

Artículo de revisión

Poli (ADP-Ribosa) Polimerasa-1: una proteína nuclear implicada en procesos inflamatorios, muerte celular y cáncer

*David Martin-Oliva**
*Jose Antonio Muñoz-Gámez***
*Rocio Aguilar-Quesada****
*Mariano Ruiz de Almodóvar*****
*E. Javier Oliver******

RESUMEN

Numerosos estudios en modelos experimentales han puesto de manifiesto que el bloqueo genético o la inhibición farmacológica de poli-ADP-ribosa-polimerasa-1, proteína nuclear implicada en fenómenos de señalización celular a través de modificaciones postraduccionales mediante poli-ADP-ribosilación, confiere protección frente a procesos citolíticos derivados que tienen lugar durante el desarrollo de la respuesta inflamatoria. Un denominador común en todos los procesos inflamatorios es la secreción de diversos mediadores proinflamatorios y la formación de radicales libres que van a desencadenar la activación de poli-ADP-ribosa-polimerasa-1 y simultáneamente se potencia la activación de diversos factores de transcripción como NF- κ B y AP-1, dando lugar a la expresión de genes dependientes de éstos. Es bien conocido que la inflamación en el cáncer, como proceso de estrés oxidativo continuo, actúa como un fuerte promotor tumoral favoreciendo el desarrollo del tumor. Esta revisión pretende dar una visión general sobre el conocimiento actual de esta proteína tanto a nivel celular como en procesos patológicos tan importantes como el cáncer. MÉDICAS UIS 2006;19(2):95-103

PALABRAS CLAVE: PARP-1, Inflamación, Cáncer, Factores de Transcripción.

INTRODUCCIÓN

La asociación funcional entre inflamación y cáncer es un hecho que se empezó a relacionar hace más de un siglo, ya por el año de 1860, Virchow y colaboradores hipotizaban sobre el origen del cáncer¹. Decían que éste se iniciaba en zonas o lugares sometidos a procesos de inflamación crónica. Para ello se basaban, en parte, en

la hipótesis de que algunas sustancias irritantes junto a lesiones en tejidos y la consecuente inflamación, producían en el órgano afectado un incremento de la proliferación celular². Aunque no parece claro que la proliferación de células por sí sola pueda causar cáncer, si es cierto que una sostenida proliferación celular en un microambiente inflamatorio potencia el riesgo de desarrollar neoplasias, debido en gran parte a la liberación de mediadores proinflamatorios, factores de crecimiento, presencia de células inflamatorias y agentes que ocasionan daños en el ADN. En este sentido, células proliferativas con daños en su ADN (células iniciadas) continúan proliferando promovidas por ese ambiente inflamatorio y de respuesta a la agresión (estrés) que puede finalmente dar origen al desarrollo de un tumor³.

Hoy en día, la relación causal entre inflamación, inmunidad y cáncer está extensamente aceptada, aunque muchos de los mecanismos celulares y moleculares que median esta relación no se conocen con precisión, por ejemplo, no sabemos cómo las células tumorales son capaces de escapar a los mecanismos a través de los

*Doctor en Ciencias. Profesor del Departamento de Biología Celular. Facultad de Ciencias. Universidad de Granada. Granada. España.

**Licenciado en Química. Becario del Ministerio de Sanidad y Consumo. Hospital Clínico San Cecilio. Granada. España.

***Licenciada en Bioquímica. Becaria de Investigación. Instituto de Parasitología y Biomedicina CSIC. Granada. España.

****Doctor en Medicina. Catedrático del Departamento de Radiología y Medicina Física. Facultad de Medicina. Universidad de Granada. Granada. España.

*****Doctor en Bioquímica. Científico Titular del Instituto de Parasitología y Biomedicina CSIC. Granada. España.

Correspondencia: Dr Martín-Oliva, Av Severo Ochoa s/n, Facultad de Ciencias, Campus Universitario Fuentenueva, 18071, Granada, España. e-mail: dmoliva@ugr.es

Artículo recibido el 28 de julio de 2005 y aceptado para publicación el 27 de enero de 2006.

cuales la inflamación interactúa con el cáncer. Los procesos por los cuales se desarrolla un tumor engloban situaciones descontroladas de proliferación celular del propio tumor y respuesta inflamatoria, con el consecuente reclutamiento de células procedentes del hospedador (neutrófilos, células dendríticas, macrófagos, eosinófilos, mastocitos, linfocitos) y producción local de grandes cantidades de especies reactivas de oxígeno que producen daños en el ADN de las células implicadas en el proceso neoplásico. Esta continuada acción redundante en un proceso de inflamación crónica que puede ser mantenido debido a la persistencia de los factores desencadenantes de la promoción tumoral o por el fracaso de los mecanismos de control de la respuesta inflamatoria.

