



Cátia BRANCO¹, Joana PAREDES^{1,2}
Acta Med Port 2022 Feb;35(2):135-143 • <https://doi.org/10.20344/amp.13870>

RESUMO

A reparação dos danos que ocorrem na molécula de ADN é fundamental para manter a integridade do genoma e a viabilidade celular. Défices nos mecanismos de reparação desta molécula cursam com um aumento do risco para instabilidade genética e contribuem para a transformação neoplásica. As *poly (ADP-ribose) polymerases* (PARP) são um grupo de enzimas que apresentam um papel chave na sinalização e reparação dos erros no ADN. A inibição da sua atividade é uma estratégia terapêutica que tira partido do mecanismo de letalidade sintética e que pode ser usada no tratamento de tumores com defeitos específicos nas vias de reparação de ADN, nomeadamente em tumores com mutações nos genes supressores tumorais *BRCA1* e *BRCA2*. Existem vários inibidores das PARP (iPARP) já aprovados pela Food and Drug Administration dos Estados Unidos da América e pela Agência Europeia do Medicamento e utilizados no tratamento do cancro da mama, ovário, pâncreas e próstata. No entanto, tal como acontece com outras terapias alvo, a resistência aos iPARP é comum apesar de bem tolerados e amplamente utilizados na prática clínica, e pode desenvolver-se através de vários mecanismos moleculares. Neste artigo, pretendemos realizar uma revisão atualizada sobre os iPARP e o seu principal modo de ação em células tumorais, dando a conhecer os vários mecanismos de resistência que têm sido recentemente revelados, assim como as atuais aplicações clínicas e a toxicidade associada a esta terapia alvo.

Palavras-chave: Genes *BRCA1*; Genes *BRCA2*; Inibidores de Poli(ADP-Ribose) Polimerases; Neoplasias

ABSTRACT

Repairing damage and errors that occur in the DNA molecule is essential to maintain the integrity of the genome and cell viability. Deficits in DNA repair mechanisms lead to an increased risk of genetic instability and contribute to neoplastic transformation. Poly (ADP-ribose) polymerases (PARP) are a group of enzymes that play a key role in signalling and repairing DNA errors. The inhibition of its activity is a therapeutic strategy that takes advantage of the mechanism of synthetic lethality and that can be used in the treatment of tumours with specific defects in DNA repair pathways, namely in tumours with mutations in the tumour suppressor genes *BRCA1* and *BRCA2*. There are several PARP inhibitors (iPARP), already approved by the USA Food and Drug Administration and the European Medicines Agency used in the treatment of breast, ovarian, pancreatic and prostate cancer. However, as with other target therapies, despite being well tolerated and widely used in the clinical practice, iPARP resistance is common and can be developed through various molecular mechanisms. In this article, we intend to make an updated review on iPARP and its main role in tumour cells, highlighting the several resistance mechanisms that have been recently revealed, as well as the current clinical applications and toxicity associated with this target therapy.

Keywords: Genes, *BRCA1*; Genes, *BRCA2*; Neoplasms; Poly(ADP-ribose) Polymerase Inhibitors

INTRODUÇÃO

O cancro é um problema de saúde pública, tendo-se tornado numa das principais causas de mortalidade prematura nas últimas décadas.¹

De acordo com os dados disponíveis, e reconhecendo que as armas terapêuticas existentes são limitadas, o desenvolvimento de novas terapias tem sido uma área com um interesse crescente nos últimos anos. O foco tem sido no âmbito das terapias dirigidas que visam matar, seletivamente, as células tumorais.²

A letalidade sintética, um conceito que visa proporcionar uma via alternativa aos tratamentos mais convencionais do cancro está, atualmente, a ser amplamente investigado e aplicado na prática clínica. Assume-se que dois genes estão numa relação de letalidade sintética se a presença de mutações em apenas um dos genes for compatível com a viabilidade celular, mas a inativação de ambos provoca a morte da célula.²⁻⁴

A primeira aplicação clínica deste conceito foi com a utilização dos inibidores da *poly (ADP-ribose) polymerase* (iPARP) no tratamento de tumores com mutações nos genes supressores tumorais *BRCA1* e *BRCA2*, que estão envolvidos no processo de reparação homóloga (HR) dos danos que ocorrem na molécula de ADN.^{5,6}

VIAS DE REPARAÇÃO DA SEQUÊNCIA DE ADN

A integridade do ADN está continuamente a ser desafiada por uma variedade de agentes e processos que podem alterar, direta ou indiretamente, a sequência desta molécula. Os danos que surgem no ADN, a sua reparação, ou a ausência dela, são aspetos centrais no aparecimento de mutações que iniciam e promovem a tumorigénese.⁴ A instabilidade genética, secundária às alterações na molécula de ADN e do número e/ou estrutura dos cromossomas, está presente na maioria dos tumores sólidos.⁷ Dado o seu

1. Faculdade de Medicina. Universidade do Porto. Porto, Portugal.

2. Instituto de Inovação e Investigação em Saúde [i3S]. Porto, Portugal.

✉ Autor correspondente: Joana Paredes. jparedes@ipatimup.pt

Recebido: 06 de abril de 2020 - Aceite: 09 de dezembro de 2020 - Online issue published: 01 de fevereiro de 2022

Copyright © Ordem dos Médicos 2022



efeito potencialmente devastador, as células evoluíram no sentido de se defenderem dos efeitos deletérios que os danos no ADN provocam, através de várias vias moleculares que, no seu conjunto, se denominam por vias de *DNA Damage Response* (DDR). Estas têm a capacidade de identificar os danos presentes no ADN, promover a paragem do ciclo celular e, por fim, proceder à sua reparação, contribuindo para a manutenção da integridade do genoma.^{4,7,8}

Em termos gerais, o DDR pode ser dividido em vias distintas mas funcionalmente interligadas, que processam a reparação dos danos existentes, nomeadamente a reparação dos danos de cadeia dupla [*double strand DNA breaks* (DSB)], nas quais se incluem a reparação por HR e a recombinação não-homóloga. Existem ainda vias de reparação dos danos de cadeia simples [*single strand breaks* (SSB)], da qual faz parte o *base excision repair* (BER). Para o funcionamento de cada um destes processos contribuem várias proteínas-chave. As proteínas BRCA1, BRCA2, PALB2, ATM, CHEK1, CHEK2, e RAD51 são intervenientes do processo de HR. Pelo contrário, as enzimas *Poly(ADP-Ribose) Polymerase 1 e 2* (PARP1 e PARP2) são os pilares do processo BER.⁷

MECANISMO DE AÇÃO DAS ENZIMAS PARP

As PARP constituem uma superfamília de proteínas que desempenham um papel crucial como reguladores do processo de identificação e reparação dos SSB da molécula de ADN através da via BER. Apresentam ainda um papel chave na reparação dos DSB, ao facilitarem a ativação da reparação por HR e ao contribuírem para a inibição de vias de reparação menos conservadoras, como a via *non-homologous end joining* (NHEJ). Assim, a ausência das PARP contribui para que o processo de HR seja disfuncional, tornando os processos de reparação do ADN não conservadores como vias dominantes.⁹

