

О хрупкой ДНК и ее паладине

Ни для кого уже не секрет, что хранилищем наследственной информации живых существ является ДНК, но далеко не все знают, что это очень хрупкая молекула! Ежедневно в каждой клетке нашего организма случаются тысячи повреждений и поломок ДНК, что сулит множество проблем не только клетке, но и всему организму. То, что мы до сих пор живы, означает, что это ужасающее число неисправностей каким-то образом «ремонтируется». Более того, жизнь на нашей планете постоянно эволюционирует. Но трудно представить себе поступательное развитие в ситуации, когда генетический материал регулярно перестраивается и повреждается. И хотя некоторое количество таких перестроек необходимо для эволюционного процесса, без постоянного контроля за сохранностью генетической информации само существование жизни ставится под угрозу. Клеточные системы репарации ДНК, тщательно отслеживающие ее состояние и восстанавливающие поломки, появились еще на заре зарождения жизни, и их возникновение дало нашим прародителям необычайное преимущество в эволюционной гонке. Героями этой статьи стали белки-ферменты, которые первыми подают сигнал о плохом «здоровье» ДНК, призывая этих спасателей на помощь

Ключевые слова:

ДНК, репарация ДНК, ПАРилирование, PARP1, PARP2, HPF1, хроматин, посттрансляционные модификации.

Key words: DNA, DNA repair, PARylation, PARP1, PARP2, HPF1, chromatin, post-translational modifications



КУРГИНА Татьяна Андреевна – кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории биоорганической химии ферментов Института химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН (Новосибирск). Автор и соавтор 16 научных работ и 1 монографии



ЛАВРИК Ольга Ивановна – академик РАН, профессор, доктор химических наук, главный научный сотрудник и заведующая лабораторией биоорганической химии ферментов Института химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН (Новосибирск). Лауреат Государственной премии СССР (1984), премии РАН им. А. Н. Белозерского (2022), премии им. Ю. А. Овчинникова (2024), кавалер французского ордена Академических пальм (2016) и ордена Дружбы (2024). Автор и соавтор более 500 научных статей, в том числе 13 монографий и учебников, а также 21 патента

В очень далекие времена из хаоса первичного бульона появились организмы, чья генетическая информация оказалась более устойчива к недружелюбной среде молодой Земли, благодаря чему все их полезные признаки и способности передавались потомству. Ведь именно сохранность генетической информации обеспечивает феномен наследования, а возникновение систем, ее поддерживающих, поставило локомотив жизни на рельсы естественного отбора. Ну какой эволюционный смысл в удачном фенотипе, если генотип постоянно ломается?

За миллиарды лет на разных ветвях нашего древа жизни появилось множество вариантов систем *репарации* («ремонта») ДНК. Эти системы – разнообразные,

усовершенствованные, круглосуточно оберегающие живое от гибели – с нами по сей день. Они представляют собой сложные мультиферментные комплексы, где у каждого участника своя уникальная роль.

Как известно, клеточный метаболизм осуществляется множеством различных ферментов и белковых факторов. Каждый фермент представляет собой «молекулярную машину», которая катализирует определенную химическую реакцию. Ферменты участвуют в синтезе и разрушении полимеров, окисляют и восстанавливают различные соединения, поддерживая таким образом гомеостаз клетки и, в частности, стабильность структуры ДНК.

© Т.А. Кургина, О.И. Лаврик, 2024

И сегодня речь пойдет об очень важных, ключевых для высших организмов ферментах *поли(АДФ-рибоза) полимераз*, работающих во взаимодействии с другими репарационными белками. Эти ферменты были открыты более полувека назад, но многое в их «жизни» и «поведении» неясно до сих пор.

SOS: ДНК под угрозой!

Открытие структуры ДНК – одно из самых важных событий в науке прошлого века – состоялось всего 70 лет назад, в 1953 г. А спустя 10 лет группа французского биохимика П. Мандела обнаружила еще одну ранее неизвестную нуклеиновую кислоту, накапливающуюся в ядре клеток млекопитающих.

Так была открыта *поли(АДФ)рибоза* (ПАР, PAR), похожая на *рибонуклеиновую кислоту* (РНК), но состоящая из повторяющихся звеньев лишь одного нуклеотида – *аденозиндифосфата* (АДФ). Интересно, что уже в то время появилась гипотеза о связи накопления этого соединения с ростом раковых клеток.

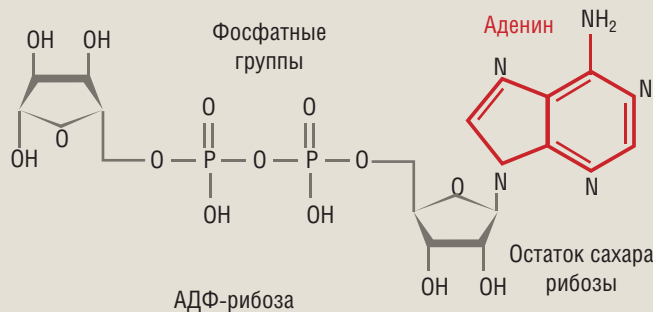
За изучение нового биополимера взялись несколько лабораторий. В 1971 г. японские ученые М. Мива и Т. Сугимура обнаружили фермент *гликогидролазу* (PARG), который разрушает ПАР. Оказалось, что ПАР не хранится долго в клетке, при этом в обычных клетках, не подвергшихся воздействию ДНК-повреждающих агентов, уровень ее синтеза очень низок.

Стало очевидно, что образование и разрушение ПАР может иметь регуляторную функцию. В то время как ДНК и РНК в первую очередь отвечают за хранение и передачу генетической информации, появление и исчезновение ПАР в ядре – это скорее сигнал, возникающий в ответ на какое-то событие. Но какое?

