

Н.В. Макогон, **І.М. Алексєєва**

## Полі(АДФ-рибозо) полімераза-1: фізіологічна та патофізіологічна роль

*Полі(АДФ-рибозо) полімераза (ПАРП) – родина із 18 ферментів, знайдених практично у всіх еукаріотів. ПАРП-1, найбільш розповсюджена ізоформа, активується при розривах ДНК і здійснює посттрансляційну модифікацію білків. Фермент синтезує ланцюги полімеру АДФ-рибози та приєднує їх до гістонів, білків репарації ДНК, транскрипційних факторів тощо. Встановлена важлива роль ПАРП-1 у підтримці стабільності геному. За надмірної активації ферменту проявляється його патологічна роль. ПАРП-1 задіяна в ушкодження тканин і є ключовим медіатором клітинної загибелі за умов окислативного стресу, ішемії й ушкодження ДНК. Участь ПАРП-1 у запаленні пов'язана як з посиленням некрозу, так і з активацією експресії прозапальних генів. Інгібування ПАРП виявляло значний протективний ефект при моделюванні патології серцево-судинної системи, запальних і аутоімунних захворювань. Інгібітори ПАРП також мають протипухлинну дію, вони підвищують чутливість ракових клітин до ДНК-ушкоджувальних агентів. ПАРП-1 видається перспективною терапевтичною мішенню.*

*Ключові слова: ПАРП, стабільність геному, загибель клітин, запалення, інгібітори ПАРП.*

В останні роки зросла увага до полі(АДФ-рибозо) полімерази (ПАРП) – ферменту, який каталізує утворення ланцюгів полі(АДФ-рибози) на білках. Це зумовлено як важливим фізіологічним значенням ПАРП, так і встановленням ролі її гіперактивації в розвитку патологічних процесів, що дало змогу розглядати цей фермент як мішень для терапевтичних заходів.

### ФІЗІОЛОГІЧНА РОЛЬ ПАРП

АДФ-рибозилування є оборотною посттрансляційною модифікацією, яка регулює активність білків-мішеней. При полі-АДФ-рибозилуванні негативно заряджені лінійні або розгалужені молекули полімеру АДФ-рибози (ПАР) приєднуються до акцепторних білків. Така модифікація білків залучена в широкий спектр фізіологічних процесів у клітині, включаючи репарацію ДНК, транскрипцію генів, регулювання клітинного циклу, проліферацію, диференціацію та загибель клітин

[1, 4, 7, 23, 38]. Ферменти родини ПАРП (КФ 2.4.2.30), яка складається з 18 білків з гомологічним каталітичним доменом, здійснюють синтез ПАР із нікотинамідаденіндинуклеотиду (НАД<sup>+</sup>). Значна кількість ПАРП наявна в ядрах, їх активність виявлена в клітинах всіх вищих і більшості нижчих еукаріотів. Крім каталітичного, представники родини ПАРП мають широкий спектр структурних і функціональних доменів, внаслідок чого ензими виконують різні фізіологічні функції [7, 48, 61]. Найкраще досліджений фермент ПАРП-1 є найбільш поширеною ізоформою цієї родини ферментів. Він утворює більше ніж 90 % від усіх ПАР [23]. Встановлено два різні шляхи активації ПАРП-1: 1) залежний від ушкодження ДНК і 2) опосередкований посттрансляційною модифікацією ферменту [6, 68]. Інший представник родини, ПАРП-2, також активується при ушкодженні ДНК і має функціональну та структурну подібність до ПАРП-1 [7, 56, 65].

За катаболізм полімерів АДФ-рибози

© Н.В. Макогон, **І.М. Алексєєва**

відповідають ПАР-глікогідролаза і АДФ-рибозил-ліаза. Швидкий синтез і розщеплення ПАР зумовлюють короткий період напіврозпаду полімеру. Інтенсивний обмін ПАР свідчить про активне регулювання його вмісту в клітині за фізіологічних умов та при клітинному стресі. Деградація починається відразу після ініціації синтезу полімеру [6, 86]. Існує два механізми полі-АДФ-рибозилування білків: 1) ковалентне зв'язування ПАР, що здійснюється ферментом ПАРП і 2) нековалентне приєднання полімерів АДФ-рибози, які утворюються у полі(АДФ-рибозо)-глікогідролазній реакції. ПАРП-1 проявляє 3 види ферментативної активності: ініціація АДФ-рибозилування субстрату, елонгація полімеру та розгалуження полімеру. Молекула ПАРП-1 (113 кДа) включає такі основні функціональні домени: 1) N-кінцевий домен, що зв'язує ДНК, який містить два структурних „цинкових пальці” і розпізнає одно- та двониткові розриви ДНК; 2) центральний домен, що відповідає за білок-білкові взаємодії та за транспорт ферменту через ядерну пору, він здатний до аутомодифікації; 3) C-кінцевий каталітичний НАД<sup>+</sup>-зв'язувальний домен [7, 23]. Більшість фізіологічних субстратів полі-АДФ-рибозилування – ядерні білки, які задіяні в підтриманні архітектури хроматину та метаболізмі нуклеїнових кислот: гістони, негістонові структурні компоненти хроматину, транскрипційні фактори, ядерні ферменти тощо. Вони мають специфічний ПАР-зв'язувальний структурний мотив з 20–26 амінокислот [54]. Полі-АДФ-рибозилування збільшує негативний заряд і розміри акцепторних білків, внаслідок чого змінюються їх функціональні властивості. Одним з основних акцепторів ПАР є сама ПАРП. Приєднання полімерів АДФ-рибози призводить до аутомодифікації ферменту та зниження його активності [7, 23]. Важливим механізмом здійснення функцій ПАРП-1 є рибозилування гістонів, що спричиняє збільшення їх негативного заряду і відштовхування від ДНК. Це призводить до деконденсації полінуклеосом, внаслідок чого ДНК

стає доступною для протеїнів „риштування” та ензимів, задіяних у репарації і метаболізмі ДНК: XRCC1 (від англ. X-ray repair cross-complementing group-1), ДНК-лігази III, ДНК-полімерази- $\beta$ , нуклеаз тощо. Полі-АДФ-рибозильований деконденсований хроматин може знову конденсуватися ферментом, який розщеплює ПАР. Така модуляція структури хроматину (оборотна релаксація) дуже важлива, оскільки від архітектури хроматину залежать процеси транскрипції, реплікації та репарації ДНК [1, 38, 48, 86].

Наявність систем, що сигналізують про ушкодження ДНК, є критичною для підтримання цілісності геному. Фермент ПАРП-1 називають молекулярним сенсором генотоксичного стресу [54]. Його активація та синтез ПАР із НАД<sup>+</sup> – одна з перших реакцій клітини на ушкодження ДНК, викликане оксидативним або нітрозативним стресом, іонізуючою радіацією, ДНК-алкілюючими агентами тощо. ПАРП-1 є інтегральним компонентом мультибілкового комплексу, який здійснює ексцизійну репарацію азотистих основ ДНК; інгібування ПАРП-1 призводить до пригнічення активності цього комплексу [14, 54]. За допомогою „цинкових пальців” фермент розпізнає ділянки розривів ДНК. Дві молекули ПАРП-1 утворюють гомодимери в місцях ушкодження ДНК, що індукує активацію ферментативної активності, синтез і приєднання ланцюгів ПАР до білків [6, 23]. За моделлю Lindahl та співавт. [51], довгі ланцюги ПАР маркують місця розривів ДНК та направляють до цих діянок ферменти репарації. Сама ПАРП-1 підлягає аутомодифікації в результаті приєднання полімерів АДФ-рибози. За певного критичного рівня аутомодифікації комплекс ПАРП-1 з ДНК розпадається й ензим стає неактивним. Репація ДНК відбувається після дисоціації комплексу модифікованої ПАРП-1 – ДНК [51]. Крім того, ПАРП-1 деконденсує хроматин внаслідок рибозилування гістонів H1 і корових гістонів [7, 48]. Це призводить до відкривання фрагмента ДНК у безпосередній близькості до місця ушкодження. Вста-

новлено також, що крім участі у репарації, ПАРП-1 передає сигнал низці білків, які здійснюють координовану відповідь клітини на ушкодження ДНК, зокрема призводить до швидкої акумуляції білка р53, активації його зв'язування з ДНК і транскрипційної активності. Затримка клітинного циклу, індукована активацією р53, забезпечує необхідний для репарації ДНК час [54, 88]. Таким чином, однією з найважливіших фізіологічних функцій ПАРП-1 є участь у підтриманні стабільності і цілісності геному (рисунок). За умов дії факторів, що ушкоджують ДНК, інгібування ПАРП спричинює дефекти репарації ДНК, частіше утворення мікроядерць, анеуплоїдію, генну ампліфікацію та делецію, збільшення плідності клітин і кількості центросом, посилення обміну між ділянками сестринських хроматид [3, 22, 25, 56, 77].

Хоча історично дослідження функцій ПАРП-1 були сфокусовані на репарації ДНК, нині встановлено ключову роль ферменту в транскрипції генів, реплікації ДНК, рекомбінації хромосом, мітозі, проліферації та загибелі клітин. Зазначені функції можуть реалізуватися як у результаті полі-АДФ-рибозилування, так і завдяки прямим протеїн-протеїновим взаємодіям або через активацію клітинних сигнальних систем, що реалізуються за участю ПАРП-1 в ядрі. ПАРП-1 бере участь у транскрипції ДНК і може регулювати її як позитивно, так і негативно в залежності від гена. Методом ДНК-мікрочіп-технології встановлено, що 91 ген (з 11 тисяч) по-різному експресований у фібробластах дикого типу та в ПАРП<sup>-/-</sup> фібробластах; зменшувалася експресія генів, які беруть участь у репарації та реплікації ДНК, регуляції клітинного циклу та мітозі [77]. Одним з механізмів залучення ферменту в процеси транскрипції є зміни архітектури хроматину, його деконденсація за умов рибозилування гістонових білків, що призводить до змін у доступності ДНК [38, 54]. Дослідження локалізації ПАРП-1 показали, що фермент зв'язаний з промоторами більшості генів, які активно транскрибуються. Також виявлено, що ПАРП-1

рибозилує низку транскрипційних факторів або вступає у білок-білкові взаємодії з ними [1, 39, 48]. Встановлена кофакторна активність ПАРП-1 при утворенні преініціювального комплексу, яка стимулює транскрипцію, здійснювану РНК-полімеразою II. У цьому ефекті був задіяний не каталітичний, а ДНК-зв'язувальний домен ферменту [55]. Численними експериментами показано, що ПАРП-1 *in vivo* та *in vitro* посилює транскрипцію, опосередковану факторами сімейства AP-1 (від англ. activator protein 1) і NF-κB (від англ. nuclear factor kappa-B), які є ключовими для імунної та запальної реакцій [8, 17, 34, 37, 64, 94]. Однак є дані, що ПАРП-1 може як активувати, так і пригнічувати транскрипцію деяких NF-κB-залежних генів [15, 34, 94]. Отримані докази, що ПАРП-1 активується не тільки розривами ДНК. Фермент задіяний в опосередкованих полі-АДФ-рибозилуванням сигнальних шляхах, незалежних від ушкодження ДНК [6, 38]. Він бере участь у сигналзалежній регуляції генів як кінцевий пункт стероїдних, ретиноїдних, нейрогенних та інших гормональних сигнальних шляхів [48], наприклад, він є інгібітором транскрипції, залежної від ядерного ретиноїдного X-рецептора та рецептора тиреоїдного гормону [57]. Таким чином, механізми, за якими ПАРП-1 змінює транскрипцію генів за відсутності ушкодження ДНК, різноманітні та залежать від конкретних генів. Однак при наявності розривів ДНК працює універсальний механізм полі-АДФ-рибозилування базальних транскрипційних факторів, яке призводить до загального пригнічення транскрипції, що важливо для запобігання експресії ушкоджених генів [23]. Згідно з іншою моделлю, в умовах генотоксичного стресу ПАРП-1 релокалізується з промоторів генів у місце розривів ДНК, що могло б пояснити значне зменшення транскрипції, яке спостерігається у відповідь на ушкодження ДНК [48]. Можливо також, що деякі клітинні сигнальні шляхи можуть використовувати регульоване видалення ПАРП-1 від промоторів для інгібування експресії генів [48].