A *poly(ADP-ribose)ylation* (ou *PARYlation*) é responsável pela modificação de proteínas após o processo de tradução.¹⁰ Sendo fulcral para a regulação do DDR, caracteriza-se como uma reação dependente do ADN que consome *nicotinamide adenine dinucleotide* (NAD⁺), com o objetivo de sintetizar cadeias *poly(ADP-ribose)* (PAR) que são posteriormente adicionadas a proteínas aceitadoras, induzindo a remodelação da cromatina para uma conformação passível de ser reparada. Este processo é catalisado pela PARP1 e PARP2, que ligam covalentemente uma unidade de ADP-ribose a aminoácidos da estrutura das proteínas, preferencialmente a glutamato e lisina, usando o NAD⁺ como dador de ADP-ribose. Ocorre ainda em proteínas específicas, incluindo na própria PARP, um mecanismo denominado de auto-PARYlation, que permite que esta se liberte do ADN e que as proteínas reparadoras sejam recrutadas e restaurem a sequência original do ADN.^{4,5,11,12} O processo de formação de cadeias PAR é extremamente rápido, tal como a sua degradação. O seu *turnover* é fundamental para que a reparação do ADN seja eficaz, sendo levado a cabo pelas enzimas *poly(ADP-ribose)-glycohydrolase* (PARG), *ADP-ribose hydrolase* (ARH3) e *O-acyl-ADP-ribose deacylase 1*

(OARDH1).¹³ Defeitos na hidrólise das cadeias PAR levam a um aumento dos danos no ADN, podendo mesmo ser deletérios para a célula, uma vez que impedem que a PARP1 reconheça os erros e inicie um novo ciclo catalítico.^{4,13,14} A PARYlation, além de intervir no DDR, também regula outros processos, incluindo a transcrição, a apoptose e a mitose.

A PARP1 é a mais abundante e sobre a qual existe um maior conhecimento em relação aos seus componentes estruturais e atividade funcional (Fig.s 1A, 1B). Esta enzima está envolvida em vários processos nucleares, sobretudo nas diferentes vias de reparação do ADN, apresentando um papel-chave na manutenção da integridade do genoma. A função catalítica da enzima é ativada após ligação aos SSB, mediando a formação de cadeias PAR que recrutam proteínas reparadoras desses danos. A PARP1 pode também regular a transcrição através da modulação da estrutura da cromatina, atuar como um coregulador dos fatores de transcrição, alterar os padrões de metilação do ADN, estabilizar a forquilha de replicação do ADN, bem como facilitar o processo de HR, uma vez que o recrutamento da maquinaria desta via é dependente da formação de cadeias PAR.^{4,13,14} Assim, esta enzima está envolvida em múltiplos aspetos da resposta molecular aos danos no ADN e é dividida em quatro domínios funcionais (Fig. 1A): um domínio de ligação ao ADN (DBD), que é constituído por três resíduos de zinco, fundamentais para a ligação da PARP1 aos danos na molécula de ADN, e um sinal de localização nuclear (NLS); um domínio central automodificador, no qual os resíduos de glutamato e lisina servem como aceitadores de unidades de ADP-ribose, permitindo que a PARP1 sofra o processo de PARYlation.¹⁴ Este domínio é também constituído por um terminal carboxílico BRCA1 (BRCT), que medeia a interação entre proteínas, nomeadamente as que permitem a reparação do ADN^{15,16}; um domínio WGR, assim designado pela presença de uma região altamente conservada de aminoácidos (*Trp-Gly-Arg*), que permite o contacto com os outros domínios da enzima e com o ADN¹⁷; e por fim, um domínio catalítico que é composto por dois subdomínios: domínio helical (HD) que funciona como um domínio autoinibidor, evitando a ligação do NAD⁺ ao local de ligação na PARP1, quando a enzima não está ligada ao ADN e um domínio *ADP-ribosyltransferase* (ART), ao qual se liga o NAD⁺.^{4,13,14}

Após a indução de erros na molécula de ADN, a PARP1 é rapidamente recrutada, ligando-se ao ADN através do DBD (Fig. 1B). Esta ligação leva a uma alteração da conformação do domínio HD, que perde a capacidade de autoinibição, resultando na ativação da função catalítica da enzima. Posteriormente, através do subdomínio ART, a PARP1 inicia a transferência de unidade de ADP-ribose para proteínas aceitadoras, formando cadeias PAR – *PARYlation*. A própria PARP1 adiciona cadeias PAR à sua estrutura – *autoPARYlation*. Uma vez que as cadeias PAR apresentam uma carga negativa muito superior à do ADN, as cargas repelem-se e a PARP1 perde a afinidade para a molécula de ADN, permitindo o recrutamento de proteínas reparadoras para os locais de dano, reconstituindo assim a