Как читатель, вероятно, уже догадался, речь идет о повреждениях ДНК. Именно в ответ на воздействие различных факторов, повреждающих наследственный материал, количество клеточной ПАР многократно возрастает. И это служит своего рода красным флагом, сигналом SOS для систем «ремонта» ДНК.

Конечно, ПАР не возникает в клетке сама по себе – за ее синтез в первую очередь отвечает фермент, названный *поли(АДФ-рибоза)полимераза 1* (PARP1). Открыт он был в конце 1980-х гг. и долгое время считался единственным ферментом с такой активностью в клетках млекопитающих. Однако после почти 15-летнего интенсивного изучения были идентифицированы пять генов, кодирующих другие поли- и моно(АДФ-рибоза) полимеразы. Сейчас это семейство ферментов включает 18 различных белков, однако именно с помощью PARP1 в клетке синтезируется наибольшее количество ПАР в ответ на повреждения ДНК.

Между открытием этого важного биополимера и обнаружением фермента, ответственного за его синтез,



Поли(АДФ)рибоза (ПАР, PAR) относится к нуклеиновым кислотам. Этот биополимер состоит из нуклеотида одного типа – остатков АДФ-рибозы (*вверху*), в структуру которой входит азотистое основание аденин, также входящий в состав РНК и ДНК

Самыми известными нуклеиновыми кислотами являются ДНК и РНК, которые не только служат в клетке носителями и хранителями наследственной информации, но и выполняют другие важные клеточные функции. Они представляют собой полимер, состоящий из множества соединенных между собой звеньев-мономеров (нуклеотидов) четырех видов.

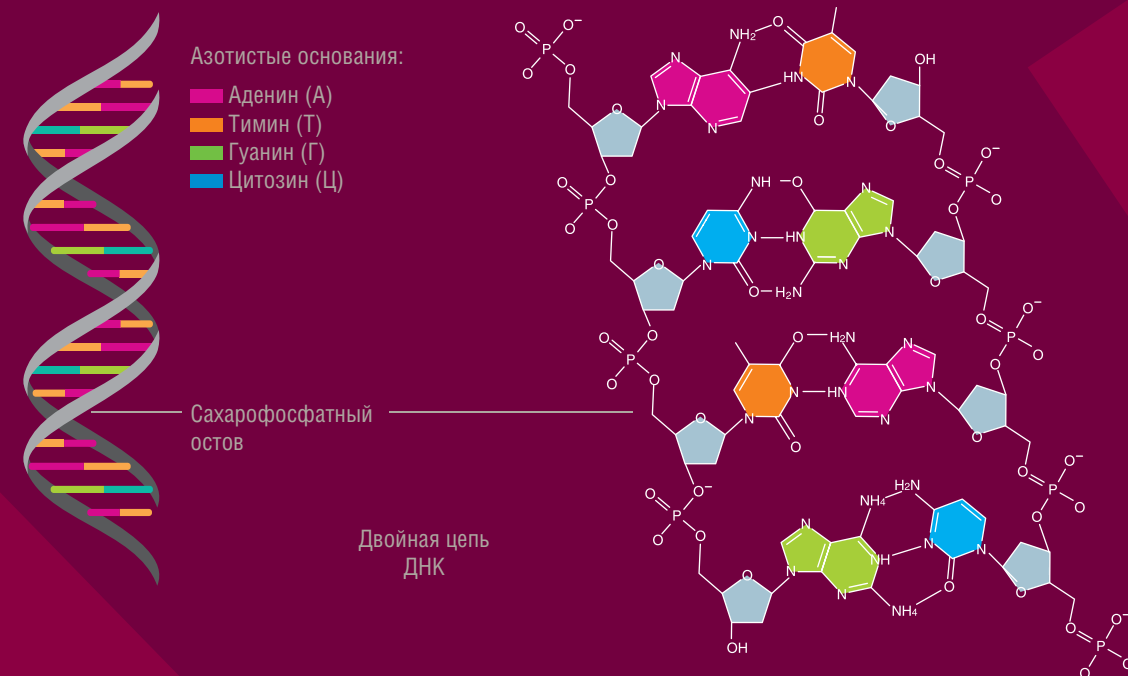
Нуклеиновые кислоты могут быть линейными и кольцевыми и содержать одну-две цепи. У высших организмов основная масса ДНК находится в ядре и представлена длинной спиральной молекулой из двух закрученных «цепочек», тогда как активная молекула РНК состоит из одной цепи, образующей конгломерат из коротких спиралей, похожий на белковую глобулу.

Обнаруженная в 1963 г. в ядре клетки нуклеиновая кислота поли(АДФ)рибоза (ПАР) устроена намного проще: этот полимер состоит из повторяющихся звеньев только одного мономера – АДФ-рибозы. В состав этого нуклеотида входит остаток сахара рибозы, как и у РНК, тогда как у ДНК – дезоксирибозы

прошло четверть века, и так долго «прятанный» от исследователей PARP1 продолжил удивлять ученых.

«Вашу маму и там и тут передают!»

Герой нашего повествования фермент PARP1 – один из самых распространенных белков клеточного ядра. Такая популярность объясняется его первостепенной для клетки функцией – поиском повреждений ДНК, тех самых, которых и в норме образуется тысячи, а при неблагоприятных условиях и того больше.