Встановлена пряма активна роль ПАРП-1 у процесі реплікації ДНК. Цей фермент задіяний в мультипротейному комплексі – ДНК-синтесомі. ПАРП-1 модулює активність синтесомі, здійснюючи полі-АДФ-рибозилування її білків, що показано для такого важливого білка синтесомі, як PCNA (від англ. proliferating cell nuclear antigen) [23, 86]. Було виявлено, що полі-АДФ-рибозилування впливає на старіння клітин *in vitro* через регуляцію теломеразної активності та довжини теломер. Охарактеризовано окремих тип ферментів з родини ПАРП – танкираз, які локалізуються в теломерах і рибозилують фактори, що регулюють довжину теломер. Найбільш досліджені танкирази 1 і 2 є позитивними регуляторами довжини теломер у клітинах людини. Надекспресія танкирази-1 сприяє елонгації теломер; вважають, що фермент входить в теломеразний комплекс і регулює доступність теломеразу для цього комплексу [19, 40, 78]. У клітинах ПАРП<sup>-/-</sup> мишей посилювалася нестабільність хромосом і значно зменшувалася довжина теломер порівняно з контролем [22]. Враховуючи роль ПАРП у стабілізації геному та регуляції довжини теломер, виникає питання, чи впливає цей фермент на тривалість життя. Був виявлений сильний позитивний кореляційний зв'язок між активністю ПАРП у мононуклеарах крові та тривалістю життя у 13 видів ссавців, які живуть від 4 до 120 років [32]. У нокаутних за геном ПАРП-1 мишей зменшується тривалість життя, пришвидшується старіння з більш інтенсивним підвищенням маси тіла, особливо після 20 міс життя, прискорюється статеве дозрівання та більш виражені вікові порушення естральної функції [3]. Зниження експресії ПАРП може бути раннім фактором, який бере участь у патогенезі раку та пов'язаних із віком захворювань [3, 6, 77]. Наведені дані свідчать про досягнутий значний прогрес у встановленні фізіологічної ролі полі-АДФ-рибозилування, однак для отримання цілісної картини участі ПАРП в життєдіяльності клітини потрібні подальші

глибокі дослідження. Це особливо стосується питання, як інтегруються та контролюються в клітинах численні різноманітні функції цього ферменту.

Конститутивний рівень активності ПАРП-1 низький. При розривах ниток ДНК (за умов дії мітогенних стимулів або генотоксичного стресу) активність може збільшуватися у 10–500 разів залежно від інтенсивності ушкодження [23, 38]. При незначному ушкодженні ПАРП-1 призводить до репарації ДНК та виживання клітин. При значній кількості розривів ДНК спостерігається надмірна активація ПАРП-1 і починає проявлятися патологічна роль ферменту (див. рисунок).

## РОЛЬ ПАРП У ЗАГИБЕЛІ КЛІТИН

Численні дані свідчать, що ПАРП-1 відіграє критичну роль у загибелі клітин в умовах ушкодження ДНК при оксидативному та нітрозативному стресі, ексайтотоксичності, ішемії тощо. Це показано як для некрозу, так і для умов запрограмованої загибелі – апоптотичної (залежної від каспаз), незалежної від каспаз та аутофагічної [12, 24, 33, 42, 89]. Суїцидальний шлях, викликаний надмірною активацією ПАРП-1, був закріплений еволюцією багатоклітинних організмів, оскільки дає змогу видаляти клітини, що зазнали значного генотоксичного стресу і внаслідок цього мають ризик неопластичної трансформації [30].

Дослідженнями з використанням інгібіторів ПАРП-1 і нокаутних за геном ПАРП-1 мишей встановлено участь цього ферменту в некротичній загибелі клітин [5, 33, 58, 66, 82]. Було запропоновано так звану „суїцидальну” модель, згідно з якою при впливі на клітину значної кількості чинників, що ушкоджують ДНК, відбувається гіперактивнація ПАРП, підвищення синтезу ПАР і, відповідно, зменшення НАД<sup>+</sup> [10]. Для ресинтезу НАД<sup>+</sup> використовується АТФ, пул якого в клітинах, таким чином, виснажується. Це може викликати енергетичну катастрофу,



порушення функцій клітин та їх некротичну загибель. На багатьох типах клітин показано, що при оксидативному стресі, викликаному перекисом водню ( $H_2O_2$ ) та іншими чинниками, підвищувалася активність ПАРП і значно знижувався вміст внутрішньоклітинних  $НАД^+$  і АТФ. При цьому клітини гинули за некротичним шляхом, а інгібування ферменту зменшувало загибель (некроз або некроз і апоптоз залежно від експериментальних умов) [13, 18, 33, 66, 84]. Було доведено, що виснаження цитозольного  $НАД^+$  є і необхідним і достатнім для ПАРП-1-опосередкованої загибелі деяких типів клітин [5, 18]. Однак нині існують дані, які суперечать вищенаведеної „суїцидальній” гіпотезі. Виснаження  $НАД^+$  не обов'язково є головним фактором у ПАРП-1-індукованій загибелі. Активація ПАРП-1 і утворення полімерів АДФ-рибози можуть здійснювати пряму дію на мітохондрії, призводячи до їх дисфункції, зменшення синтезу АТФ і до некрозу клітин [30, 61, 89]. Один із встановлених механізмів впливу на мітохондрії включає катаболізм синтезованих ПАРП-1 полімерів АДФ-рибози з утворенням АМФ, що зменшує синтез АТФ (через конкуренцію АМФ з АДФ за зв'язування з АТФ/АДФ транслоказою) [30]. Питання про те, чи є виснаження клітинного  $НАД^+$  необхідною і достатньою подією для здійснення ПАРП-1-опосередкованої загибелі, лишається дискусійним [5, 24, 30]. Nagaz та співавт. [36] зауважують, що вміст  $НАД^+$  в мітохондріях не знижується за умов дії деяких генотоксичних стресорів, тож потрібно визначати субклітинний, а не тотальний його вміст. Внесок реакцій полі-АДФ-рибозилування і, відповідно, ПАРП-1 у некротичну загибель залежить від ушкоджувального чинника, типу клітин та їх метаболічного статусу. Ці реакції важливі для опосередкованої оксидативним і нітрозативним стресом загибелі епітеліальних, ендотеліальних і деяких видів нейрональних клітин [5, 13, 33, 44, 58]. Водночас некроз гепатоцитів при їх оксидативному ацетамінофеніндукованому ураженні не за-

лежить від ПАРП [20]. Донедавна вважалося, що некроз є пасивним і неконтрольованим процесом, який, на відміну від апоптозу, не може бути модульованим фармакологічними засобами. Однак дослідження останніх років доводять, що інгібування або відсутність ПАРП-1 забезпечують значну протекцію при моделюванні таких захворювань, як інсульт, інфаркт міокарда, аутоімунний гломерулонефрит тощо, пов'язаних з переважно некротичним шляхом клітинної загибелі [44, 68, 69, 82, 86].

Нині активно вивчається участь ПАРП-1 в апоптотичній загибелі. В культурах багатьох видів клітин на ранніх стадіях апоптозу спостерігалася тимчасова сильна активація ПАРП-1 з накопиченням ПАР [86, 87]. Рання активація ПАРП-1 може брати участь у апоптотичному каскаді, наприклад, внаслідок регуляції p53 або сприяння виходу АІФ (від англ. apoptosis inducing factor) з мітохондрій [87, 88, 89]. Вважають, що полі-АДФ-рибозилування протеїнів хроматину на ранніх стадіях апоптозу сприяє міжнуклеосомній фрагментації ДНК за рахунок збільшення доступу ДНК для ендонуклеаз. Однак надалі апоптотичні ферменти каспази здійснюють протеолітичне розщеплення ПАРП-1 у N-термінальній частині молекули. Внаслідок цього фермент інактивується, що запобігає репарації ДНК при розвитку апоптозу [86]. Апоптоз і некроз, які вважалися раніше альтернативними шляхами, нині розглядаються як крайні прояви клітинної загибелі, між якими існує багато проміжних форм і стадій. Шлях апоптозу чи некрозу визначається метаболічним статусом клітин, типом і силою ушкодження. Відомо, що завершення апоптозу цілком залежить від наявності енергетичних ресурсів, а вміст  $НАД^+$  і АТФ розглядається як важлива детермінанта шляху загибелі. АТФ є необхідним для активації каспаз, конденсації хроматину, фрагментації ДНК, гідролізу макромолекул, фрагментації ядра, транслокації фосфатидилсерину та формування апоптотичних тілець. При

недостатності енергетичних ресурсів тип клітинної загибелі перемикається з апоптозу на некроз. Тому ПАРП-1, який використовує НАД<sup>+</sup> як субстрат, може бути молекулярним „перемикачем” між апоптозом і некрозом [66, 86, 87]. Показано, що вилучення гена ПАРП-1 або підтримка клітинного енергетичного рівня інгібуванням цього ферменту переводить клітинну загибель з некротичного на апоптотичний шлях [33, 66, 82, 84]. Оскільки протеоліз ПАРП-1 запобігає виснаженню АТФ, розщеплення ПАРП-1 каспазами – це механізм захисту від опосередкованого активацією цього ферменту виснаження НАД<sup>+</sup> і АТФ, який виник і еволюційно закріпився у еукаріотів [23].