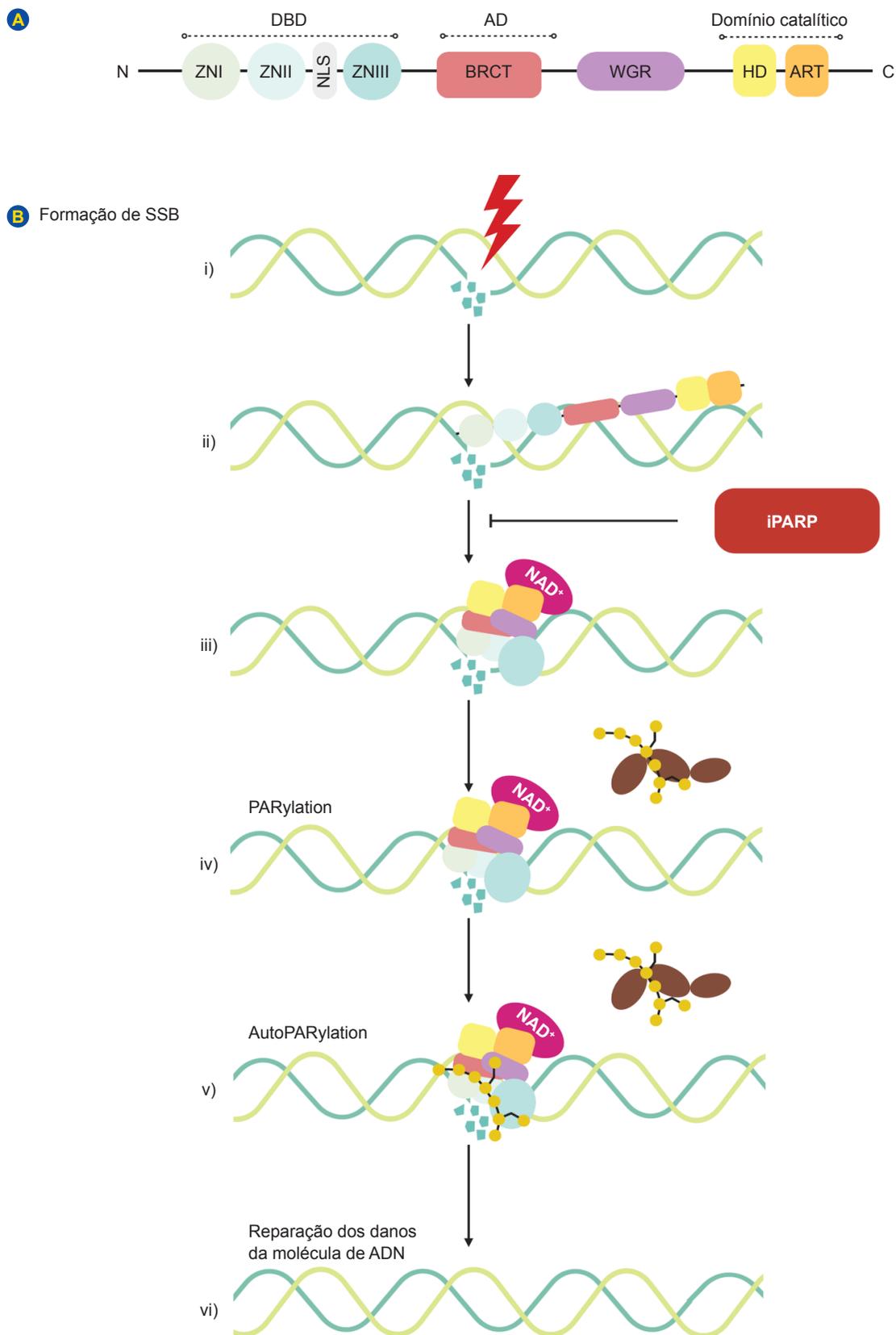


Figura 1 – A: Estrutura da enzima PARP1; B: Ativação da PARP1 secundária à ocorrência de erros na molécula de ADN. (i) Formação de SSB. (ii) Ligação da PARP1 aos SSB. (iii) Ativação da função catalítica da enzima. (iv) Formação de cadeias PAR em proteínas aceitadoras (PARylation) e na PARP1 (autoPARylation) (v). (vi) Recrutamento de proteínas reparadoras dos erros no ADN. Os iPARP competem com o local de ligação do NAD⁺ ao domínio catalítico da enzima, evitando a formação de cadeias PAR e aprisionam a PARP1 na molécula de ADN.

sequência original da molécula.^{4,13,14}

INIBIDORES DA PARP E LETALIDADE SINTÉTICA

A investigação na área do tratamento do cancro evoluiu no sentido de identificar estratégias de intervenção capazes de aumentar a eficácia dos tratamentos, reduzir a sua toxicidade e aumentar a qualidade de vida dos doentes. Uma destas estratégias passa pela identificação de agentes capazes de se ligar a alvos específicos, nomeadamente a defeitos moleculares presentes em determinadas células tumorais.¹⁸

A descoberta da família das enzimas PARP, e o conhecimento do seu papel nas vias de reparação do ADN, tornou possível o desenvolvimento de uma nova classe de fármacos anti-neoplásicos – os inibidores da PARP (iPARP).¹⁸ Os iPARP têm como alvo a enzima PARP e foram os primeiros fármacos, clinicamente aprovados, a explorar o mecanismo de letalidade sintética.^{4,5}

A letalidade sintética é um conceito genético no qual, a perda funcional de dois genes resulta na morte celular, enquanto que a perda funcional de um deles, isoladamente, é compatível com a viabilidade celular (Fig. 2).^{2,7} Assim, os iPARP são uma estratégia terapêutica inovadora no tratamento de tumores com mutações nos genes *BRCA1/2*, ou em tumores *BRCAness*, uma vez que estes apresentam défices na HR (HRD).¹⁹

O *BRCA1* e *BRCA2* são genes supressores tumorais envolvidos na regulação da transcrição e na reparação dos DSB na molécula de ADN, desempenhando um papel chave na via HR.⁶ As células com perda de função nestes genes são incapazes de reparar os erros no ADN, dependendo assim da capacidade que as PARP têm em detetar esses danos e em ativar vias de reparação alternativas. Estas células, ao dependerem das PARP para manter a

integridade do genoma, são extremamente vulneráveis aos iPARP.^{20,21} Embora a perda funcional de apenas um dos genes seja tolerada (*BRCA* ou *PARP*), a inibição da função das PARP, em células com mutações nos genes *BRCA*, torna-as incapazes de reparar os danos no ADN, causando a acumulação de erros e, em última instância, levando à morte celular (letalidade sintética).^{4,22-24}

Os iPARP mimetizam estruturalmente o NAD⁺ e interferem com o seu local de ligação ao domínio catalítico das enzimas PARP1 e PARP2. No entanto, apesar desta semelhança no modo de atuação, os efeitos citotóxicos, a sua potência e a capacidade de reter a PARP1 na molécula de ADN difere entre iPARPs.^{4,25} Há várias hipóteses que tentam explicar o mecanismo através do qual os iPARP exercem a sua toxicidade nas células tumorais, provocando a sua morte. Apesar de se reconhecer que os mecanismos preferenciais de atuação destes fármacos passam, essencialmente, pela inibição do ciclo catalítico das PARP e aprisionamento da enzima na molécula de ADN (*trapping*), há ainda outros mecanismos que permitem explicar a ação destes fármacos e que continuam a ser investigados.^{23,26,27}

O modelo clássico que demonstra a sensibilidade das células tumorais aos iPARP baseia-se no mecanismo de letalidade sintética, que se deve aos seguintes eventos:

1. Inibição da via BER: Sob a inibição farmacológica da PARP, não ocorre a reparação dos SSB pelo BER. Isto pode levar à sua conversão em DSB que, em circunstâncias normais, seriam rapidamente reparados pela HR, preservando-se assim a viabilidade celular. No entanto, quando a HR está comprometida, como acontece em células com mutações nos genes *BRCA* ou em tumores *BRCAness*, estes danos não são reparados, havendo uma acumulação de erros que levam à morte celular.^{9,28}