Молекула ДНК состоит из двух цепочек, закрученных в общую спираль. Ее сахарофосфатный остов включает чередующиеся фосфатные группы и остатки сахара-дезоксирибозы, к которым присоединены азотистые основания 4 видов

Цепи ДНК удерживаются вместе за счет образования химических водородных связей между азотистыми основаниями, которые взаимодействуют комплементарно: аденин – только с тимином, гуанин – с цитозином

На ДНК постоянно воздействуют разнообразные факторы химической и физической природы, включая свободные радикалы, УФ-излучение, мутагены и др., а также ошибки при репликации (копировании ДНК). Все такие перестройки нарушают структуру и стабильность молекулы. При этом могут происходить потеря и окисление отдельных азотистых оснований, сшивки внутри цепей и даже их разрывы. Система репарации ДНК способна все это исправить. При этом сигналом SOS служит появление в ядре другой нуклеиновой кислоты – ПАР (поли(АДФ)рибозы)



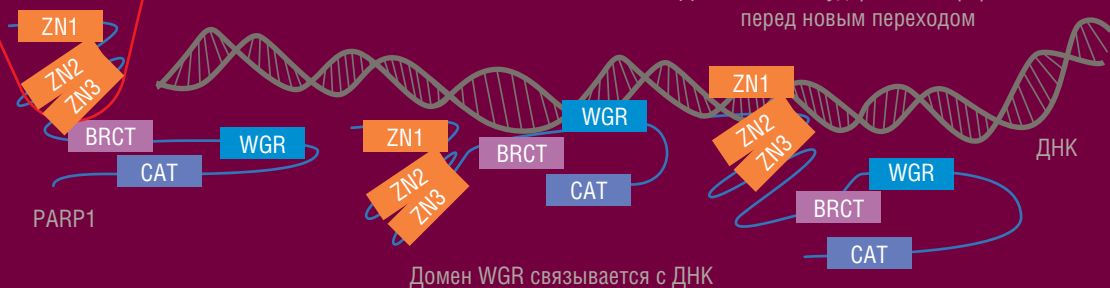


Фермент PARP1 состоит из отдельных частей-доменов, каждый из которых выполняет свою функцию. Домены цинковых пальцев (ZN1-3), BRCT и WGR отвечают за связывание с молекулой ДНК и перемещение по ней, домен CAT – за каталитическую функцию. Слева – домен цинкового пальца PARP1, связавшийся с ДНК. © CC BY-SA 4.0/Balzua

Различные домены PARP1 могут взаимодействовать друг с другом, регулируя активность фермента. Наличие такого сотрудничества позволяет PARP1 эффективно перемещаться по ядру с помощью механизма «перехват», как обезьяна по веткам и лианам. При этом домены цинковых пальцев выполняют роль одной «руки», а BRCT и WGR – второй

Предполагается, что при поиске повреждения фермент PARP1 связывается с молекулой ДНК с помощью домена WGR, а за ним подтягиваются остальные домены. Домены ZN1-3, связавшись с ДНК, дают возможность WGR «отпустить перекладину» и схватиться за следующую. Так, перехватывая двумя «руками», фермент передвигается по ДНК (внизу)