Низкою досліджень доведено наявність окремої ПАРП-1-залежної загибелі клітин, яка має деякі морфологічні риси, подібні до апоптозу, однак не залежить від активації апоптотичних ферментів – каспаз [5, 24, 36, 89]. Хоча такий тип загибелі більшою мірою досліджений на клітинах центральної нервової системи, є дані, що він існує і в інших органах. Встановлено посилення «незалежного від каспаз апоптозу» при гіперактивації ПАРП-1 і пригнічення такої загибелі в клітинах нокаутних за ПАРП-1 мишей або при інгібуванні ферменту [61, 92]. Синтезований ПАРП полімер АДФ-рибози є потужним сигналом смерті, його дія опосередковується АІФ. АІФ – еволюційно консервативний флавопротеїн, локалізований у міжмембранному просторі мітохондрій; він може як спричиняти клітинну загибель, так і проявляти протективні функції. В експериментах з виключенням гена АІФ методом РНК-інтерференції, а також із застосуванням анти-АІФ-антитіл доведено, що цей фактор є ключовим для ПАРП-1-залежної загибелі [61, 89, 92]. На культурах астрцитів було встановлено, що виснаження НАД<sup>+</sup> є ключовою подією для інгібування гліколізу, вивільнення АІФ і ПАРП-1-опосередкованої загибелі нейронів, а відновлення пулу НАД<sup>+</sup> у клітинах має нейропротективну дію [5]. ПАРП-1 призводить, за думкою Alano та співавт. [5], як

до виснаження НАД<sup>+</sup>, так і до вивільнення АІФ, але причинно-наслідкові відношення цих двох подій потребують детальних досліджень. Припускається, що утворені при надмірній активації ПАРП-1 вільні полімери ПАР або полі-АДФ-рибозильовані акцепторні білки транспортуються з ядер у цитозоль і далі в мітохондрії, де вони взаємодіють з АІФ, викликаючи його вихід з мітохондрій [61, 92]. Механізми ПАРП-1-індукованого вивільнення АІФ та його транслокації в ядро досліджені недостатньо. В ці процеси можуть бути залучені продукція активних форм кисню (АФК), відкриття мітохондріальних пор, проапоптотичний білок сімейства Bcl-2-Вах, кальційзалежні цистеїнові протеази кальпаїни [12, 36, 61]. Транслокація АІФ в ядра призводить до конденсації хроматину та фрагментації ДНК. Механізм цього процесу не встановлено, однак припускають залучення активації ендонуклеаз [12, 89]. Клітинну загибель, опосередковану ПАРП-1 і вивільненням АІФ з мітохондрій, запропоновано називати „партанатоз” (parthanatos, par – від poly-ADP-ribose і thanatos – уособлення смерті у грецькій міфології) [36]. При партанатозі фосфатидилсерин транслокується на зовнішній бік плазматичної мембрани, знижується мембранний потенціал мітохондрій, спостерігається конденсація хроматину та фрагментація ДНК на великі частини – близько 50 тисяч пар нуклеотидів. На відміну від апоптозу, при цьому не утворюються малі фрагменти ДНК і не формуються апоптотичні тільця. Інгібітори каспаз не запобігають партанатозу [89, 92]. Хоча при цій ПАРП-1-опосередкованій загибелі може порушуватися мембранна цілісність, але набряку клітин, подібного до некротичного, не спостерігається [92]. Інша група дослідників класифікує клітинну загибель, яка спричиняється uszkodженням ДНК з наступною активацією ПАРП-1, кальпаїнів і АІФ і супроводжується втратою цілісності плазматичної мембрани, як АІФ-опосередкований програмований некроз [12]. Викликана активацією ПАРП-1 АІФ-залежна клітинна загибель відрізняється також і від аутофагіч-

ної, за якої формуються аутофагічні вакуолі і відбувається лізосомальна деградація [89].

Нині активно досліджується залучення ПАРП-1 у процеси аутофагії, яка відіграє важливу роль у фізіологічних і патологічних процесах, у тому числі при оксидативному стресі, сприяючи або виживанню, або загибелі клітин. Встановлено, що аутофагія бере участь у незалежній від каспаз загибелі деяких типів клітин, індукованій АФК. На інших експериментальних моделях, навпаки, виявлено її цитопротективну роль при АФК-індукованій загибелі [36, 41, 42, 91]. Було показано, що активація ПАРП-1 передує утворенню аутофагічних тілець у макрофагах [91]. Пригнічення аутофагії інгібувало ПАРП-опосередковану загибель цих клітин. З іншого боку, блокування активації ПАРП-1 (хімічними інгібіторами або за допомогою РНК-інтерференції) послаблювало  $H_2O_2$ -індуковану аутофагію в культивованих клітинах. Сигнальний шлях, який пов'язує активацію ПАРП-1 і посилення аутофагії за даних умов, включає в себе АМФ-активовану протеїнкіназу [42]. Запропоновано гіпотезу щодо подвійної ролі ПАРП-1 у модуляції аутофагії та некрозу при оксидативному стресі та ушкодженні ДНК: з одного боку, гіперактивація ПАРП-1 спричиняє виснаження АТФ і некротичну загибель, а з іншого – посилює аутофагію, що сприяє виживанню клітин. Вирішення питання – життя або смерть клітини – залежить від балансу між аутофагією та некрозом, опосередкованими різними шляхами [41].

Відповідно до концепції Virag і Szabo [86], є три основні шляхи для клітин з ушкодженням ДНК залежно від інтенсивності генотоксичного впливу. Помірні впливи призводять до активації ПАРП-1, що подає сигнал до затримки клітинного циклу і до репарації ДНК. За таких умов клітина виживає без ризику передачі мутантних генів (див. рисунок). Більш інтенсивне ушкодження ДНК запускає апоптоз, при якому каспази розщеплюють ПАРП-1, щоб фермент не активувався у відповідь на фрагментацію ДНК

і не зменшував енергетичні ресурси клітини. Однак за надмірної активації ПАРП-1 виснажуються  $НАД^+$  та АТФ, клітини гинуть за некротичним шляхом. Крім того, активація ПАРП-1 може запускати партанатоз, особливий ПАРП-1-опосередкований, залежний від АІФ шлях клітинної загибелі [36, 89].

## РОЛЬ ПАРП В АКТИВАЦІЇ ЗАПАЛЬНИХ РЕАКЦІЙ

При багатьох захворюваннях за первинним ушкодженням тканин виникають хвилі сигналів, які призводять до запальної відповіді, що може значно обтяжувати ураження. Нині вважають, що ПАРП-1 відіграє суттєву роль у розвитку цієї другої фази [46, 69, 86]. Існує два основні шляхи участі ПАРП-1 у запальних процесах (див. рисунок): 1) через ПАРП-1-опосередковану дисфункцію або загибель клітин; 2) через експресію цитокінів та інших медіаторів запалення [7, 34, 48, 69, 87].

Важливим механізмом впливу ПАРП-1 на розвиток запалення є пронекротична дія ферменту: його гіперактивація викликає перемикання загибелі з апоптозу на некроз. Партанатоз також часто супроводжується втратою цілісності плазматичної мембрани, що характерно для некрозу. Існує припущення, що помірний ПАРП-1-опосередкований некроз може бути протективним для організму. Він викликає обмежене запалення, яке чинить стимулювальний ефект на імунну систему. Це корисно для захисту від деяких вірусних інфекцій або навіть раку. Крім того, активація ПАРП-1 спричиняє загибель клітин із значними ушкодженнями ДНК і сприяє їх видаленню внаслідок рекрутування фагоцитів. Однак посилення некрозу є патогенетичним фактором при багатьох захворюваннях [12, 23, 86]. Некротичний лізис викликає запалення кількома шляхами: 1) фагоцити при поглинанні залишків некротичних клітин проявляють прозапальну та імуностимулювальну дію. При фагоцитозі апоптотичних клітин, як правило, інгібуються прозапальні й утворюються антизапальні цитокіни та

ейкозаноїди [29, 49, 75]; 2) клітини, які гинуть шляхом некрозу, можуть провокувати запалення через активну секрецію власних запальних молекул [49, 75]; 3) при некротичному протеолізі білків можуть утворюватися аутоантигени. Молекули та клітинний дебрис поглинаються антиген-представляючими клітинами, які здатні провокувати імунне запалення та аутоімунну відповідь [29]; 4) при некрозі вивільняються такі біорегуляторні прозапальні молекули, як еластаза, мієлопероксидаза тощо, в тому числі білок HMGB1 (від англ. high-mobility group box 1). Це негістоновий ядерний протеїн, який діє як потужний запальний цитокін. При надходженні в позаклітинний простір він виступає як сигнал для оточуючих тканин про некротичний статус клітин [29, 38, 75].

Інший механізм участі ПАРП-1 у розвитку запалення пов'язаний з його роллю в реалізації відповідних сигнальних шляхів. ПАРП-1 *in vivo* та *in vitro* посилює транскрипцію генів, опосередковану транскрипційними факторами сімейств NF- $\kappa$ B, AP-1 і NF $\kappa$ B (від англ. Nuclear factor- $\kappa$ B-inducible factor  $\alpha$ ), які відіграють ключову роль у запальній відповіді та розвитку імунних реакцій і є визначальними в патогенезі багатьох захворювань [46, 85, 87, 94]. Знайдено паралелізм активації ПАРП-1 і NF- $\kappa$ B при запальних і імунних процесах. ПАРП-1 є транскрипційним корегулятором NF- $\kappa$ B в сигнальних шляхах від Toll-подібних рецепторів [37, 48]. Фармакологічне інгібування або відсутність гена ПАРП-1 зменшували запалення, експресію NF- $\kappa$ B-залежних генів і синтез відповідних молекул: інтерлейкінів IL-1, IL-6, IL-8, фактора некрозу пухлин альфа (ФНП- $\alpha$ ), інтерферону  $\gamma$  (ІФН- $\gamma$ ); молекул адгезії та хемокінів (ICAM-1 – від англ. Intercellular adhesion molecule-1, P-селектину, E-селектину, MIP-1 – Macrophage inflammatory protein-1, MIP-2, MCP-1-monocyte chemoattractant protein-1); індукцибельних ферментів (iNOS та циклооксигенази), матриксних металопротеїназ. Це було показано на експериментальних

моделях системної ендотоксемії [52, 64, 85], аутоімунного енцефаломієліту [17, 76], аутоімунного нефриту [44], ревматоїдного артрити [31], контактної гіперчутливості [9], хронічного коліту [43], при ішемії–реперфузії печінки [45] та мозку [47], при атеросклерозі у мишей [35, 66], а також на багатьох типах клітин у культурі [13, 15, 34, 62, 90]. Отримані дані дали змогу встановити, що ПАРП-1 є транскрипційним коактиватором NF- $\kappa$ B та зв'язувальною ланкою між енергетичним метаболізмом і запаленням [37, 48, 64]. При ушкодженні ДНК клітин за умов оксидативного та нітрозативного стресу активується як ПАРП-1, так і NF- $\kappa$ B. Це сприяє посиленню синтезу, поряд з іншими прозапальними чинниками, ФНП- $\alpha$ . Цей цитокін у свою чергу активує NF- $\kappa$ B (див. рисунок). Наслідком такого зворотного зв'язку є значне посилення запалення [46, 64]. Ще один, пов'язаний з ПАРП-1, прозапальний позитивний зворотний зв'язок здійснюється в результаті NF- $\kappa$ B-опосередкованої експресії iNOS, що поглиблює оксидативний та нітрозативний стрес клітин та призводить у свою чергу до активації ПАРП-1 і NF- $\kappa$ B [6, 13, 69].