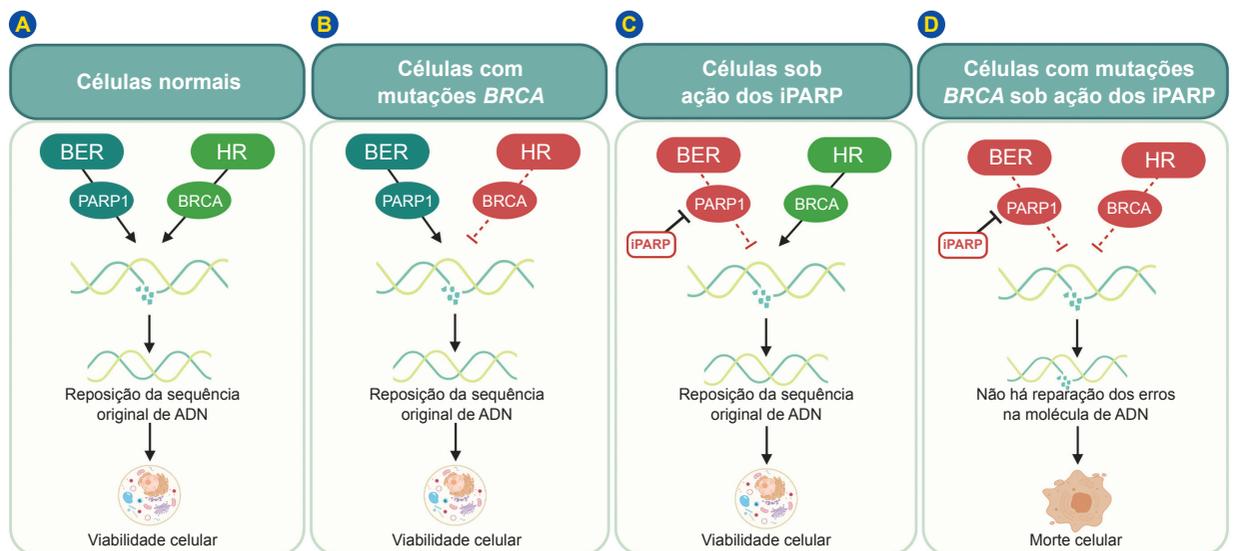


Figura 2 – Morte celular através do mecanismo de letalidade sintética. **A:** A célula apresenta a via do *base-excision repair* (BER) e da recombinação homóloga (HR) funcionais, mantendo a viabilidade celular. **B** e **C:** Através dos iPARP ou de mutações *BRCA*, uma das vias de reparação é inibida. Uma vez que a outra via é funcional, a célula mantém a sua viabilidade. **D:** Ambas as vias de reparação do ADN estão inibidas e, por isso, os erros no ADN não são reparados, ocorrendo, conseqüentemente, morte celular.

2. Aprisionamento da PARP1 no ADN: Os iPARP promovem também a morte celular através do aprisionamento (“trapping”) da PARP1 nos erros no ADN e esta via de atuação pode ser muito mais citotóxica do que a perda da atividade catalítica da enzima.^{29,30} Embora o mecanismo exato que explica o aprisionamento da PARP1 no ADN permaneça ainda por esclarecer, existem dois mecanismos que têm sido propostos²⁹: a) os iPARP evitam a libertação da PARP1 do ADN através da inibição da auto-PARYlation; b) os iPARP ligam-se ao local catalítico da PARP e provocam uma série de alterações na estrutura terciária ou quaternária da enzima que aumentam a sua avidéz para o ADN. De ambas as maneiras, os iPARP evitam que a enzima se dissocie do ADN, comprometendo o ciclo catalítico da PARP1 e a reparação dos erros. Igualmente, o aprisionamento da PARP1 na forquilha de replicação pode provocar a sua obstrução e colapso, convertendo os SSB em DSB que, se não forem reparados como acontece em células tumorais com mutações em genes que codificam proteínas chave do processo HR (*BRCA1*, *BRCA2*, *PALB2* ou *RAD51*), serão altamente deletérios para a célula e levarão à sua morte.^{9,25,28,31}

3. Alteração do recrutamento do *BRCA1*: A PARP1 é essencial para o recrutamento do *BRCA1* para os danos no ADN. Todavia, existem interações entre o *BRCA1* e outras proteínas que se tornam a via preferencial do seu recrutamento quando a PARP1 é inibida. Se o *BRCA1* apresentar uma mutação, essas interações ficarão também comprometidas e, na presença dos iPARP, nenhuma proteína será recrutada para a reparação do ADN e a célula acabará por morrer. Contudo, este modelo não permite explicar os efeitos dos iPARP em células cujo *BRCA1*, e consequentemente a HR, está ativo e funcional.

4. Ativação do NHEJ: Outro mecanismo proposto para a atividade dos iPARP é baseado no papel que a PARP1 tem em inibir a via do NHEJ. Com a utilização dos iPARP, a via do NHEJ passa a ser uma via alternativa de reparação do ADN e, sendo propensa a erros, cursa com um maior número de mutações, rearranjo de cromossomas e, consequentemente, com a morte celular.^{9,28}

5. Dado que as células tumorais com mutações nos genes *BRCA* apresentam uma via HR disfuncional, estas vão depender de vias alternativas para reparar esses erros, nomeadamente do *microhomology-mediated end joining* (MMEJ), que depende das enzimas PARP1 e POLQ (*tranlesion polymerase*). A PARP1 é crucial para recrutar a POLQ para os DSB; assim, um inibidor da POLQ ou da PARP1 irá bloquear a via do MMEJ e matar as células com défices na HR.^{26,32}

UTILIZAÇÃO CLÍNICA DOS INIBIDORES DA PARP EM ONCOLOGIA

Inicialmente postulou-se que os iPARP seriam apenas eficazes em tumores com mutações nos genes *BRCA1/2*. Nos estudos clínicos mais recentes verificou-se que também os tumores sem mutações *BRCA1/2* e com HRD bem como tumores sem HRD podem responder a este tratamento, embora a magnitude do seu benefício seja inferior.^{33,34} Assim, com base nestas observações, o número de doentes que pode, teoricamente, beneficiar dos iPARP foi amplamente alargado.

Os iPARP podem ser utilizados em monoterapia ou em associação com outros fármacos, nomeadamente em combinação com quimioterapia, imunoterapia e outras terapias alvo que limitam a reparação dos danos no ADN.^{28,35} A associação de fármacos apresenta um efeito sinérgico e vantajoso, na medida em que permite superar a resistência aos iPARP e aumentar a eficácia destes fármacos.^{35,36} Neste momento existem pelo menos quatro iPARPs já aprovados pela Food and Drug Administration (FDA) para serem utilizados no tratamento de certas neoplasias:

Olaparib

O olaparib, inicialmente aprovado pela FDA apenas no tratamento de doentes com cancro do ovário avançado, com mutações na linha germinativa *BRCA1/2* (gBRCAm), submetidos a três ou mais esquemas de quimioterapia, foi o primeiro iPARP a entrar na prática clínica. Alguns anos mais tarde, o fármaco foi aprovado pela FDA e pela Agência Europeia do Medicamento (EMA) para o tratamento de manutenção de tumores do ovário avançados, das trompas ou peritoneais primários, com resposta completa ou parcial aos platinos^{37,38} e também para o tratamento de manutenção em doentes com cancro do ovário, das trompas ou do peritoneu avançado, com mutações germinativas ou somáticas do *BRCA* com resposta parcial ou completa à quimioterapia de primeira linha, à base de platinos³⁹. Adicionalmente, as duas agências, aprovaram o uso do Olaparib no tratamento dos tumores da mama com gBRCAm, HER2 negativos, com metastização à distância e previamente tratados com quimioterapia.^{35,40} Para além da sua utilização nos tumores acima referidos, fruto dos resultados do estudo POLO, este fármaco foi aprovado para tratamento de manutenção do adenocarcinoma do pâncreas metastizado, em doentes com gBRCAm nos quais não existiu progressão de doença pelo menos após 16 semanas do tratamento com platinos.^{35,41} No início de 2020, a FDA aprovou ainda o olaparib no tratamento de doentes com cancro da próstata metastizado resistente à castração (mCRPC) e com mutações somáticas ou germinativas nos genes que intervêm na HR, e que tenham progredido após o tratamento prévio com enzalutamide ou abiraterone.⁴² A mesma entidade aprovou ainda a associação do olaparib com o bevacizumab como tratamento de manutenção em doentes com cancro do ovário, das trompas ou peritoneu avançado com resposta parcial ou completa à quimioterapia de primeira linha à base de platino e cujos tumores

apresentem HRD⁴³.

Rucaparib

A eficácia do rucaparib foi avaliada no estudo ARIEL3, no qual se estimou a sobrevivência livre de progressão em doentes com tumores epiteliais do ovário recorrentes, das trompas de Falópio ou peritoneais primários a serem tratados com este fármaco. Observou-se que este poderia melhorar o prognóstico destes doentes, independentemente da presença de mutações no *BRCA1/2*.⁴⁴ Com base nestes resultados, a FDA e a EMA aprovaram, o uso do rucaparib no tratamento de manutenção dos tumores epiteliais do ovário recorrentes, das trompas de Falópio ou peritoneais primários com resposta completa ou parcial aos platinos. Além disso, o rucaparib foi também aprovado para o tratamento de doentes com cancro do ovário avançado associado a mutações nos genes *BRCA* (germinativas e/ou somáticas), previamente tratados com dois ou mais esquemas de quimioterapia.

Niraparib

O estudo NOVA permitiu a aprovação do niraparib no tratamento de manutenção dos tumores epiteliais do ovário, das trompas de Falópio ou peritoneais primários, recidivantes e sensíveis aos platinos.^{33,35} Neste estudo, verificou-se que o benefício do niraparib é transversal aos tumores do ovário, independentemente do estado da HR e das mutações *BRCA*.³³ Assim, mesmo mulheres que não apresentem mutações nos genes *BRCA*, e cuja HR seja funcional, parecem beneficiar do tratamento com niraparib; apesar do maior benefício ser observado em mulheres com mutações *BRCA1/2* e na presença de défices na HR.^{25,45} O niraparib está também aprovado no tratamento de doentes com cancro do ovário avançado, das trompas de Falópio ou peritoneal primário, tratados previamente com três ou mais esquemas de quimioterapia e cujos tumores estão associados a défices na HR. Mais recentemente, o estudo PRIMA,³⁴ no qual se observou uma melhoria significativa da sobrevivência livre de progressão em doentes com cancro do ovário avançado a receberem niraparib após terem respondido aos platinos, permitiu a aprovação do fármaco

no tratamento de manutenção dos tumores do ovário, das trompas ou do peritoneu avançados, com resposta (parcial ou completa) à quimioterapia de primeira linha, à base de platinos.

Talazoparib

O talazoparib é um potente inibidor das PARP. Além de apresentar uma elevada capacidade de inibir a atividade catalítica das enzimas, apresenta maior potencia para aprisionar a PARP1 aos erros no ADN.⁴⁶ De acordo com os resultados do estudo EMBRACA,⁴⁶ o talazoparib foi aprovado para o tratamento dos tumores da mama associados a gBRCAm, HER2 negativos, localmente avançados ou metastizados.^{35,47}

TOXICIDADE DOS INIBIDORES DA PARP

Apesar de apresentarem um perfil de segurança bastante favorável, os iPARP demonstraram, nos ensaios clínicos fase III,^{33,37,44,46} alguns efeitos adversos, dos quais a fadiga, os sintomas gastrointestinais (GI) e a mielossupressão são os mais comuns. As principais reações adversas destes fármacos (Tabela 1) apresentam uma gravidade ligeira a moderada [grau 1 ou 2 da *common terminology criteria for adverse events* (CTCAE)] e, de um modo geral, não necessitam de descontinuação do tratamento.⁴⁸ A fadiga é o efeito adverso mais frequentemente observado e parece ser transversal a todos os iPARP. Uma vez que pode apresentar um impacto muito negativo na qualidade de vida dos doentes, torna-se fundamental implementar estratégias para a minimizar. Os tratamentos não farmacológicos como o exercício, a terapia cognitivo-comportamental e as massagens terapêuticas podem ser eficazes a reduzir os sintomas. Para os doentes mais sintomáticos, podem ser prescritos psicostimulantes, como o metilfenidato.^{48,49} Os efeitos adversos GI são extremamente comuns e tendem a ocorrer em todos os doentes tratados com iPARP. As náuseas são o efeito adverso mais prevalente, ocorrendo em 148 (76%) dos 195 doentes tratados com olaparib, 280 (75%) dos 372 doentes tratados com rucaparib, 270 (74%) dos 367 doentes tratados com niraparib e 139 (49%) dos 286 doentes tratados com talazoparib, seguindo-se o

Tabela 1 – Toxicidade dos iPARP descrita nos ensaios de fase 3^{33,37,44,46}

	Olaparib	Niraparib	Rucaparib	Talazoparib
Efeitos adversos mais frequentes	Náuseas 76%	Náuseas 74%	Náuseas 75%	Fadiga 50%
	Fadiga 66%	Fadiga 59%	Fadiga 69%	Náuseas 49%
	Vómitos 38%	Obstipação 40%	Vómitos 37%	Cefaleias 33%
	Diarreia 33%	Vómitos 34%	Obstipação 37%	Alopecia 25%
	Dor abdominal 25%	Cefaleias 26%	Aumento da AST ou ALT 34%	Vómitos 25%
		Dor abdominal 23%	Diarreia 32%	Diarreia 22%
		Diarreia 20%	Dor abdominal 30%	
	Anemia 43%	Anemia 50%	Anemia 37%	Anemia 53%
	Neutropenia 19%	Neutropenia 30%	Neutropenia 18%	Neutropenia 35%
	Trombocitopenia 14%	Trombocitopenia 61%	Trombocitopenia 28%	Trombocitopenia 27%

vômitos, a diarreia, a obstipação e a dor abdominal. Algumas opções para ultrapassar a toxicidade GI associada a estes fármacos, passam pela interrupção ou redução da dose e/ou terapêutica antiemética.^{48,49} A toxicidade hematológica tende a ocorrer precocemente após o início do tratamento com iPARP e a resolver alguns meses após a toma dos fármacos. A anemia é o principal efeito adverso hematológico, ocorrendo em 85 (44%) dos 195 doentes tratados com olaparib,³⁷ em 184 (50%) dos 367 doentes tratados com niraparib,³³ 139 (37%) dos 372 dos doentes tratados com rucaparib⁴⁴ e em 151 (53%) dos 286 doentes tratados com talazoparib⁴⁶. Para além desta, também a neutropenia e a trombocitopenia são comumente observadas. Em algumas situações, quando a gravidade dos efeitos adversos é ≥ 3 CTCAE, pode ser necessário interromper ou reduzir a dose do fármaco e, quando apropriado, realizar transfusão de sangue para resolução da anemia.^{48,49} De todos os iPARP, o niraparib é o que apresenta a maior toxicidade hematológica. Assim, recomenda-se que o tratamento com este fármaco não se inicie até que a mielossupressão causada pela quimioterapia seja resolvida.⁴⁵