Домены ZN1-3 удерживают фермент перед новым переходом

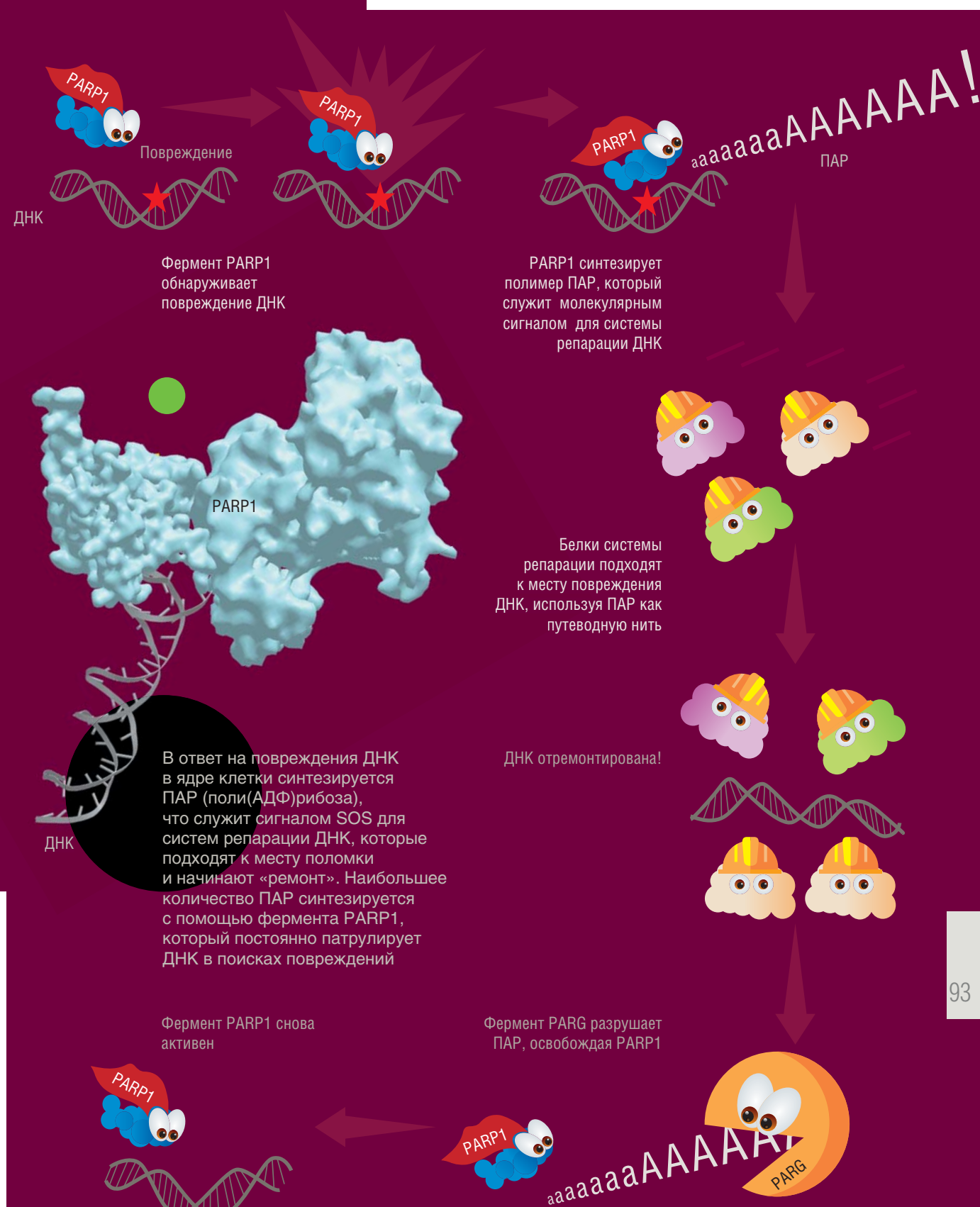


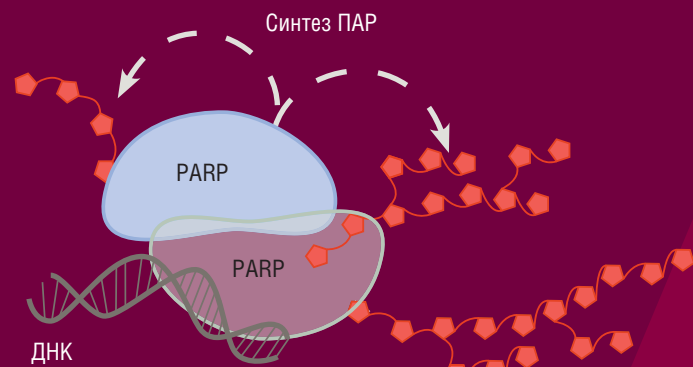
Так как в клетке нет дистанционных средств связи, самый надежный способ не пропустить поломку – быть везде и сразу. С этим PARP1 успешно справляется: прямо сейчас в наших клетках тысячи молекул этого фермента, словно обезьяны, перепрыгивают от одного участка ДНК к другому в поисках образовавшихся разрывов.

И это сравнение неслучайно: австрийско-американский биохимик К. Люгер из Университета Колорадо в Боулдере, открывшая этот механизм, назвала его *monkey bar* («обезьяний бар» – конструкции из столбов и балок на детских площадках). Фермент действительно перехватывает нити ДНК своими доменами (составными частями) подобно тому, как обезьяна передвигается по ветке или лиане, перехватывая ее лапами.

Таким способом молекулы PARP1 могут быстро перемещаться по ДНК в ядре. Когда повреждение обнаружено, фермент связывается с местом поломки и лишь тогда активируется и синтезирует ПАР. Сигнал строго специфичен, что важно: синтез этого полимера вне повреждения ДНК «запутал» бы клеточные системы репарации, которые могли бы ложно сработать.

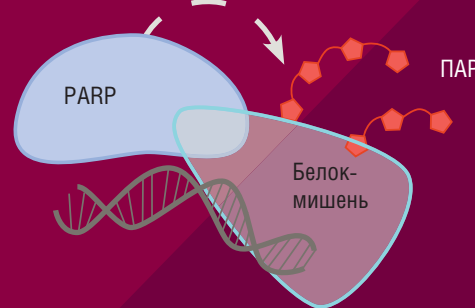
Синтезируемая ПАР связана преимущественно с самим ферментом, который как бы «одевается в шубу» из разветвленных цепей созданного им полимера – происходит *автомоодификация*. Многие из белков репарационных систем имеют участки для взаимодействия с ПАР, который они и используют как «путеводную нить» к месту повреждения ДНК, где могут начать работу.