Незважаючи на значні зусилля, не вироблено єдиної концепції, як саме ПАРП-1 здійснює модуляцію NF- $\kappa$ B-опосередкованої транскрипції генів – внаслідок полі-АДФ-рибозилування білків, прямої білок-білкової взаємодії чи за іншим механізмом [1, 6, 34, 37, 51, 62]. Можливо, що в регуляції експресії різних генів задіяні різні механізми. Є дані, що аутомодифікація ПАРП-1 посилює формування комплексу NF- $\kappa$ B з ДНК та підвищує NF- $\kappa$ B-опосередковану транскрипцію [62]. Останнім часом показана участь ПАРП-1 в активації прозапальних сигнальних каскадів, включаючи JNK та p38 MAP-кінази (від англ. c-jun N-terminal kinases, p38-Mitogen-activated protein kinases), а також, крім NF- $\kappa$ B, інших прозапальних транскрипційних факторів: AP-1, Sp-1 (від англ. Specificity Protein 1), Oct-1 (від англ. Octamer transcription factor-1) та STAT-1 (від англ. Signal transducer and



activator of transcription-1) [8, 17, 34, 85, 94]. Таким чином, пригнічення активації ПАРП-1 послаблює патологічний процес значною мірою через зменшення транскрипції прозапальних медіаторів. На сьогодні визначено також, що антизапальна дія інгібіторів ПАРП-1 може бути пов'язана з активацією протективних кіназних каскадів. Дані, отримані на ПАРП-1<sup>-/-</sup>-мишах, свідчать, що цей фермент залучений у патогенез ішемії–реперфузії міокарда не тільки внаслідок посилення активації прозапального AP-1, але й через пригнічення активації транскрипційного фактора HSF-1 (від англ. Heat shock factor-1) і, відповідно, експресії кардіопротективного білка HSP70 (від англ. heat shock protein) [94]. Інгібітори ПАРП-1 за умов септичного шоку зменшують запалення, вірогідно, внаслідок активації фосфатидилінозитол-3-кіназа/Akt шляху, який послаблює активацію прозапальних транскрипційних факторів [85]. За ішемії мозку у щурів інгібітор ПАРП 3-амінобензамід (3-ABA) зменшував експресію прозапальних цитокінів і водночас посилював сигнали, направлені на виживання клітин (фосфорилування протеїнкінази Akt і GSK-3 – Glycogen synthase kinase 3), що сприяло зменшенню зони інфаркту та клітинної загибелі [47].

Встановлено ключову роль ПАРП-1 в активації клітин-ефекторів запалення та їх міграції в ушкоджені тканини, зокрема, завдяки посиленню експресії генів молекул міжклітинної адгезії та хемокінів [35, 68, 86]. Показано зменшення лейкоцитарної інфільтрації уражених тканин у нокаутних за геном ПАРП-1 мишей та при дії інгібіторів ферменту за умов ішемії–реперфузії міокарда [68], печінки [45, 82], при ушкодженні легенів [13, 21], за умов зимозан- та карагенаніндукованого запалення та множинного ушкодження органів [80], при ревматоїдному артриті [31], гострому панкреатиті [60], на моделі контактної гіперчутливості [9]. Слід зауважити, що пригнічення інфільтрації лейкоцитів розглядається як один із важливих механізмів

протективної дії інгібіторів ПАРП. Оскільки АФК, що виділяються рекрутованими у вогнище запалення лейкоцитами, є активаторами ПАРП-1 і спричиняють посилення експресії молекул адгезії та iNOS, інгібітори ПАРП-1 переривають це порочне коло, зменшують вміст клітин-ефекторів запалення, утворення ними АФК і похідних оксиду азоту та послаблюють запальний процес [6, 52, 60, 80]. Інгібітори ПАРП-1 за деяких експериментальних умов зменшують міграцію нейтрофілів у вогнище запалення внаслідок змін метаболічного/функціонального статусу васкулярного ендотелію [80]. На моделі атеросклерозу було встановлено, що потужний інгібітор ПАРП-1 TIQ-A мав антиатеросклеротичну дію, значно знижував міграцію CD68<sup>+</sup>-макрофагів у бляшки і, відповідно, кількість пінистих клітин [35]. Такий ефект був пов'язаний із суттєвим зменшенням MCP-1 і молекул адгезії ICAM-1, що може бути зумовлене різким зниженням експресії ФНП-α.

ПАРП-1 задіяна в патогенезі аутоімунних захворювань і розвитку імунного запалення, що було встановлено на моделях різних патологічних процесів (експериментальний аутоімунний енцефаломієліт, запальна хвороба кишечника, експериментальний ревматоїдний артрит, діабет 1-го типу, імунне ушкодження яєчників, контактна гіперчутливість уповільненого типу); була показана участь ПАРП-1 в T-helper-1 (Th1)-опосередкованій аутореактивній відповіді [9, 17, 31, 43, 53]. ПАРП-1 підтримує транскрипційну активацію лімфоцитів [17]. На моделі астми у мишей показано, що ПАРП-1 активується у відповідь на введення антигена, а інгібування ферменту попереджує інфільтрацію клітин запалення в легені при дії алергену, що пов'язано із модуляцією активності NF-κB [13]. За умов колагеніндукованого артрити у мишей інгібування ПАРП регулювало експансію аутореактивних Th1-клітин і зменшувало кількість аутоантитіл проти колагену. При цьому посилювався вміст антизапального IL-10 [31]. При експериментальному аутоімунному

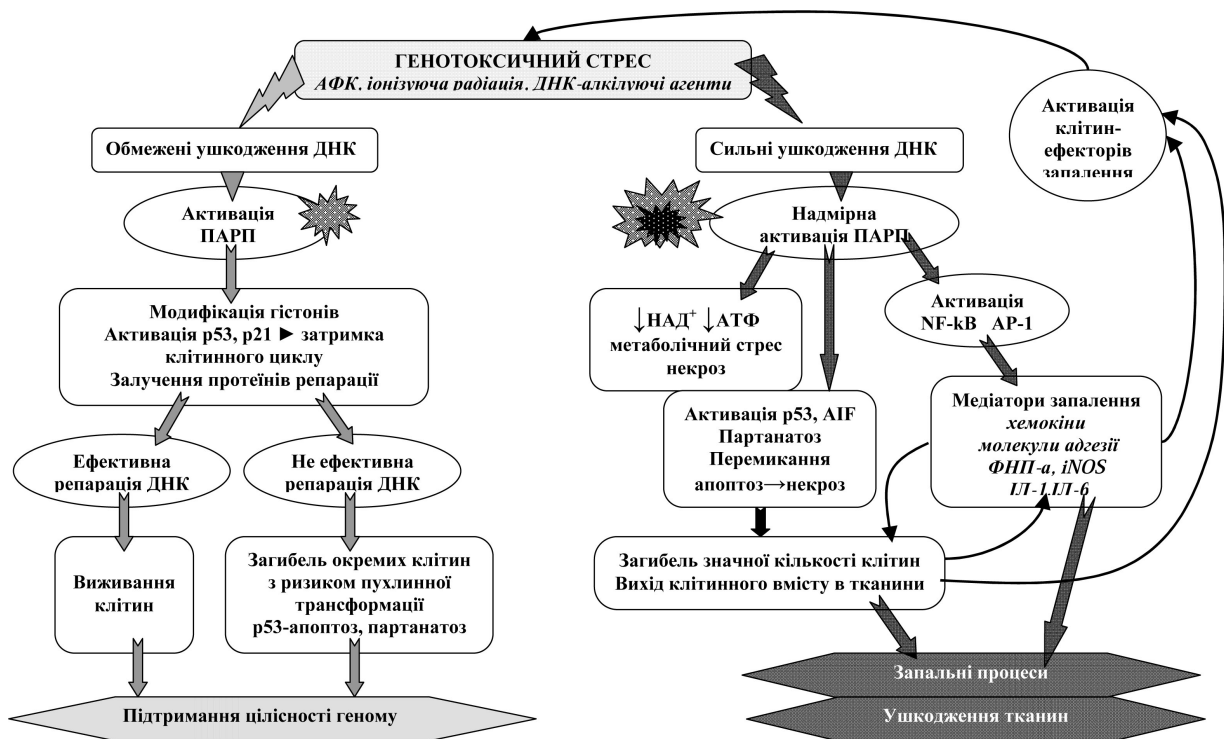
енцефаломієліті у мишей і шурів показано посилення полі-АДФ-рибозилування як у тканині центральної нервової системи, так і в Т- та В-зонах лімфовузлів імунізованих тварин, що свідчить про залучення ПАРП-1 в цей патологічний процес [17, 76]. Різні інгібітори ПАРП-1 покращували прояви цієї хвороби, зменшували нейроімунну інфільтрацію, пригнічували в культивованих лімфоцитах ДНК-зв'язувальну активність NF-κB та AP-1 і транскрипцію прозапальних цитокінів Th1-типу. Спостерігався зсув імунної відповіді від фенотипу прозапальних Th1-клітин до антизапальних Th2-клітин [17, 28, 76]. За таких умов спостерігалася активація мікроглії, макрофагів і астроцитів через шлях, пов'язаний з Toll-подібним рецептором-2 і ПАРП-1. Інгібування ферменту запобігало демієлінізації та втраті аксонів [28].

На підставі аналізу власних і літературних даних Virág і Szabó [86] запропонували мо-

дель, згідно з якою ПАРП-1 займає критичну позицію у позитивному зворотному зв'язку, що посилює запалення. Оксидативний, нітрозативний стрес клітин призводить до ушкодження ДНК. У результаті активується ПАРП-1, що може спричинити некротичну загибель і потенціює експресію NF-κB та AP-1-залежних прозапальних чинників. Це викликає міграцію активованих клітин-ефекторів запалення в ушкоджену тканину, що призводить до подальшого посилення оксидативного та нітрозативного стресу та замикає позитивний зворотний зв'язок (див. рисунок).

### ІНГІБІТОРИ ПАРП-1 У ЛІКУВАННІ ЗАХВОРЮВАНЬ

ПАРП-1 може як попереджувати, так і посилювати патологічний процес. Функція ферменту є критичною для підтримання



Фізіологічна (за умов помірного генотоксичного стресу) та патогенетична (за умов сильного ушкодження ДНК) роль ПАРП-1. Весь спектр функцій ПАРП-1 див. у тексті статті

стабільності геному. Однак надмірна активація PARP-1 викликає некроз або партанатоз, активує запальні сигнальні шляхи, що посилює вторинне ушкодження тканин. Підвищення активності PARP-1 було виявлено при різних захворюваннях у людини: в лейкоцитах при інфаркті та ішемії–реперфузії міокарда, в мононуклеарах крові пацієнтів з множинним склерозом, у тканині серця при септичному шоці, в тубулярних клітинах при ішемії–реперфузії нирок, в атеросклеротичних бляшках, у тканині мозку при нейродегенеративних захворюваннях та травмі мозку, причому рівень активації ферменту корелював із ступенем ураження [28, 67, 69, 79, 83]. У сироватці крові пацієнтів з аутоіммунними захворюваннями (ревматоїдним артритом, системним червоним вовчаком, виразковим колітом, хворобою Крона, хворобою Альцгеймера) виявлено антитіла проти PARP-1, роль яких лишається нез'ясованою [69].