RESISTÊNCIA TERAPÊUTICA AOS INIBIDORES DA PARP

Tal acontece com outras terapias alvo, a resistência aos iPARP tem-se observado na maioria dos doentes com tumores avançados. São vários os mecanismos de resistência propostos até ao momento que demonstram de que forma as células tumorais deixam de responder aos efeitos citotóxicos dos iPARP. Contudo, esta é uma área extremamente complexa, que necessita de uma investigação continuada, para que se obtenha uma uniformização relativamente aos mecanismos clinicamente evidentes e para que sejam desenvolvidas estratégias para ultrapassar essa resistência. Geralmente, os principais mecanismos de resistência podem ser agrupados da seguinte forma:

1. Mecanismos de resistência que restauram a via HR:

a. Mutações secundárias que restauram a *open reading frame* (ORF) dos genes que intervêm na HR (*BRCA1/2*, *PALB2*, *RAD51C/D*), permitindo a síntese de proteínas funcionais que, consequentemente, restauram a capacidade de reparar os erros no ADN causados pelos iPARP.^{5,25,32} Este mecanismo é também responsável pela resistência aos platinos.^{26,50}

b. Expressão de variantes hipomórficas *BRCA1/2*.

c. Alterações epigenéticas nos genes que intervêm na HR, como a desmetilação do promotor dos genes *BRCA1* e *RAD51C*, que está associada com uma reexpressão proteica e desenvolvimento de resistência aos iPARP.^{26,32}

d. Mutações que comprometam a regulação do ADN *end-resection* através da perda da 53BP1, REV7/MAD2L2, ou complexo de Shieldin, permitindo manter a HR na ausência de *BRCA1*.

A 53BP1 apresenta um papel crucial ao facilitar a via do NHEJ e a inibir a via HR. A perda deste fator restaura a HR em células com mutações *BRCA1* e confere resistência aos iPARP.^{25,50,51} O complexo de Shieldin, formado pelas proteínas FAM35A e C20ORF19, interage com MAD2L2, que faz parte da via do 53BP1. A interação entre o complexo de Shieldin e MAD2L2 facilita a ocorrência da NHEJ e evita a HR, sensibilizando as células tumorais com défices nos genes *BRCA1* à inibição das PARP. Por outro lado, a inativação do complexo de Shieldin evita a ocorrência do NHEJ e promove a HR, conferindo resistência aos iPARP.^{26,32,50,51}

2. Mecanismos de resistência independentes da via HR:

a. Estabilização da forquilha de replicação, processo onde as proteínas *BRCA1/2* e *PARP1* têm um papel crucial. Na sua ausência, a forquilha de replicação não é estabilizada, não ocorrendo reparação dos erros no ADN e, consequentemente, levando à morte celular. Células tumorais com mutações no gene *BRCA2* reduzem a expressão da proteína PTIP, inibindo o recrutamento da nuclease MRE11, o que favorece a estabilização e proteção da forquilha de replicação,⁵² contribuindo para a reparação dos erros no ADN e prevenção da letalidade induzida pelos iPARP.^{25,32,53,54}

b. Redução da expressão das enzimas PARP, que contribui para a redução da atividade do fármaco e redução do aprisionamento da *PARP1*.^{5,26,50}

c. Efluxo do fármaco devido à expressão dos transportadores *ATP-binding cassette (ABC)* nas células tumorais, como a P-glicoproteína, aumentando o efluxo dos iPARP, reduzindo a disponibilidade do fármaco e, consequentemente, contribuindo para que os seus efeitos sejam diminuídos.^{5,26,50,51}

d. POLQ: Doentes com mutações reversas no gene *BRCA1* exibem sinais de MMEJ, sugerindo a POLQ como um veículo de resistência aos iPARP. Assim, inibidores da POLQ podem suprimir a resistência adquirida aos iPARP, conferindo letalidade sintética nos tumores com défices na HR e NHEJ.³²

e. Mutações nas enzimas *poly(ADP-ribose)-glycohydrolases (PARG)* podem levar a resistência através de um mecanismo que não restaura a HR. A perda das PARG resulta na acumulação de cadeias PAR que, ao não serem degradadas, mantém a atividade das enzimas.

BIOMARCADORES DE RESPOSTA AOS INIBIDORES DA PARP

Os biomarcadores preditivos aos iPARP são fundamentais para a seleção do tratamento mais adequado para os doentes com cancro. De facto, a presença de mutações nos genes *BRCA1/2* permanece como o único biomarcador de resposta.^{4,9,53} No entanto, recentemente, têm sido propostos novos biomarcadores, tais como a resposta

aos platinos (nem sempre consensual com a resposta aos iPARP), a análise da perda de heterozigotia, os elevados níveis de PARP1 e PARP2, as alterações genéticas e mutações em genes envolvidos na reparação por HR (*PALB2*, *ATM*, *RAD51C/D*).^{21,55-58} A determinação da sensibilidade e especificidade destes biomarcadores irá aumentar o alcance terapêutico dos iPARP para uma população mais ampla de tumores.

CONCLUSÃO

Os iPARP mudaram o paradigma do tratamento dos tumores do ovário e da mama com mutações nos genes *BRCA1/2*. Os ensaios clínicos procuram expandir a aplicação clínica destes fármacos para um grupo de tumores mais abrangente, nos quais se incluem não só tumores da mama e do ovário com mutações *BRCA1/2*, mas também outros tumores portadores de défices genéticos, como é o caso de alterações na HR. Atualmente, a EMA e a FDA aprovaram a utilização de quatro iPARP (olaparib, rucaparib, niraparib e ralazoparib) para o tratamento de determinados tumores tais como os do ovário recorrentes, mama, pâncreas e próstata.