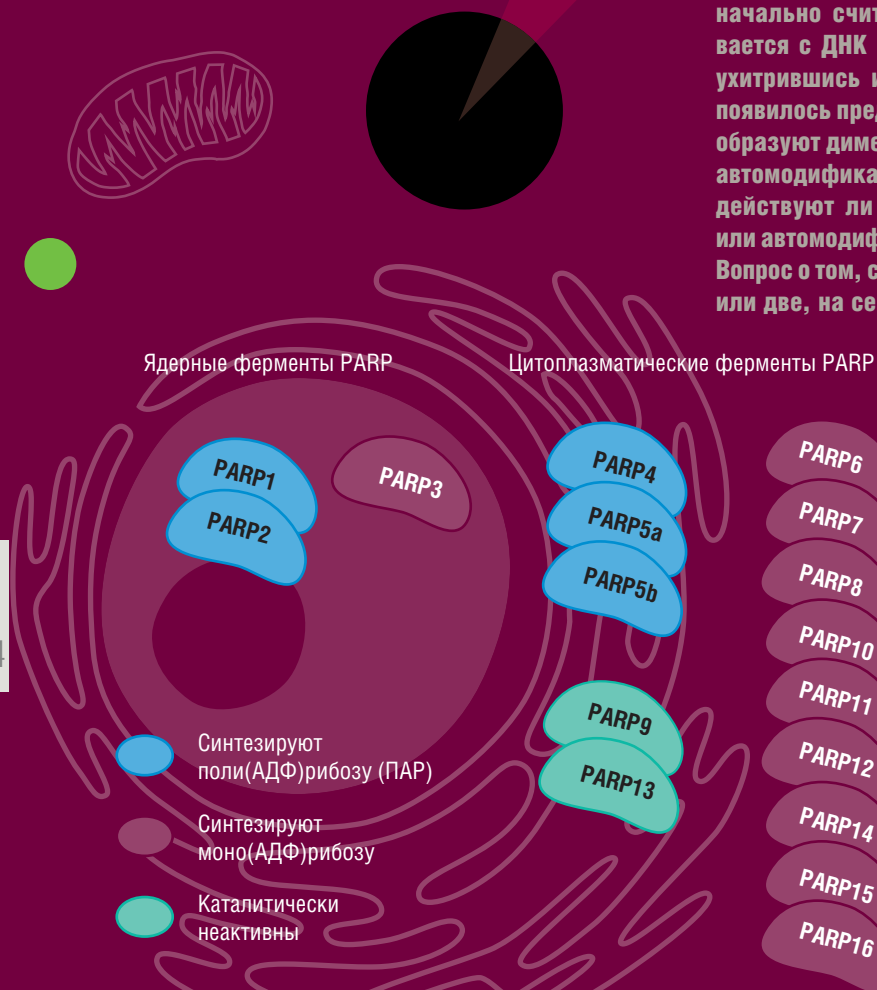
АВТОМОДИФИКАЦИЯ

Ферменты PARP, которые катализируют синтез PAR, могут присоединять эти молекулы либо к себе (автомоодификация), сами при этом деактивируясь, либо к другим белкам-мишеням (гетеромоодификация)



ГЕТЕРОМОДИФИКАЦИЯ

У ферментов PARP есть удивительное свойство: они могут и принимать синтезированный ими полимер PAR на свою поверхность (такой катализ называется автомоодификацией), и ПАРилировать другие белки (гетеромоодификация). При этом за 60 лет исследований реакций автомоодификации фермента PARP1 его механизм так и не удалось выяснить до конца. Первоначально считалось, что молекула фермента связывается с ДНК и присоединяет цепи PAR к самой себе, ухитрившись извернуться каким-то образом. Позднее появилось предположение, что молекулы PARP1 на ДНК образуют димер (пару), и уже в этом димере происходит автомоодификация. Но и здесь до сих пор неизвестно, действуют ли молекулы фермента в паре зеркально или автомоодификации подвергается только одна из них? Вопрос о том, сколько активных молекул в димере – одна или две, на сегодняшний день остается открытым



Синтез поли(АДФ)рибозы (PAR) изначально ассоциировали исключительно с ответом на повреждение ДНК в клеточном ядре. Однако самое большое число представителей семейства ферментов PARP, отвечающих за ее синтез, располагается в цитоплазме клетки. Здесь они также выступают в роли защитников: препятствуют развитию вирусных инфекций, злокачественному перерождению клеток, пролиферации (избыточному клеточному росту), помогают отвечать на стресс. Однако многие из этих ферментов до сих пор плохо изучены

После исполнения своей роли PAR уничтожается вышеупомянутым ферментом PARG, что очень кстати, так как сама по себе она крайне токсична для клетки. Выделен даже особый тип клеточной гибели – *партанатоз*, триггером которого служит обширный синтез PAR и ее выход из ядра в цитоплазму. Там она способствует высвобождению из *митохондрий* (клеточных энергоблоков) особого белка, который отправляется в ядро, где обеспечивает разрезание всей ДНК на мелкие кусочки! Происходит клеточное «самоубийство» – *апоптоз*, или *запрограммированная клеточная смерть*.

Так что своевременное разрушение PAR критично для жизнедеятельности: клетки, у которых нет фермента PARG, практически нежизнеспособны. Разрушая токсичный полимер, этот фермент помогает вернуться в строй ферменту PARP1. Ведь «одетый в шубу» полимер не может исполнять свою функцию: довесок в виде отрицательно заряженной PAR меняет свойства фермента, лишая его возможности взаимодействовать с отрицательно заряженной ДНК.

Кстати, из-за таких специфических черт активность PARP1 крайне сложно описать какой-либо моделью классического ферментативного катализа, ведь обычно фермент выступает в роли катализатора, ускоряя химическую реакцию, но сам при этом не расходуется и не изменяется. В нашем же случае фермент инактивируется.

Важно, что PAR-ответ на повреждение ДНК дозозависимый: если поломок немного, появление этого полимера служит сигналом. Но когда повреждения многочисленны, то активный синтез PAR приводит к гибели клетки, что оправданно, так как она представляет угрозу для всего организма. Дело в том, что восстановление обширных повреждений ДНК всегда сопряжено с возникновением большого числа



Фермент PARP1 активно вовлечен практически во все ключевые процессы клетки, происходящие не только в ее ядре

Вездесущность фермента PARP1 объясняется его способностями как к авто-, так и к гетероПАРилированию. Присоединяя синтезированную им поли(АДФ)рибозу (PAR) к самому себе, фермент привлекает белковые факторы репарации к месту повреждения ДНК, создавая область повышенной концентрации и обеспечивая платформу для их взаимодействия. Что же касается ПАРилирования других белков, то такая модификация существенно влияет на их жизнь: может менять активность, место локализации и даже служить сигналом для уничтожения!

мутаций, которые могут привести к злокачественной трансформации клетки. Так что PARP1 защищает не только генетическую информацию отдельной клетки, но и организм в целом.

Фигаро здесь, Фигаро там

Фермент PARP1 – главный «трубадур», оповещающий о поломках в ДНК, – интригует своей вездесущностью. Кажется, что так или иначе он вовлечен практически во все процессы, происходящие в клетке. Среди них – не только уже упомянутый апоптоз, но и *транскрипция* (синтез РНК по матрице ДНК), образование *ядрышек* (организаторов процесса синтеза белков), а также процессы воспаления и, по самым последним данным, ответ на вирусные инфекции!

При таком обилии функций и активном вовлечении в ключевые клеточные процессы PARP1 должен быть жизненно необходим для клеток. Но это не так: даже полное отсутствие этого фермента в результате «выключения» гена, его кодирующего, не смертельно. Клеточные культуры и лабораторные

мышь с таким дефектом вполне жизнеспособна, хотя и более чувствительна к ДНК-повреждающим агентам.