*Перспективи застосування інгібіторів PARP при запальних, дегенеративних та аутоіммунних хворобах.* З огляду на необхідність пошуку ефективних шляхів лікування захворювань важливо встановити, які патобіохімічні процеси в клітинах є ключовими і можуть бути мішенями для терапевтичних впливів. Таким визначальним первинним процесом при розвитку багатьох захворювань мозку Nagraz та співавт. [36] вважають PAR-опосередкований клітинний сигналінг. Згідно з чисельними даними PARP-1 визнано ключовим медіатором клітинної загибелі за умов дії цитотоксичних факторів, ішемії та оксидативного стресу [11, 26, 81, 86, 87]. Оскільки цей фермент є також регулятором залежної від NF- $\kappa$ B запальної відповіді, його вважають центральним інтегратором метаболічних і запальних сигналів, який бере участь у багатьох патологічних процесах та старінні [6, 48]. На модельних дослідженнях встановлено визначальну патогенетичну роль PARP-1 при деяких захворюваннях нервової та серцево-судинної систем, кишечника та нирок, при діабеті та його ускладненнях,

аутоіммунних хворобах, системному запаленні [6, 11, 24, 26, 46, 68, 81, 86, 87]. Видалення гена або інгібування PARP-1 переривало деструктивні прозапальні зворотні зв'язки та призводило до запобігання і послаблення патологічного процесу. Такі результати були отримані на моделях ішемічного та травматичного ураження мозку [11, 47], хвороби Паркінсона [24], при стрептозотоциновому діабеті [50, 52, 81], аутоіммунному нефриті [44] та ішемічному ушкодженні нирок [26, 67], при хронічному запаленні кишечника [43], колагеніндукованому артриті [31], при експериментальному алергічному енцефаломієліті – моделі розсіяного склерозу [17, 28, 76], за умов контактної гіперчутливості [9], на моделях септичного та геморагічного шоку [64, 68, 85], при експериментальному ураженні легенів [13] та гострому панкреатиті [60]. Встановлено протективну дію інгібіторів PARP на моделях таких серцево-судинних захворювань, як ішемія–реперфузія та інфаркт міокарда, різні форми серцевої недостатності, кардіоміопатія, циркуляторний шок, гіпертрофія міокарда, гіпертонія, атеросклероз [35, 63, 66, 68, 81]. За умов експериментального атеросклерозу було показано, що в бляшках активність PARP-1 збільшена [35]. Інгібування ферменту затримувало розвиток бляшок і підвищувало їх стабільність через перемикання загибелі пінистих клітин з некрозу на апоптоз. Більше того, потужний інгібітор PARP-1 TIQ-A не тільки попереджував атерогенез, але й сприяв регресії вже існуючих бляшок [35, 66]. Крім зазначених ефектів інгібіторів PARP, існують також поодинокі дані про відсутність протективної дії інгібіторів PARP, зокрема при ушкодженні легенів, індукованому гіпероксією [70].

Значна кількість захворювань пов'язана з дією на клітину активних форм кисню й азоту. Вільні радикали, особливо пероксинітрил, викликають ушкодження ДНК і, відповідно, активацію PARP-1 з усіма вищеозначеними наслідками метаболічного та запального

характеру. Зокрема, посилюється NF- $\kappa$ B-залежна експресія iNOS, що призводить до подальшої продукції NO, пероксинітриту і, таким чином, до поглиблення патологічного процесу [11, 64, 69]. Низка цитотоксичних ефектів пероксинітриту (пригнічення клітинного метаболізму, ендотеліальна дисфункція, підвищена епітеліальна проникність) принаймні частково опосередковуються активацією ПАРП-1 [69]. Як утворення активних форм кисню й азоту, так і активація ПАРП-1 спостерігались на експериментальних моделях захворювань та у людей з патологією центральної і периферичної нервової системи [11, 28, 79], судин і серця [66, 68, 83], при діабеті та його ускладненнях [2, 69, 81], при гострих захворюваннях легень, астмі, плевриті [13, 21]. Фармакологічна нейтралізація пероксинітриту при різних патологічних станах супроводжується зменшенням ступеня активації ПАРП-1; з іншого боку, пероксинітриту індукуюча загибель клітин зменшується при генетичній або фармакологічній інактивації ПАРП-1 [69, 72]. За умов оксидативного та нітрозативного стресу спостерігається дисфункція васкулярного ендотелію, зниження продукції цитопротективних медіаторів. Інгібування ПАРП-1 сприяє відновленню функцій ендотелію, при цьому покращується ендотелій-залежна релаксація [68, 80, 81]. Більшість із вищезгаданого є відносно гострими захворюваннями, ініційованими оксидативним стресом, однак інгібітори ПАРП-1 були ефективними і при моделюванні хронічних захворювань з менш вираженим оксидативним ураженням, включаючи кардіоваскулярний атеросклероз та кардіоваскулярні ускладнення діабету [35, 66, 68, 81]. Також було показано, що пригнічення активності ПАРП-1 було протективним при моделюванні аутоімунних захворювань, включаючи гломерулонефрит та ревматоїдний артрит, і послаблювало як аутоімунний, так і запальний процеси [31, 44]. За нашими даними, інгібітор ПАРП 3-амінобензамід (3-АБА), застосований за умов експерименталь-

ної імунної патології яєчників, мав виражену протективну дію на оогенез. При цьому спостерігалось послаблення запалення, а також значне зменшення загибелі фолікулярних та імунотоксичних клітин, переважно за некротичним шляхом [53]. Хоча більшість експериментальних досліджень інгібіторів ПАРП-1 проводилося із їх профілактичним застосуванням, було доведено значний позитивний ефект при терапевтичному введенні інгібіторів після того, як клінічні, біохімічні та патологічні ознаки захворювань повністю розвинулись [11, 31, 35, 52, 60].

Всі ці обнадійливі результати, отримані в експериментах, дали змогу рекомендувати інгібітори ПАРП як терапевтичні засоби для клінічних випробувань при різних серцево-судинних захворюваннях, атеросклерозі, ускладненнях діабету [48, 68, 81, 86]. Нині вже отримані перші результати. При введенні інгібітора ПАРП-1 INO-1001 40 пацієнтам з інфарктом міокарду виявлено тенденцію до зменшення у плазмі крові С-реактивного білка і прозапального цитокіну ІЛ-6; окрім того, не спостерігалось ускладнень, пов'язаних з введенням інгібітора [59]. Проводяться дослідження, скеровані на попередження ускладнень при операціях на серці [71]. За даними О'Valle та співавт. [67], вміст ПАРП-1 у біоптатах донорської нирки суттєво впливає на успішність трансплантації. Ступінь активації ПАРП-1 співвідноситься зі ступенем ушкодження каналців і функції нирок, що засвідчує роль ферменту в патогенезі гострого тубулярного некрозу. Запропоновано використовувати тест на вміст ПАРП-1 при прогнозуванні успіху трансплантації, а інгібітори ферменту – для попередження гострого некрозу каналців.

*Інгібітори ПАРП в лікуванні онкологічних захворювань.* Особливий інтерес становить використання інгібіторів ПАРП-1 при лікуванні онкологічних захворювань. Нестача ПАРП може призводити до дефектів репарації, нестабільності геному, порушення індукції загибелі клітин, що збільшує ризик



їх трансформації [3, 25, 77]. З іншого боку, за умов канцерогенезу активація ПАРП-1 може підтримувати ріст пухлин. На різних лініях ракових клітин встановлено посилення експресії або активності ПАРП-1. Це дає змогу клітинам протистояти генотоксичному стресу та збільшує їх резистентність до дії ДНК-ушкоджувальних агентів за умов протипухлинної терапії. [46, 71, 86]. Інгибування ПАРП-1 збільшує чутливість пухлин до таких цитотоксичних агентів, як темозоломід, цисплатин, інгібітори топоізомерази-1 та радіація. Нині проводяться клінічні дослідження (на стадії I, II та III) безпечності та ефективності комбінації інгібіторів ПАРП з хіміо- та радіо-терапією [16, 46, 71, 74]. Хоча були отримані позитивні результати, необхідні додаткові дослідження довготривалих ефектів інгібіторів ПАРП, з огляду на можливість вторинної малінгізації [74]. Слід зауважити, що механізм дії інгібіторів ПАРП при деяких злоякісних новоутвореннях фундаментально відрізняється від такого при лікуванні інших хвороб. Його визначають як синтетичну летальність, коли мутація або видалення одночасно двох генів є цитотоксичними, тоді як видалення кожного з генів окремо не має ефекту. [16, 46, 74]. Інгібітори ПАРП (монотерапія) виявилися найбільш ефективними проти ракових клітин з дефіцитом білків – продуктів генів BRCA1 (від англ. breast cancer1) і BRCA2. Пригнічення ПАРП-1 блокує відновлення спонтанних одониткових розривів ДНК, які переходять у двониткові. Указані ушкодження ДНК стають летальними для ракових клітин через дефіцит у них BRCA-білків, що беруть участь у репарації двониткових розривів ДНК. Отримані позитивні результати клінічних випробувань інгібіторів ПАРП при таких ракових захворюваннях [71, 74]. Донедавна вважалося, що основним механізмом протипухлинної дії інгібіторів ПАРП є їх здатність посилювати загибель трансформованих клітин. Дослідження останніх років показали, що інгібітори цього ферменту можуть бути корисними при лікуванні раку завдяки їх

здатності пригнічувати ангиогенез [73].

*Створення нових інгібіторів та природні модулятори активності ПАРП-1.* Інгібітори ПАРП назвали „золотою кулею”. У 2005 р. уже було відомо близько 50 інгібіторів ферменту і щороку синтезуються нові [27, 65]. Структурний аналіз каталітичних доменів ПАРП-1 і ПАРП-2 показав, що більшість інгібіторів відтворює нікотинамідну частину НАД<sup>+</sup> і зв’язується з локусом всередині каталітичного домену. Таким чином, інгібітори конкурують з субстратом за НАД-зв’язувальний домен, який є висококонсервативним серед 18 ізоформ ферменту [27, 65, 86]. Це викликає труднощі у синтезі інгібіторів, направлених на окремі ПАРП і зумовлює одне з головних завдань – створення інгібіторів, специфічних для ПАРП-1. Зважаючи на подібність функцій ПАРП-1 і ПАРП-2 в підтриманні стабільності геному, специфічне пригнічення лише ПАРП-1 може бути протективним, без суттєвого впливу на стан ДНК клітин. Нині досягнутий значний прогрес у створенні потужних інгібіторів ПАРП [16, 74]. Синтезовано інгібітор, специфічність якого в 100 разів вища відносно ПАРП-1, ніж ПАРП-2 [27]. Проблема полягає також у тому, що наявні інгібітори погано розчинні, важко проникають через мембрани, зокрема через гематоенцефалічний бар’єр [24, 27], тобто необхідне створення специфічних та ефективних при введенні per os інгібіторів. Синтезований нещодавно інгібітор такого типу KR 33889 проявляє значний протективний ефект при ішемії–реперфузії міокарда у щурів [63]. Деякі тетрациклінові антибіотики виявилися потужними інгібіторами ПАРП-1 [68]. Як модулятори активності цього ферменту виступають численні ендогенні та екзогенні фактори, включаючи різні кінази, тиреоїдні гормони, поліаміни, пурини, флавоноїди, активні форми вітаміну Д, похідні кофеїну [46, 86, 90], в тому числі статеві гормони, з чим може бути пов’язана статева диференціація відповіді на активацію ПАРП-1 за умов ішемії мозку [93]. Цікаві дані про те, що поліфеноли червоного

вина виявляють антидіабетичну дію, зокрема, через зменшення вмісту нітротирозину та полі-АДФ-рибозильованих білків у гломерулі нирки, тобто знижують активність ПАРП-1 і нітрозативний стрес клітин [2]. Встановлено, що ПАРП-1-інгібувальні флавоноїди зменшують індуковану ліпополісахаридом продукцію прозапальних цитокінів ФНП- $\alpha$  та ІЛ-6 у лейкоцитах хворих на хронічну обструктивну хворобу легенів і діабет 2-го типу [90]. Оскільки активація ПАРП-1 виснажує клітинний пул НАД<sup>+</sup>, важливо також врахувати роль ніацину (вітамін РР, В<sub>3</sub>), який надходить в організм ззовні та є необхідним для утворення НАД<sup>+</sup> [4]. Існує думка, що дієтотерапія з використанням флавоноїдів, вітамінів РР і D є безпечним і ефективним шляхом модуляції функції ПАРП-1 за умов хронічних захворювань, зокрема аутоімунних [46, 90].