Apesar da evolução científica em oncologia e dos iPARP representarem uma estratégia inovadora, existem ainda questões por responder. O desenvolvimento de biomarcadores preditivos que permitam definir o grupo de doentes elegíveis ao tratamento é uma área pouco explorada e que necessita de mais estudos para apurar a sua relevância clínica, de forma a aumentar o potencial de resposta aos iPARP e estratificar os doentes que poderão obter um maior benefício. A uniformização dos mecanismos de resistência envolvidos na redução dos efeitos citotóxicos dos iPARP e o desenvolvimento de estratégias para a ultrapassar, como através da utilização dos inibidores da POLQ, são uma abordagem crucial para potenciar a aplicação destes fármacos a um maior número de tumores. Além disso, é ainda prematuro concluir sobre qual dos iPARP é mais eficaz num

grupo de doentes e/ou tumores, uma vez que não existem estudos comparativos entre iPARPs; assim, não podemos saber se a maior potência de um iPARP se traduz em maior eficácia clínica quando as indicações para o uso de iPARPs se sobrepõem.

Finalmente, acreditamos que é necessária uma investigação clínica continuada para que seja possível obter mais conhecimento em relação a esta classe de fármacos e ao seu papel nas estratégias futuras de tratamento.

CONTRIBUTOS DOS AUTORES

CB: Conceção do trabalho; pesquisa bibliográfica; redação do manuscrito.

JP: Revisão crítica do manuscrito.

PROTEÇÃO DE PESSOAS E ANIMAIS

Os autores declaram que os procedimentos seguidos estavam de acordo com os regulamentos estabelecidos pelos responsáveis da Comissão de Investigação Clínica e Ética e de acordo com a Declaração de Helsínquia da Associação Médica Mundial actualizada em 2013.

CONFIDENCIALIDADE DOS DADOS

Os autores declaram ter seguido os protocolos do seu centro de trabalho acerca da publicação de dados.

CONSENTIMENTO DO DOENTE

Obtido.

CONFLITOS DE INTERESSE

Os autores declaram não ter conflitos de interesses relacionados com o presente trabalho.

FONTES DE FINANCIAMENTO

Este trabalho não recebeu qualquer tipo de suporte financeiro de nenhuma entidade no domínio público ou privado.

REFERÊNCIAS

- AmericanCancer. The burden of cancer. [consultado 2020 fev 12]. Disponível em: <http://canceratlas.cancer.org/Xoh>.
- Iglehart JD, Silver DP. Synthetic lethality - a new direction in cancer-drug development. *N Engl J Med*. 2009;361:189-91.
- Evans MK, Longo DL. *PALB2* mutations and breast-cancer risk. *N Engl J Med*. 2014;371:566-8.
- Lord CJ, Ashworth A. PARP inhibitors: synthetic lethality in the clinic. *Science*. 2017;355:1152-8.
- Lord CJ, Ashworth A. Mechanisms of resistance to therapies targeting *BRCA*-mutant cancers. *Nat Med*. 2013;19:1381-8.
- Farmer H, McCabe N, Lord CJ, Tutt AN, Johnson DA, Richardson TB, et al. Targeting the DNA repair defect in *BRCA* mutant cells as a therapeutic strategy. *Nature*. 2005;434:917-21.
- Lord CJ, Ashworth A. The DNA damage response and cancer therapy. *Nature*. 2012;481:287-94.
- McLornan DP, List A, Mufti GJ. Applying synthetic lethality for the selective targeting of cancer. *N Engl J Med*. 2014;371:1725-35.
- Mirza MR, Pignata S, Ledermann JA. Latest clinical evidence and further development of PARP inhibitors in ovarian cancer. *Ann Oncol*. 2018;29:1366-76.
- Franzese E, Centonze S, Diana A, Carlino F, Guerrero LP, Di Napoli M, et al. PARP inhibitors in ovarian cancer. *Cancer Treat Rev*. 2019;73:1-9.
- Hou WH, Chen SH, Yu X. Poly-ADP ribosylation in DNA damage response and cancer therapy. *Mutat Res Rev Mutat Res*. 2019;780:82-91.
- Wei H, Yu X. Functions of PARylation in DNA damage repair pathways. *Genomics Proteomics Bioinformatics*. 2016;14:131-9.
- Chaudhuri AR, Nussenzweig A. The multifaceted roles of PARP1 in DNA repair and chromatin remodelling. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2017;18:610-21.
- Rouleau M, Patel A, Hendzel MJ, Kaufmann SH, Poirier GG. PARP inhibition: PARP1 and beyond. *Nat Rev Cancer*. 2010;10:293-301.
- Kumar C, Rani N, Velan Lakshmi PT, Arunachalam A. A comprehensive look of poly(ADP-ribose) polymerase inhibition strategies and future directions for cancer therapy. *Future Med Chem*. 2017;9:37-60.
- Loeffler PA, Cuneo MJ, Mueller GA, DeRose EF, Gabel SA, London RE. Structural studies of the PARP-1 BRCT domain. *BMC Struct Biol*. 2011;11:37.
- Langelier MF, Pascal JM. PARP-1 mechanism for coupling DNA damage detection to poly(ADP-ribose) synthesis. *Curr Opin Struct Biol*. 2013;23:134-43.
- Livraghi L, Garber JE. PARP inhibitors in the management of breast cancer: current data and future prospects. *BMC Medicine*. 2015;13:188.
- Fong PC, Boss DS, Yap TA, Tutt A, Wu P, Mergui-Roelvink M, et al. Inhibition of poly(ADP-ribose) polymerase in tumors from *BRCA* mutation carriers. *N Engl J Med*. 2009;361:123-34.

