*, 21(8), pp. 485–498. Available at: <https://doi.org/10.1038/s41577-020-00490-y>.

Wang, L. *et al.* (2022) ‘PARP-inhibition reprograms macrophages toward an anti-tumor phenotype’, *Cell Reports*, 41(2), p. 111462. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2022.111462>.

Xu, J. *et al.* (2021) ‘Phase II trial of veliparib and temozolomide in metastatic breast cancer patients with and without BRCA1/2 mutations’, *Breast Cancer Research and Treatment*, 189(3), pp. 641–651. Available at: <https://doi.org/10.1007/s10549-021-06292-7>.

\* Yi, X.-F. *et al.* (2023) ‘Dual antitumor immunomodulatory effects of PARP inhibitor on the tumor microenvironment: A counterbalance between anti-tumor and pro-tumor’, *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 163, p. 114770. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2023.114770>.

Yin, M. *et al.* (2016) ‘Tumor-associated macrophages drive spheroid formation during early transcoelomic metastasis of ovarian cancer’, *The Journal of Clinical Investigation*, 126(11), pp. 4157–4173. Available at: <https://doi.org/10.1172/JCI87252>.

Yu, S.-W. *et al.* (2002) ‘Mediation of poly(ADP-ribose) polymerase-1-dependent cell death by apoptosis-inducing factor’, *Science (New York, N.Y.)*, 297(5579), pp. 259–263. Available at: <https://doi.org/10.1126/science.1072221>.

Yu, S.-W. *et al.* (2006) ‘Apoptosis-inducing factor mediates poly(ADP-ribose) (PAR) polymer-induced cell death’, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 103(48), pp. 18314–18319. Available at: <https://doi.org/10.1073/pnas.0606528103>.

Yum, S. *et al.* (2021) ‘TBK1 recruitment to STING activates both IRF3 and NF- $\kappa$ B that mediate immune defense against tumors and viral infections’, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 118(14), p. e2100225118. Available at: <https://doi.org/10.1073/pnas.2100225118>.

Zejula | *European Medicines Agency (EMA)* (2017). Available at: <https://www.ema.europa.eu/en/medicines/human/EPAR/zejula> (Accessed: 25 February 2025).

Zhang, Y.-W. *et al.* (2011) ‘Poly(ADP-ribose) polymerase and XPF-ERCC1 participate in distinct pathways for the repair of topoisomerase I-induced DNA damage in mammalian cells’, *Nucleic Acids Research*, 39(9), pp. 3607–3620. Available at: <https://doi.org/10.1093/nar/gkq1304>.

Zheng, X. *et al.* (2020) ‘Spatial Density and Distribution of Tumor-Associated Macrophages Predict Survival in Non-Small Cell Lung Carcinoma’, *Cancer Research*, 80(20), pp. 4414–4425. Available at: <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-20-0069>.

Zhou, L. *et al.* (2024) ‘Beyond monotherapy: An era ushering in combinations of PARP inhibitors with immune checkpoint inhibitors for solid tumors’, *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 175, p. 116733. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2024.116733>.