Беручи до уваги фізіологічну роль ПАРП-1, Kirkland [46] вважає, що інгібування ферменту може зумовити тенденцію до геномної нестабільності та канцерогенезу в хронічних моделях ушкодження ДНК; поряд з тим те саме інгібування може послаблювати такі гострі захворювання, як інфаркт міокарда, інсульт і септичний шок. Однак повне пригнічення експресії ПАРП-1 не спричиняє геномної нестабільності через подібність функцій ПАРП-1 і ПАРП-2, лише подвійний нокаут є летальним [56]. Водночас як зазначено вище, нокаутні за геном ПАРП-1 миші були захищені від багатьох видів ушкодження тканин. Mota та співавт. [60], які на моделі гострого панкреатиту встановили значну протективну дію інгібіторів ферменту без жодних побічних ефектів, прогнозують, що вже незабаром інгібітори ПАРП-1 знайдуть широке застосування при гострих захворюваннях, що несуть загрозу життю. Підтримуючи цю думку, Besson [11] вважає, що, з огляду на фізіологічну роль ПАРП-1, досягнення часткового інгібування ферменту буде більш безпечним лікувальним підходом. Kirkland [46] пише: „Потужні нові інгібітори ПАРП-1 повинні відіграти значну роль у

лікуванні або попередженні різних хвороб у недалекому майбутньому. Стиль життя та дієтотерапія також можуть збільшувати ефективність модуляції функцій ПАРП-1 і покращувати здоров'я”.

І хоча функції ПАРП-1 і реакцій полі-АДФ-рибозильовання все ще дискутуються в широких наукових колах, численні експериментальні дані, починаючи від отриманих на клітинних культурах і закінчуючи передклінічними випробуваннями на тваринах, чітко свідчать про позитивний ефект інгібіторів ферменту при запальних і дегенеративних процесах та при онкологічних захворюваннях. Станом на 2011 р. у світі проводиться клінічне тестування (на фазі 1, 2 або 3) восьми інгібіторів ПАРП-1 третього покоління як засобів монотерапії, так і для посилення хіміотерапії у онкологічних хворих [16]. Сайт, який містить базу даних клінічних випробувань (<http://www.clinicaltrials.gov>), дає (на кінець 2011 р.) 74 посилання на тестування інгібіторів ПАРП, переважна більшість яких направлена на лікування ракових захворювань. Три дослідження тестують протективні протизапальні ефекти інгібіторів ПАРП на міокард та при хронічних обструктивних захворюваннях легень. Вирішення проблеми створення ефективних, специфічних, потужних і безпечних інгібіторів ПАРП-1 продовжується.

**Н.В. Макогон, І.Н. Алексеєва**

### **ПОЛИ(АДФ-РИБОЗО) ПОЛИМЕРАЗА-1: ФИЗИОЛОГИЧЕСКАЯ И ПАТОЛОГИЧЕСКАЯ РОЛЬ**

Поли(АДФ-рибозо) полімераза (ПАРП) – семейство из 18 ферментов, найденных практически у всех эукариот. ПАРП-1, самая распространенная изоформа, активируется при разрывах ДНК и осуществляет посттрансляционную модификацию белков, синтезируя цепочки полимера АДФ-рибозы и прикрепляя их к гистонам, белкам репарации ДНК, транскрипционным факторам и др. Доказана важная роль ПАРП-1 в поддержании стабильности генома. При чрезмерной активации фермента проявляется его патологическая роль. ПАРП-1 вовлечена в повреждение тканей и является ключевым медиатором клеточной гибели при оксидативном стрессе, ишемии

и повреждении ДНК. Участие ПАРП-1 в воспалении связано как с усилением некроза, так и с активацией экспрессии провоспалительных генов. Ингибирование ПАРП оказывает существенный протективный эффект при моделировании патологии сердечно-сосудистой системы, воспалительных и аутоиммунных заболеваний. Ингибиторы ПАРП также проявляют противоопухолевую активность, повышая чувствительность ряда раковых клеток к ДНК-повреждающим агентам. ПАРП-1 представляется перспективной терапевтической мишенью. Ключевые слова: ПАРП, стабильность генома, гибель клеток, воспаление, ингибиторы ПАРП.

**N.V. Makogon, L.M. Alexeyeva**

### **POLY(ADP-RIBOSE) POLYMERASE (PARP): PHYSIOLOGICAL AND PATHOLOGICAL ROLES**

PARPs are a large family of 18 enzymes found in most eukaryotes. PARP-1, the most abundant isoform, is activated by DNA breaks and catalyzes the post-translational modification of proteins. It forms polymers of ADP-ribose and attaches them to acceptor proteins, including histones, DNA repair proteins, transcription factors. PARP-1 is a key enzyme involved in a maintenance of genomic stability. Excessive activation of the enzyme has been shown to contribute to tissue injury and inflammatory disorders. PARP is a key mediator of cell death in oxidative stress, ischemia and DNA damage. It also promotes the activation of proinflammatory gene expression. Inhibition of PARP-1 provides significant protection in animal models of cardiovascular, autoimmune and inflammatory diseases. PARP inhibitors have shown antitumor activity because they compromise ability of cancer cells to repair DNA. PARP-1 is a promising therapeutic target.

Key words: PARP, genomic stability, cell death, inflammation, PARP inhibitors.

*O.O. Bogomoletz Institute of Physiology, National  
Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv*

### **СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ**

1. Дрель В.Р., Шиманський І.О., Сибірна Н.О., Великий М.М. Роль PARP та процесу полі-ADP-рибозилування протеїнів у регулюванні клітинних функцій // Укр. біохім. журн. – 2011. – 83. – С.5–34.
2. Дрель В.Р., Сибірна Н.О. Нефропротекторна дія виноградних вин у тварин із експериментальним цукровим діабетом // Біол. студії. – 2009. – 3. – С.59–68.
3. Пискунова Т.С., Юрова М.Н., Забежинский М.А., Анисимов В.Н. Поли(АДФ-рибоза)-полимераза – связь с продолжительностью жизни и канцерогенезом // Успехи геронтологии. – 2007. – 20. – С.82–90.
4. Шиманський І.О., Кучмеровська Т.М. Некоферментна функція вітаміну РР та його біологічно активних похідних: сучасний стан проблеми // Укр. біохім. журн. –

2007. – 79. – С.59–68.
5. Alano C.C., Garnier P., Ying W., Higashi Y., Kauppinen T.M., Swanson R.A. NAD<sup>+</sup> depletion is necessary and sufficient for poly (ADP-ribose) polymerase-1-mediated neuronal death // J. Neurosci. – 2010. – 30. – P.2967–2978.
6. Altmeyer V., Hottiger MO. Poly(ADP-ribose) polymerase 1 at the crossroad of metabolic stress and inflammation in aging // Aging. – 2009. – 1. – P.458–469.
7. Amé J., Spenlehauer C., de Murcia G. The PARP superfamily // Bioassays. – 2004. – 26. – P.882–893.
8. Andreone T.L., O'Connor M., Denenberg A., Hake P.W., Zingarelli B. Poly(ADP-ribose) polymerase-1 regulates activation of AP-1 in murine fibroblasts // J. Immunol. – 2003. – 170. – P.2113–2120.
9. Bai P., Csaba H., Szabo E., Gyure L., Bakondi E., Brunyanski A., Gergely S., Szabo C., Virag L. Poly(ADP-ribose) polymerase mediates inflammation in a mouse model of contact hypersensitivity // J. Investig. Dermatol. – 2009. – 129. – P.234–238.
10. Berger N.A. Poly(ADP-ribose) in the cellular response to DNA damage // Radiat. Res. – 1985. – 101. – P.4–15.
11. Besson V.C. Drug targets for traumatic brain injury from poly(ADP-ribose) polymerase pathway modulation // Brit. J. Pharmacol. – 2009. – 157. – P.696–704.
12. Boujrad H., Gubkina O., Robert N., Krantic., Susin S.A. AIF-mediated programmed necrosis // Cell Cycle. – 2007. – 6. – P.2612–2619.
13. Boulares A.H., Zoltoski A.J., Sherif Z.A., Jolly P., Massaro D., Smulson M.E. Gene knockout or pharmacological inhibition of poly(ADP-ribose) polymerase-1 prevents lung inflammation in a murine model of asthma // Amer. J. Respir. Cell. Mol. Biol. – 2003. – 28. – P.322–329.
14. Caldecott K.W., Aoufouchi S., Johnson P., Shall S. XRCC1 polypeptide interacts with DNA polymerase beta and possibly poly (ADP-ribose) polymerase, and DNA ligase III is a novel molecular 'nick-sensor' in vitro // Nucleic Acids Res. – 1996. – 24. – P.4387–4394.
15. Carillo A., Monreal Y., Ramirez P., Marin L., Parrilla P., Oliver F.J., Yelamos J. Transcription regulation of TNF-alpha-early response genes by poly(ADP-ribose) polymerase-1 in murine heart endothelial cells // Ibid. – 2004. – 32. – P.757–766.
16. Chen A. PARP inhibitors in cancer treatment // Chin. J. Cancer. – 2011. – 30. – P.463–471.
17. Chiarugi A. Inhibitors of poly(ADP-ribose) polymerase-1 suppress transcriptional activation and ameliorate autoimmune encephalomyelitis in rats // Brit. J. Pharmacol. – 2002. – 137. – P.761–770.
18. Cole K., Perez-Polo J. Poly (ADP – ribose) polymerase inhibition prevents both apoptotic-like delayed neuronal death and necrosis after H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> injury // J. Neurochemistry. – 2002. – 82. – P. 19–29.
19. Cook B.D., Dynek J.N., Chang W., Shostak G., Smith S. Role for the related poly(ADP-Ribose) polymerases tankyrase 1 and 2 at human telomeres // Mol. Cell. Biol. – 2002. – 22. – P.332–342.
20. Cover C., Fickert P., Knight T., Fuchsichler., Farhood