20. Spriggs DR, Longo DL. PARP inhibitors in ovarian cancer treatment. *N Engl J Med.* 2016;375:2197-8.
21. Cruz C, Castroviejo-Bermejo M, Gutierrez-Enriquez S, Llop-Guevara A, Ibrahim YH, Gris-Oliver A, et al. RAD51 foci as a functional biomarker of homologous recombination repair and PARP inhibitor resistance in germline BRCA-mutated breast cancer. *Ann Oncol.* 2018;29:1203-10.
22. Eisemann T, Pascal JM. Poly(ADP-ribose) polymerase enzymes and the maintenance of genome integrity. *Cell Mol Life Sci.* 2020;77:19-33.
23. Wang S, Han L, Han J, Li P, Ding Q, Zhang QJ, et al. Uncoupling of PARP1 trapping and inhibition using selective PARP1 degradation. *Nat Chem Biol.* 2019;15:1223-31.
24. Ledermann JA. PARP inhibitors in ovarian cancer. *Ann Oncol.* 2016;27:i40-4.
25. Mateo J, Lord CJ, Serra V, Tutt A, Balmaña J, Castroviejo-Bermejo M, et al. A decade of clinical development of PARP inhibitors in perspective. *Ann Oncol.* 2019;30:1437-47.
26. D'Andrea AD. Mechanisms of PARP inhibitor sensitivity and resistance. *DNA Repair.* 2018;71:172-6.
27. Pettitt SJ, Lord CJ. Dissecting PARP inhibitor resistance with functional genomics. *Curr Opin Genet Dev.* 2019;54:55-63.
28. Konecny GE, Kristeleit RS. PARP inhibitors for BRCA1/2-mutated and sporadic ovarian cancer: current practice and future directions. *Br J Cancer.* 2016;115:1157-73.
29. Murai J, Huang SN, Das BB, Renaud A, Zhang Y, Doroshow JH, et al. Trapping of PARP1 and PARP2 by Clinical PARP Inhibitors. *Cancer Res.* 2012;72:5588-99.
30. Pommier Y, O'Connor MJ, de Bono J. Laying a trap to kill cancer cells: PARP inhibitors and their mechanisms of action. *Sci Transl Med.* 2016;8:362ps317.
31. Dziadkowiec KN, Gasiorowska E, Nowak-Markwitz E, Jankowska A. PARP inhibitors: review of mechanisms of action and BRCA1/2 mutation targeting. *Prz Menopauzalny.* 2016;15:215-9.
32. Gourley C, Balmaña J, Ledermann JA, Serra V, Dent R, Loibl S, et al. Moving from poly (ADP-Ribose) polymerase inhibition to targeting DNA repair and DNA damage response in cancer therapy. *J Clin Oncol.* 2019;37:2257-69.
33. Mirza MR, Monk BJ, Herrstedt J, Oza AM, Mahner S, Redondo A, et al. Niraparib maintenance therapy in platinum-sensitive, recurrent ovarian cancer. *N Engl J Med.* 2016;375:2154-64.
34. González-Martín A, Pothuri B, Vergote I, DePont Christensen R, Graybill W, Mirza MR, et al. Niraparib in Patients with Newly Diagnosed Advanced Ovarian Cancer. *N Engl J Med.* 2019;381:2391-402.
35. Yi M, Dong B, Qin S, Chu Q, Wu K, Luo S. Advances and perspectives of PARP inhibitors. *Exp Hematol Oncol.* 2019;8:29.
36. Dréan A, Lord CJ, Ashworth A. PARP inhibitor combination therapy. *Crit Rev Oncol Hematol.* 2016;108:73-85.
37. Pujade-Lauraine E, Ledermann JA, Selle F, GebSKI V, Penson RT, Oza AM, et al. 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. *Lancet Oncol.* 2017;18:1274-84.
38. Matulonis UA, Harter P, Gourley C, Friedlander M, Vergote I, Rustin G, et al. Olaparib maintenance therapy in patients with platinum-sensitive, relapsed serous ovarian cancer and a BRCA mutation: Overall survival adjusted for postprogression poly(adenosine diphosphate ribose) polymerase inhibitor therapy. *Cancer.* 2016;122:1844-52.
39. Moore K, Colombo N, Scambia G, Kim BG, Oaknin A, Friedlander M, et al. Maintenance olaparib in patients with newly diagnosed advanced ovarian cancer. *N Engl J Med.* 2018;379:2495-505.
40. Robson M, Seock-Ah I, Senkus E, Xu B, Domchek SM, Masuda N, et al. Olaparib for metastatic breast cancer in patients with a germline BRCA mutation. *N Engl J Med.* 2017;377:523-33.
41. Golan T, Hammel P, Reni M, Van Cutsem E, Macarulla T, Hall MJ, et al. Maintenance Olaparib for Germline BRCA-Mutated Metastatic Pancreatic Cancer. *N Engl J Med.* 2019;381:317-27.
42. de Bono J, Mateo J, Fizazi K, Saad F, Shore N, Sandhu S, et al. Olaparib for metastatic castration-resistant prostate cancer. *N Engl J Med.* 2020;382:2091-102.
43. Ray-Coquard I, Pautier P, Pignata S, Pérol D, González-Martín A, Berger R, et al. Olaparib plus bevacizumab as first-line maintenance in ovarian cancer. *N Engl J Med.* 2019;381:2416-28.
44. Coleman RL, Oza AM, Lorusso D, Aghajanian C, Oaknin A, Dean A, et al. Rucaparib maintenance treatment for recurrent ovarian carcinoma after response to platinum therapy (ARIEL3): a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 3 trial. *Lancet.* 2017;390:1949-61.
45. Ethier JL, Lheureux S, Oza AM. The role of niraparib for the treatment of ovarian cancer. *Future Oncol.* 2018;14:2565-77.
46. Litton JK, Rugo HS, Ettl J, Hurvitz SA, Gonçalves A, Lee KH, et al. Talazoparib in patients with advanced breast cancer and a germline BRCA mutation. *New Engl J Med.* 2018;379:753-63.
47. McCann KE. Advances in the use of PARP inhibitors for BRCA1/2-associated breast cancer: talazoparib. *Future Oncol.* 2019;15:1707-15.
48. LaFargue CJ, Dal Molin GZ, Sood AK, Coleman RL. Exploring and comparing adverse events between PARP inhibitors. *Lancet Oncol.* 2019;20:e15-28.
49. Gunderson CC, Matulonis U, Moore KN. Management of the toxicities of common targeted therapeutics for gynecologic cancers. *Gynecol Oncol.* 2018;148:591-600.
50. Du Y, Yamaguchi H, Hsu JL, Hung MC. PARP inhibitors as precision medicine for cancer treatment. *Natl Sci Rev.* 2017;4:576-92.
51. Sachdev E, Tabatabai R, Roy V, Rimel BJ, Mita MM. PARP inhibition in cancer: an update on clinical development. *Target Oncol.* 2019;14:657-79.
52. Ray Chaudhuri A, Callen E, Ding X, Gogola E, Duarte AA, Lee JE, et al. Replication fork stability confers chemoresistance in BRCA-deficient cells. *Nature.* 2016;535:382-7.
53. Cook SA, Tinker AV. PARP inhibitors and the evolving landscape of ovarian cancer management: a review. *BioDrugs.* 2019;33:255-73.
54. Ganesan S. Tumor suppressor tolerance: reversion mutations in BRCA1 and BRCA2 and resistance to PARP inhibitors and platinum. *JCO Precis Oncol.* 2018:1-4.
55. Lheureux S, Mirza M, Coleman R. The DNA repair pathway as a target for novel drugs in gynecologic cancers. *J Clin Oncol.* 2019;37:2449-59.
56. Bitler BG, Watson ZL, Wheeler LJ, Behbakht K. PARP inhibitors: clinical utility and possibilities of overcoming resistance. *Gynecol Oncol.* 2017;147:695-704.
57. Stover EH, Konstantinopoulos PA, Matulonis UA, Swisher EM. Biomarkers of response and resistance to DNA repair targeted therapies. *Clin Cancer Res.* 2016;22:5651.
58. Ganguly B, Dolfi SC, Rodriguez-Rodriguez L, Ganesan S, Hirshfield KM. Role of biomarkers in the development of PARP inhibitors. *Biomark Cancer.* 2016;8s1:BIC.S36679.