Этот удивительный факт в некоторой степени объясняется наличием у фермента PARP1 «младшего брата» – PARP2, который, очевидно, может брать на себя некоторые его функции, частично компенсируя утрату. Примечательно, что в клетках с «выключенным» PARP1 количество этого «родственника» существенно возрастает, что позволяет ему эффективнее выполнять внезапно свалившиеся обязанности. Кроме того, существуют и другие способы активировать этот фермент.

Регуляция любого клеточного процесса требует хорошего взаимодействия между всеми его участниками, и в этом смысле PARP1 можно считать очень дружелюбным. С какими-то белками у него устанавливаются особенно близкие отношения. Так, присутствие некоторых белков «вдохновляет» PARP1 синтезировать больше ПАР.

Среди таких «мотиваторов» – многофункциональный YB-1, который в основном занимается регуляцией белкового синтеза, но в «свободное время» вовлекается и в репарацию ДНК. Известно также, что в ответ на повреждение ДНК цитоплазматический YB-1 переносится в клеточное ядро. Пока точная роль этого белка-помощника PARP1 неясна, но их взаимодействие активно изучается.

Верному другу цены нет

Недавно для ферментов PARP был открыт еще один, очень необычный партнер – *фактор ПАРилирования гистонов* (HPF1). Чтобы показать важность этого сотрудничества, отметим, что *гистоны* – это особые белки, участвующие в упаковке ядерной ДНК. Именно на комплексы гистонов «наматывается» двойная спираль ДНК, образуя так называемые *нуклеосомы*, обеспечивающие компактное хранение ДНК в ядре. И модификация этих белков, облегчающая доступ к ДНК, открывает множество путей регуляции важнейших клеточных процессов – транскрипции, репликации и репарации ДНК.

При этом белок HPF1 не просто физически взаимодействует с PARP1 – он меняет его строение, внедряясь в самое сердце своего партнера. Как известно, вся «магия» катализа сосредоточена в *активном центре* фермента – особом участке молекулы, где идут химические реакции. Располагается он обычно в углублении на поверхности белковой молекулы и содержит каталитически активные группы аминокислот, которые связывают субстрат (исходное соединение) и проводят его через серию переходных состояний, пока тот не превратится в «продукт».

Как и в жизни, в катализе зачастую самое трудное – это начало, в нашем случае – *инициация*, первая и самая сложная стадия синтеза полимера. Обычно ферменты

PARP1/2 синтезируют ПАР не сразу, а после нескольких неудачных попыток, при которых молекулы образовавшегося мономера (АДФ-рибозы) просто «убегают» из активного центра фермента. Белок HPF1 привносит в активный центр дополнительный аминокислотный остаток, и этот новый «инструмент» позволяет более эффективно катализировать стадию инициации.

Но и это еще не все. Оказалось, что HPF1 нужен ферментам PARP1/2 лишь на начальной стадии, а потом он только мешает и должен уйти, так как закрывает собой участки активного центра, занятые удлинением полимера. В этом смысле активный центр фермента можно сравнить с двигателем гибридного автомобиля. Мощному двигателю внутреннего сгорания (PARP), который медленно разгоняется, на старте помогает электромотор (HPF1). Когда же основной двигатель набирает достаточное количество оборотов, электромотор отключается.

И вот теперь мы подошли к самому важному следствию образования «гибридного» активного центра PARP-HPF1. Как известно, в природе обнаружено несколько сот различных аминокислот, но лишь два десятка кодируются генетическим кодом – их комбинация и обеспечивает необъятное разнообразие белковых структур живых организмов. Ферменты PARP1/2 охотнее всего связывают ПАР с такими аминокислотами белков-мишеней, как *аспартат* и *глутамат*. Тем не менее в клетке большая часть этого полимера оказывается связанной с *серином* – аминокислотой, которая крайне неохотно вступает в реакции с АДФ-рибозой.

Как выяснилось, ферменты PARP1/2 обретаю способность модифицировать серин только в присутствии HPF1 – этому служит тот самый дополнительный «инструмент» в активном центре фермента, о котором говорилось выше. И такое расширение *аминокислотной специфичности* ПАРилирования, т.е. спектра аминокислот, по которым происходит присоединение ПАР, позволяет этим ферментам модифицировать гистоны.

Удивляет, что такое существенное вмешательство в активность ферментов PARP было открыто лишь спустя 20 лет после обнаружения гена, кодирующего PARP1. Это событие пошатнуло устоявшуюся картину мира ПАРилирования, чуть было не спровоцировав несколько научных «закрываний». Спасло ситуацию лишь установление того факта, что взаимодействие фермента с белком HPF1 носит временный характер, так что все ранее полученные результаты остаются в силе.

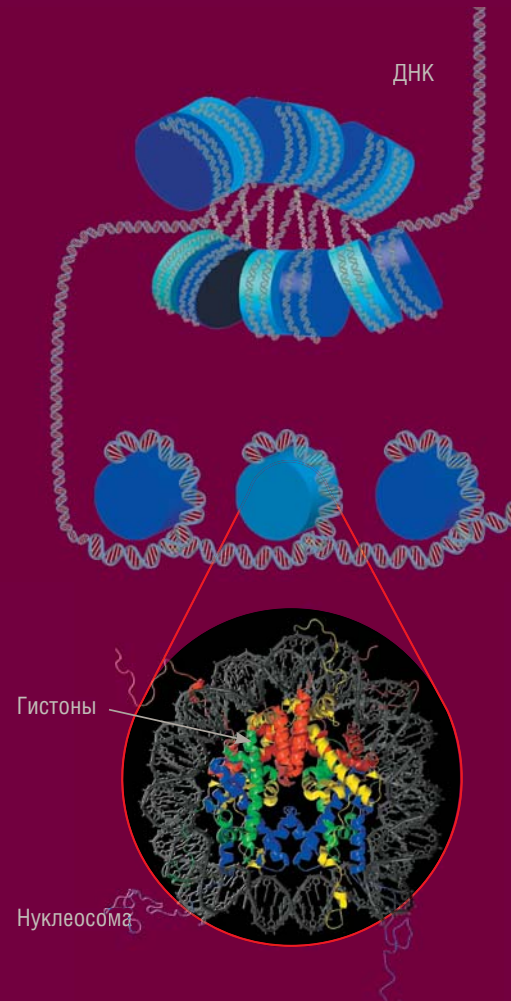
Само же открытие дало уникальные возможности изучать привычный объект с новой стороны. Поэтому неудивительно, что именно ПАРилирование серинов сейчас изучено даже лучше, чем «классическая», ранее открытая модификация аспартатов и глутаматов.