- A., Trauner M., Jaeschke H. Pathophysiological role of poly (ADP – ribose) polymerase (PARP) activation during acetaminophen-induced liver cell necrosis in mice // *Toxicol. Sci.* – 2005. – 84. – P.201–208.
21. Cuzzocrea S., Zingarelli B., Gilad E., Hake P., Salzman A.L., Szabo C. Protective effects of 3-aminobenzamide, an inhibitor of poly (ADP-ribose) synthase in a carrageenan-induced model of local inflammation // *Eur. J. Pharmacol.* – 1998. – 342. – P.67–76.
  22. d'Adda di Fagagna F., Hande M.P., Tong W.M., Lansdorp P.M., Wang Z.Q., Jackson S.P. Functions of poly(ADP-ribose) polymerase in controlling telomere length and chromosomal stability // *Nat. Genet.* – 1999. – 23. – P.76–80.
  23. D'Amours D., Desnoyers S., D'Silva I., Poirier G. Poly(ADP-ribosylation) reactions in the regulation of nuclear functions // *Biochem. J.* – 1999. – 342. – P.249–268.
  24. Dawson V. Inhibition of poly (adenosine diphosphate-ribose) polymerase (PARP) in experimental models of neurologic diseases: cell death prevention // *Retina.* – 2005. – 25. – P.S31–S32.
  25. de Murcia J.M., Niedergang C., Trucco C., Ricoul M., Dutrillaux B., Mark M., Oliver F.J., Masson M., Dierich A., LeMeur M., Walztinger C., Chambon P., de Murcia G. Requirement of poly(ADP-ribose) polymerase in recovery from DNA damage in mice and in cells // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 1997. – 94, 14. – P.7303–7307.
  26. Devalaraja-Narashimha K., Singaravelu K., Padanilam B.J. Poly(ADP-ribose) polymerase-mediated cell injury in acute renal failure // *Pharmacol. Res.* – 2005. – 52. – P.44–59.
  27. Eltze T., Boer R., Wagner T., Weinbrenner S., McDonald M., Thiernemann C., Burkle A., Klein T. Imidazoquinolinone, imidazopyridine and isoquinolindione derivatives as novel and potent inhibitors of the PARP: a comparison with standard inhibitors // *Mol. Pharmacol.* – 2008. – 74. – P.1587–1598.
  28. Farez M., Quintana F., Gandhi R., Izquierdo G., Lucas M., Weiner H.L. Toll-like receptor 2 and poly(ADP-ribose) polymerase 1 promote central nervous system neuroinflammation in progressive EAE // *Nat. Immunol.* – 2009. – 10. – P.958–964.
  29. Festjens N., Vanden Berghe T., Vandenabeele P. Necrosis, a well-orchestrated form of cell demise: Signaling cascades, important mediators and concomitant immune response // *Biochim et Biophys Acta.* – 2006. – 1757. – P.1371–1387.
  30. Formentini L., Macchiarulo A., Cipriani G., Camaioni E., Rapizzi E., Pellicciari R., Moroni F., Chiarugi A. Poly(ADP-ribose) catabolism triggers AMP-dependent mitochondrial energy failure // *J. Biol. Chem.* – 2009. – 284. – P.17668–17676.
  31. Gonzalez-Rey E., Martínez-Romero R., O'Valle F., Aguilar-Quesada R., Conde C., Delgado M., Oliver F.J. Therapeutic effect of a poly(ADP-ribose) polymerase-1 inhibitor on experimental arthritis by downregulating inflammation and Th1 response // *PLoS ONE.* – 2007. – 10. – P.e1071.
  32. Grube K., Bürkle A. Poly(ADP-ribose) polymerase activity in mononuclear leukocytes of 13 mammalian species correlates with species-specific life span // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 1992. – 89. – P.11759–11763.
  33. Ha H.C., Snyder S.H. Poly(ADP-ribose) polymerase is a mediator of necrotic cell death by ATP depletion // *PNAS.* – 1999. – 96. – P.13978–13982.
  34. Ha H.C., Hester L.D., Snyder S.H. Poly(ADP-ribose) polymerase-1 dependence of stress-induced transcription factors and associated gene expression in glia // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 2002. – 99. – P.3270–3275.
  35. Hans C.P., Zerfaoui M., Naura A.S., Troxclair D., Strong J.P., Matrougui K., Boulares A.H. Thieno[2,3-c]isoquinolin-5-one, a potent poly(ADP-ribose)polymerase inhibitor, promotes atherosclerotic plaque regression in high-fat diet-fed apolipoprotein E-deficient mice: effects on inflammatory markers and lipid content // *J. Pharmacol. Exp. Therap.* – 2009. – 329. – P.150–158.
  36. Harraz M., Dawson T., Dawson V. Advances in Neuronal Cell Death 2007 // *Stroke.* – 2008. – 39. – P.286–288.
  37. Hassa P.O., Hottiger M. The functional role of poly(ADP-ribose)polymerase 1 as novel coactivator of NF-kappaB in inflammatory disorders // *Cell. Molec. Life Sci.* – 2002. – 59. – P.1534–1553.
  38. Hassa P.O., Haenni S.S., Elser M., Hottiger M.O. Nuclear ADP-ribosylation in mammalian cells: where are we today and where are we going? // *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* – 2006. – 70. – P.789–829.
  39. Hough C.J., Smulson M.E. Association of poly(adenosine diphosphate ribosylated) nucleosomes with transcriptionally active and inactive regions of chromatin // *Biochemistry.* – 1984. – 23. – P.5016–5023.
  40. Hsiao S.J., Poitras M.F., Cook B.D., Liu Y., Smith S. Tankyrase 2 poly(ADP-ribose) polymerase domain-deleted mice exhibit growth defects but have normal telomere length and capping // *Mol. Cell. Biol.* – 2006. – 26. – P.2044–2054.
  41. Huang Q., Shen H.-M. The dual role poly(ADP-ribose) polymerase-1 in autophagy and necrosis under oxidative stress and DNA damage // *Autophagy.* – 2009. – 5. – P.273–276.
  42. Huang Q., Wu Y.-T., Tan H.-L., Ong C.-N., Shen H.-M. A novel function of poly(ADP-ribose) polymerase-1 in modulation of autophagy and necrosis under oxidative stress // *Cell Death Differ.* – 2009. – 16. – P.264–277.
  43. Jijon H., Churchill T., Malfair D., Wessler A., Jewell L.D., Parsons H.G., Madsen K.L. Inhibitor of poly(ADP-ribose) polymerase attenuates inflammation in a model of chronic colitis // *AJP-Gastrointest. Liver Physiol.* – 2000. – 279. – P.G641–G651.
  44. Jog N.R., Dinnall J.A., Gallucci S., Madio M.P., Carricchio R. Poly(ADP-ribose) polymerase-1 regulates the progression of autoimmune nephritis in males by inducing necrotic cell death and modulating inflammation // *J. Immunol.* – 2009. – 182. – P. 7297–7306.
  45. Khandoga A., Enders G., Biberthaler P., Krombach F. Poly(ADP-ribose) polymerase triggers the microvascular mechanisms of hepatic ischemia-reperfusion injury // *AJP-Gastrointest. Liver Physiol.* – 2002. – 283. – P.G553–G560.
  46. Kirkland J. Poly ADP-ribose polymerase-1 and health // *Exp. Biol. Med.* – 2010. – 235. – P.561–568.
  47. Koh S.H., Park Y., Song C.W., Kim J.G., Kim K., Kim



- J., Kim M-H., Lee S.R., Kim D.W., Yu H-J., Chang D., Hwang S.J., Kim S.H. The effect of PARP inhibitor on ischaemic cell death, its related inflammation and survival signals // *Eur. J. Neurosci.* – 2004. – **20**. – P.1461–1472.
48. Krishnakumar R., Kraus W.L. The PARP side of the nucleus: molecular actions, physiological outcomes, and clinical targets // *Mol. Cell.* – 2010. – **39**. – P.8–24.
  49. Krysko D.V., D'Herde K., Vandenabeele P. Clearance of apoptotic and necrotic cells and its immunological consequences // *Apoptosis.* – 2006. – **11**. – P.1709–1726.
  50. Kuchmerovska T., Shymanskyi I., Donchenko G., Kuchmerovskyy M., Pakirbaeva L., Klimentenko A. Poly(ADP-ribosyl)ation enhancement in brain cell nuclei is associated with diabetic neuropathy // *J. Diabet. Comp.* – 2004. – **18**. – P.198–204.
  51. Lindahl T., Satoh M.S., Poirier G.G., Klungland A. Post-translational modification of poly(ADP-ribose) polymerase induced by DNA strand breaks // *Trends Biochem. Sci.* – 1995. – **20**. – P.405–411.
  52. Mabley J.G., Jagtap P., Perretti M., Getting S., Salzman A., Virag L., Szabo E., Soriano F., Liaudet L., Abdelkarim G., Hasko G., Marton A., Southan G., Szabo C. Anti-inflammatory effects of a novel, potent inhibitor of poly(ADP-ribose)polymerase // *Inflam. Res.* – 2001. – **50**. – P. 561–569.
  53. Makogon N., Voznesenskaya T., Bryzgina T., Sukhina V., Grushka N., Alexeyeva I. Poly(ADP-ribose) polymerase inhibitor, 3-aminobenzamide, protects against experimental immune ovarian failure in mice // *Reprod. Biol.* – 2010. – **10**. – P. 215–226.
  54. Malanga M., Althaus F.R. The role of poly(ADP-ribose) in the DNA damage signaling network // *Biochem. Cell Biol.* – 2005. – **83**. – P.354–364.
  55. Meisterernst M., Stelzer G., Roeder R. Poly(ADP-ribose) polymerase enhances activator-dependent transcription in vitro // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 1997. – **94**. – P.2261–2265.
  56. Ménissier de Murcia J., Ricoul M., Tartier L., Niedergang C., Huber A., Dantzer F., Schreiber V., Amé J.C., Dierich A., LeMeur M., Sabatier L., Chambon P., de Murcia G. Functional interaction between PARP-1 and PARP-2 in chromosome stability and embryonic development in mouse // *EMBO J.* – 2003. – **22**. – P.2255–2263.
  57. Miyamoto T., Kakizawa T., Hashizume K. Inhibition of nuclear receptor signaling by poly(ADP-ribose) polymerase // *Mol. Cell Biol.* – 1999. – **19**. – P.2644–2649.
  58. Moroni F., Meli E., Peruginelli F., Chiarugi A., Cozzi A., Picca R., Romagnoli P., Pellicciari R., Pellegrini-Giamperio D. Poly(ADP-ribose) polymerase inhibitors attenuate necrotic but not apoptotic neuronal death in experimental models of cerebral ischemia // *Cell Death Differ.* – 2001. – **8**. – P.921–932.
  59. Morrow D.A., Brickman C.M., Murphy S.A., Baran K., Krakover R., Dauerman H., Kumar S., Slomowitz N., Grip L., McCabe C.H., Salzman A.L. A randomized, placebo-controlled trial to evaluate the tolerability, safety, pharmacokinetics, and pharmacodynamics of a potent inhibitor of poly(ADP-ribose) polymerase (INO-1001) in patients with ST-elevation myocardial infarction undergoing primary percutaneous coronary intervention: results of the TIMI 37 trial // *J. Thromb. Thrombolysis.* – 2009. – **27**. – P. 359–364.
  60. Mota R., Sanchez-Bueno F., Berenguer-Pina J., Hernandez-Espinosa D., Parilla P., Yelamos J. Therapeutic treatment with poly(ADP-ribose) polymerase inhibitors attenuates the severity of acute pancreatitis and associated liver and lung injury. // *Brit. J. Pharmacol.* – 2007. – **151**. – P.998–1005.
  61. Moubarak R.S., Yuste V.J., Artus C., Bouharrou A., Greer P.A., Menissier-de Murcia J., Susin S.A. Sequential activation of poly(ADP-ribose) polymerase 1, calpains, and Bax is essential in apoptosis-inducing factor-mediated programmed necrosis // *Mol. Cell Biol.* – 2007. – **27**. – P.4844–4862.
  62. Nakajima H., Nagaso H., Kakui N., Ishikawa M., Hiranuma T., Hoshiko S. Critical role of the automodification of poly(ADP-ribose)polymerase-1 in nuclear factor-kappa B-dependent gene expression in primary cultured mouse glial cells // *J. Biol. Chem.* – 2004. – **279**. – P.42774–42786.
  63. Oh K.S., Lee S., Yi K.Y., Seo H.W., Koo H.N., Lee B.H. A novel and orally active poly(ADP-ribose) polymerase inhibitor, KR-33889 [2[methoxycarbonyl (4-methoxyphenyl) methylsulfanyl]-1H-benzimidazole-4-carboxylic acid amide], attenuates injury in in vitro model of cell death and in vivo model of cardiac ischemia // *J. Pharmacol. Exp. Therap.* – 2009. – **328**. – P.10–18.
  64. Oliver F., Ménissier-de Murcia J., Nacci C., Decker P., Andriantsitohaina R., Muller S., de la Rubia G., Stoclet J., de Murcia G. Resistance to endotoxic shock as a consequence of defective NF-kB activation in poly(ADP-ribose) polymerase-1 deficient mice//*EMBO J.* – 1999. – **18**. – P.4446–4454.
  65. Oliver A.W., Amé J.C., Roe S. Good V., de Murcia G., Pearl L.H. Crystal structure of the catalytic fragment of murine poly(ADP-ribose) polymerase-2 // *Nucleic Acids Res.* – 2004. – **32**. – P.456–464.
  66. Oumouna-Benachour K., Hans C., Suzuki Y., Naura A., Datta R., Belmadani S., Fallon K., Woods C., Boulares A. Poly(ADP-ribose) polymerase inhibition reduces atherosclerotic plaque size and promote factors of plaque stability in ApoE-deficient mice // *Circulation.* – 2007. – **115**. – P.2442–2450.
  67. O'Valle F., Del Moral R., Benitez M., Martin-Oliva D., Gomez-Morales M., Aguilar D., Aneiros-Fernandez J., Hernandez-Cortes P., Osuna A., Moreso F., Seron D., Oliver F.J., Del Moral R.G. Poly(ADP-ribose) polymerase-1 expression is related to cold ischemia, acute tubular necrosis and delayed renal function in kidney transplantation // *PLoS ONE.* – 2009. – **4**. – P.e7138–e7145.
  68. Pacher P., Szabo C. Role poly(ADP-ribose) polymerase 1 (PARP-1) in cardiovascular diseases: the therapeutic potential of PARP inhibitors // *Cardiovasc. Drug Rev.* – 2007. – **25**. – P. 235–260.
  69. Pacher P., Szabo C. Role of the peroxynitrite-poly(ADP-ribose) polymerase pathway in human disease // *Amer. J. Pathol.* – 2008. – **173**. – P.2–13.
  70. Pagano A., Pitteloud C., Reverdin C., Metrailler-Ruchonnet

- I., Donati Y., Barazzone Argiroffo C. Poly(ADP-ribose) polymerase activation mediates lung epithelial cell death in vitro but is not essential in hyperoxia-induced lung injury // *Amer. J. Respir. Cell. Mol. Biol.* – 2005. – **33**. – P.555–564.
71. Peralta-Leal A., Rodriguez-Vargas J.M., Aguilar-Quesada R., Rodriguez M.I., Linares J.L., de Almodovar M.R., Oliver F.J. PARP inhibitors: new partners in the therapy of cancer and inflammatory diseases // *Free Radic. Biol. Med.* – 2009. – **47**. – P. 13–26.
72. Radovits T., Seres L., Gero D., Lin L.N., Beller C.J., Chen S.H., Zotkina J., Berger I., Groves J.T., Szabó C., Szabó G. The peroxydinitrite decomposition catalyst FP15 improves ageing-associated cardiac and vascular dysfunction // *Mech. Ageing Dev.* – 2007. – **128**. – P.173–181.
73. Rajesh M., Mukhopadhyay P., Godlewski G., Bátkai S., Haskó G., Liaudet L., Pacher P. Poly(ADP-ribose) polymerase inhibition decreases angiogenesis // *Biochem. and Biophys. Res. Commun.* – 2006. – **350**. – P.1056–1062.
74. Rouleau M., Patel A., Hendzel M.J., Kaufmann S.H., Poirier G.G. PARP inhibition: PARP-1 and beyond // *Nat. Rev. Cancer.* – 2010. – **10**. – P.293–301.
75. Scaffidi P., Misteli T., Bianchi M.E. Release of chromatin protein HMGB1 by necrotic cells triggers inflammation // *Nature.* – 2002. – **418**. – P. 191–195.
76. Scott G.S., Kean R.B., Mikheeva T., Fabis M.J., Mabley J.G., Szabo C., Hooper D.C. The therapeutic effects of PJ34 [N-(6-oxo-5,6-dihydrophenanthridin-2-yl)-N,N-dimethylacetamide.HCl], a selective inhibitor of poly(ADP-ribose) polymerase, in experimental allergic encephalomyelitis are associated with immunomodulation // *J. Pharmacol. Exp. Therap.* – 2004. – **310**. – P.1053–1061.
77. Simbulan-Rosenthal C.M., Ly D.H., Rosenthal D.S., Konopka G., Luo R., Wang Z.Q., Schultz P.G., Smulson M.E. Misregulation of gene expression in primary fibroblasts lacking poly(ADP-ribose) polymerase // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 2000. – **97**. – P.11274–11279.
78. Smith S., Giriat I., Schmitt A., de Lange T. Tankyrase, a poly(ADP-ribose) polymerase at human telomeres // *Science.* – 1998. – **282**. – P.1484–1487.
79. Soós J., Engelhardt J.I., Siklós L., Havas L., Majtényi K. The expression of PARP, NF-kappa B and parvalbumin is increased in Parkinson disease // *Neuroreport.* – 2004. – **15**. – P.1715–1718.
80. Szabó C., Lim L., Cuzzocrea S., Getting S.J., Zingarelli B., Flower R.J., Salzman A.L., Peretti M. Inhibition of poly(ADP-ribose) synthetase attenuates neutrophil recruitment and exerts anti-inflammatory effects // *J. Exp. Med.* – 1997. – **186**. – P.1041–1049.
81. Szabó C. Roles of poly(ADP-ribose) polymerase activation in the pathogenesis of diabetes mellitus and its complications // *Pharmacol. Res.* – 2005. – **52**. – P. 60–71.
82. Szijarto A., Batmunkh E., Hahn O., Mihaly Z., Kreiss A., Kiss A., Lotz G., Schaff Z., Vali L., Blazovics A., Gero D., Szabo C., Kupcsulik P. Effect of PJ-34 PARP-inhibitor on rat liver microcirculation and antioxidant status // *J. Surg. Res.* – 2007. – **142**. – P.72–80.
83. Tóth-Zsámboki E., Horváth E., Vargova K., Pankotai E., Murthy K., Zsengellér Z., Bárányi T., Pék T., Fekete K., Kiss R., Préda I., Lacza Z., Gerö D., Szabó C. Activation of PARP by myocardial ischemia and coronary reperfusion in human circulating leukocytes // *Mol. Med.* – 2006. – **12**. – P.221–228.
84. Troyano A., Sancho P., Fernandez C., de Blas E., Bernardi P., Aller P. The selection between apoptosis and necrosis is differentially regulated in hydrogen peroxide-treated and glutathione-depleted human promonocytic cells // *Cell. Death Differ.* – 2003. – **10**. – P.889–898.
85. Veres B., Radnai B., Gallyas F., Varbiro G., Berente Z., Osz E., Sumegi B. Regulation of kinase cascades and transcription factors by a PARP inhibitor, 4-hydroxyquinazoline, in lipopolysaccharide-induced inflammation in mice // *J. Pharmacol. Exp. Therap.* – 2004. – **310**. – P. 247–255.
86. Virag L., Szabo C. The therapeutic potential of poly(ADP-ribose) polymerase inhibitors // *Pharmacol. Rev.* – 2002. – **54**. – P.375–429.
87. Virag L. Structure and function of poly(ADP-ribose) polymerase-1: role in oxidative stress-related pathologies // *Current Vascular Pharmacol.* – 2005. – **3**. – P. 209–214.
88. Wang X., Ohnishi K., Takahashi A., Ohnishi T. Poly(ADP-ribosylation) is required for p53-dependent signal transduction induced by radiation // *Oncogene.* – 1998. – **17**. – P.2819–2825.
89. Wang Y., Dawson V.L., Dawson T.H. Poly(ADP-ribose) signals to mitochondrial AIF: a key event in Parthanatos // *Exp. Neurol.* – 2009. – **218**. – P.193–202.
90. Weseler A.R., Geraets L., Moonen H.J., Manders R.J., van Loon L.J., Pennings H.J., Wouters E.F., Bast A., Hageman G.J. Poly(ADP-ribose) polymerase-1-inhibiting flavonoids attenuate cytokine release in blood from male patients with chronic obstructive pulmonary disease or type 2 diabetes // *J. Nutr.* – 2009. – **139**. – P.952–957.
91. Xu Y., Kim S.O., Li Y., Han J. Autophagy contributes to caspase-independent macrophage cell death // *J. Biol. Chem.* – 2006. – **281**. – P. 19179–19187.
92. Yu S.W., Wang H., Poitras M.F., Coombs C., Bowers W.J., Federoff H.J., Poirier G.G., Dawson T.M., Dawson V.L. Mediation of poly(ADP-ribose) polymerase-1-dependent cell death by apoptosis-inducing factor // *Science.* – 2002. – **297**. – P.259–263.
93. Yuan M., Siegel C., Zeng Z., Li J., Liu F., McCullough L. Sex differences in the response to activation of poly(ADP-ribose) polymerase after experimental stroke // *Exp. Neurol.* – 2009. – **217**. – P.210–218.
94. Zingarelli B., Hake P.W., O'Connor M., Denenberg A., Wong H.R., Kong S., Aronow B.J. Differential regulation of AP-1 and heat shock factor-1 in myocardial ischemia and reperfusion injury: role of poly(ADP-ribose) polymerase-1 // *Amer. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* – 2004. – **286**. – P.H1408–1415.