В 2021 г. в лаборатории биоорганической химии ферментов Института химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН (Новосибирск), где

работают авторы, был получен так называемый *рекомбинантный* HPF1 – человеческий белок, выращенный в бактериальной системе. Сейчас здесь создан целый «парк» рекомбинантных факторов репарации, в том числе PARP1 и PARP2, а благодаря старшему научному сотруднику лаборатории М.М. Кутузову появилась возможность «собирать» из ДНК и гистонов искусственные нуклеосомные частицы, схожие с природными.

Использование такой модели для изучения влияния HPF1 на ПАРилирование гистонов показало, что этот фактор настолько стимулирует не слишком активный PARP2, что тот может работать не хуже своего «старшего брата» PARP1! В реакции автомодификации, когда

Современные биотехнологии позволяют получать белки человека, не используя его клетки. В клетки-продуценты (бактерий, дрожжей, насекомых и др.) вводят последовательность ДНК, кодирующую нужный белок. Такие клетки, наряду со «своими» белками, синтезируют «чужие» (рекомбинантные) белки, к примеру человеческий HPF1. С помощью подобных технологий можно получать относительно большие количества очищенных белков для научных целей, а также для производства вакцин и других лекарственных средств



Нуклеосома – это первый этап компактной упаковки генетического материала в хромосому. Она состоит из двойной цепи ДНК, «намотанной» на комплекс особых белков-гистонов. По: (Мошкин, 2016)

ДНК в составе нуклеосом, включая места повреждений, обычно недоступна для белков репарационных систем. Открыть этот доступ можно путем модифицирования белков-гистонов, на которые «намотана» ДНК. Эту работу выполняют ферменты PARP с помощью фактора HPF1, который меняет их активный центр (внизу). В результате ферменты приобретают способность ПАРилировать аминокислоту серин в состав белков, которая обычно очень неохотно связывается с этим полимером





Ферменты PARP, участвующие в репарации ДНК, особенно важны для быстро делящихся клеток, включая опухолевые. Активность этого фермента снижают ингибиторы, такие как олапариб (торговая марка *Lynparza*, вверху). Этот препарат используется в медицине как средство поддерживающей терапии при раке яичников, молочной железы и простаты у людей с наследственными мутациями BRCA1 или BRCA2

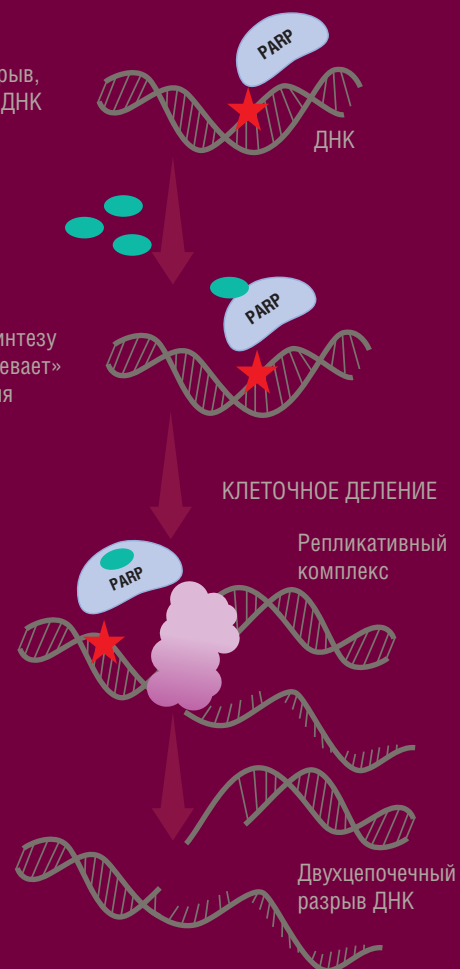
PARP, обнаружив одноцепочечный разрыв, образует комплекс с ДНК

Ингибиторы активности PARP

Ингибитор мешает синтезу ПАР и PARP – «застревает» на месте повреждения

PARP служит препятствием системе репликации ДНК, останавливая удвоение цепи

Образование нового повреждения ДНК и остановка клеточного цикла деления



мишенью ПАРилирования является сам фермент, PARP2 малоактивен. Но при наличии других мишеней и помощника в лице HPF1 он способен эффективно синтезировать ПАР и модифицировать гистоны, делая ДНК в составе нуклеосом более доступной.

Вред и польза рядом живут

Обилие клеточных ролей делает PARP1 перспективной мишенью для лечения различных заболеваний, в первую очередь злокачественных новообразований. Известно, что при классической химио- и радиотерапии наиболее сильно повреждается ДНК активно делящихся клеток, к которым относятся и опухолевые. При этом фермент PARP1, способствуя «ремонту» ДНК, может существенно снижать эффективность лечения, давая болезни второй шанс. Поэтому еще на заре исследований этого фермента было предложено использовать в противораковой терапии химические соединения, подавляющие его активность (*ингибиторы*).

Первые поколения синтетических ингибиторов PARP1 были очень токсичны, вызывая множественные побочные эффекты. Сейчас в клинической практике применяются четыре таких препарата: *рукапариб*, *олапариб*, *нирапариб* и *талазопариб*, которые, впрочем, также обладают достаточно высокой токсичностью. Эти препараты используют в первую очередь для лечения опухолей с мутациями в генах BRCA1/2 – маркерами повышенного

Для активно делящейся клетки применение ингибиторов ферментов PARP намного более трагично, чем полное отсутствие последних. Причина в том, что фермент, обнаружив повреждение ДНК и связавшись с ней, может освободиться лишь после того, как синтезирует полимер ПАР. В присутствии ингибиторов такой синтез невозможен, и фермент остается в комплексе с поврежденной нитью ДНК. При клеточном делении происходит репликация (удвоение) ДНК, и репликационные белки при синтезе новой цепи буквально «натыкаются» на PARP. В результате в ДНК образуется новое повреждение вдобавок к уже имеющемуся (при одноцепочечном разрыве – более опасный двухцепочечный). В итоге клетка перестает делиться

Четыре препарата-ингибитора PARP уже применяются в клинике для лечения злокачественных заболеваний. Чаще всего они используются как вторая линия терапии: их задача – увеличить чувствительность опухоли к другим химиотерапевтическим препаратам. Однако появляется все больше данных о том, что эти препараты можно применять в качестве монотерапии. Такой подход позволяет снизить нагрузку на организм и уменьшить число побочных эффектов

риска развития рака, и в первую очередь *рака молочной железы*.

Белки, кодируемые генами BRCA1/2, также вовлечены в репарацию ДНК. Однако потеря их функции (как и PARP1) для клетки не летальна – восстановление ДНК возможно с помощью других, дополнительных механизмов. При этом одновременная потеря двух этих «инструментов» смертельна для раковых клеток, постоянно делящихся и от этого особо чувствительных к повреждениям ДНК.

Такой подход называют *синтетической летальностью*. В ряде клинических исследований было показано, что его применение снижает риск рецидива в случае опухолей с мутациями BRCA, к которым относятся 10–15% рака молочной железы и яичников, 4–7% рака поджелудочной железы и 1,5% карциномы предстательной железы.

В последние годы накапливается все больше данных о том, что ингибиторы PARP1 могут использоваться в противовоспалительной терапии. Оказалось, что этот фермент участвует в ответе клеток на воспаление, включая *стерильное*, которое развивается в результате физического повреждения тканей. К примеру, при возникновении сосудистых катастроф, таких как *инсульт* и *инфаркт миокарда*, когда процесс воспаления выходит из-под контроля, приводя к обширным повреждениям и существенному увеличению очага поражения.

В ходе воспалительного процесса содержимое поврежденных клеток попадает в межклеточное пространство, активируя иммунный ответ, что, в свою очередь, приводит к дальнейшему усилению воспаления и поражения тканей. И в эту петлю положительной обратной связи вовлечен PARP1! Участвуя в регуляции считывания информации с ДНК, он облегчает активацию генов, способствующих воспалительному процессу. В такой ситуации ингибиторы PARP1 будут предупреждать чрезмерную активацию иммунитета и развитие воспалительной реакции. Уже показано, что на фоне этой терапии очаги поражения при инфарктах и инсультах уменьшаются.

Подавление активности фермента PARP1 сейчас рассматривают и в качестве потенциального средства

терапии некоторых аутоиммунных заболеваний, к примеру *ревматоидного артрита*, практически не поддающегося лечению. Есть надежда, что в скором времени ингибиторы PARP1 будут не только спасать людей от рака, но и помогать в борьбе с другими широко распространенными патологиями, связанными со старением.

Открытые более полувека назад реакция ПАРилирования и ферменты, ее катализирующие, продолжают удивлять исследователей – с каждым годом появляются новые данные, касающиеся ее вовлечения в регуляцию клеточных процессов.

Уже сейчас мы знаем, что активность ферментов PARP1 и PARP2 может не только влиять на жизнедеятельность отдельной клетки, но и регулировать ответ целого организма на разного рода воздействия. В то же время открываются все новые детали механизмов функционирования PARP1 и PARP2, их взаимодействия с поврежденной ДНК и белками.

Похоже, еще не одно поколение исследователей посвятит этой работе свою жизнь, прежде чем человечество сможет заявить, что знает все про объекты, позволяющие сохранить и передать потомкам самое дорогое – наследственную информацию.

Литература

- Кургина Т.А., Лаврик О.И. Поли(ADP-рибоза)полимеразы 1 и 2: классические функции и взаимодействие с HPF1 – новым фактором поли(ADP-рибозил)ирования гистонов // Молекулярная биология. 2023. Т. 57. № 11. С. 254–268.
- Лаврик О.И. Как замедление работы жизненно важных ферментов поможет в создании лекарств от рака // НАУКА из первых рук. 2017. № 4 (75). С. 34–41.
- Ходырева С.Н., Лаврик О.И. Как клетка ремонтирует ДНК // НАУКА из первых рук. 2007. № 3 (15). С. 82–89.
- Alemasova E. E., Lavrik O. I. Poly(ADP-ribosyl)ation by PARP1: reaction mechanism and regulatory proteins // Nucleic Acids Res. 2019. V. 47 (8). P. 3811–3827.
- Alemasova E. E., Lavrik O. I. Poly(ADP-ribose) in Condensates: The PARTnership of Phase Separation and Site-Specific Interactions // Int. J. Mol. Sci. 2022. V. 23 (22). P. 14075.
- Kutuzov M. M., Belousova E. A., Ilina E. S., Lavrik O. I. Impact of PARP1, PARP2 & PARP3 on the Base Excision Repair of Nucleosomal DNA // Adv. Exp. Med. Biol. 2020. V. 1241. P. 47–57.
- Lavrik O. I. PARPs' impact on base excision DNA repair // DNA Repair (Amst). 2020. V. 93. P. 102911.