Además, el desarrollo de células tumorales potencia esta acción inflamatoria, haciéndola aún más persistente. Estas células tumorales tienen capacidad para producir citoquinas que atraen al componente inflamatorio hacia la zona de la lesión. A su vez, esta población de leucocitos genera también una posterior oleada de mediadores citotóxicos, radicales libres, proteasas, mediadores de muerte celular, TNF- α , interleuquinas e interferones^{4,5}. Dependiendo del balance de los productos proinflamatorios liberados, así será el resultado del desarrollo del tumor. De tal modo que los tumores que producen menor cantidad de citoquinas proinflamatorias (o mayor cantidad de citoquinas antiinflamatorias) resultan en tumores de menor tamaño en comparación con aquellos tumores que sobre expresan estas citoquinas proinflamatorias. Ello se debe a que en presencia de una mayor inducción de los procesos inflamatorios, originados por estos mediadores, se potencia también fenómenos angiogénicos imprescindibles para el crecimiento tumoral⁶ (Figura 1).

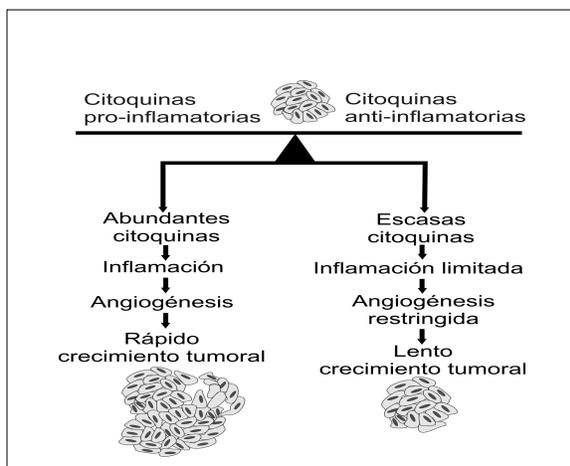


Figura 1. Regulación del crecimiento tumoral por la inflamación. El balance de citoquinas pro y anti-inflamatorias liberadas en un tumor es crítico para el desarrollo de éste (adaptado de Coussens y Werb, 2002).

Según todo lo anterior parece claro que una terapia antiinflamatoria puede ser eficaz para controlar el crecimiento tumoral y evitar la progresión maligna de la enfermedad, y en este sentido regular la activación de factores de transcripción claves en los procesos inflamatorios, tales como NF- κ B y AP-1, durante el proceso de génesis tumoral resulta de vital importancia para lograr una buena respuesta antitumoral⁷.

Existe una proteína nuclear de 113 KDa de peso molecular que actualmente se relaciona con procesos inflamatorios y es conocida hoy en día como poli-ADP-ribosa polimerasa-1 (PARP-1; EC 2.4.2.30, nomenclatura de la enzima según el *Nomenclature Committee of the International Union of Biochemistry and Molecular Biology*), fue descrita hace más de 40 años por Chambon y col⁸.

MÉTODO DE BÚSQUEDA

Con el fin de cumplir con el objetivo de esta revisión, que es brindar una visión general sobre el conocimiento actual de PARP-1 tanto a nivel celular como en procesos patológicos tan importantes como el cáncer, se utilizó para la búsqueda de referencias el soporte informático *software* EndNote versión 7.0. La base de datos principalmente consultada fue Medline, usando los términos “PARP-1; Inflamación; Cáncer; Factores de Transcripción” en idioma español e inglés; igualmente se seleccionaron los artículos considerados pertinentes de acuerdo al objetivo de la revisión.

DEFINICIÓN

PARP-1, también es denominada ADP-ribosa transferasa (ADPRT) o Poli-ADPribosa Sintetasa (PARS), cataliza la transferencia de unidades de ADP-ribosa procedentes del sustrato NAD⁺ sobre los residuos carboxílicos de glutámico y aspártico⁹ de una serie de proteínas nucleares¹⁰. Esta modificación transitoria de proteínas nucleares, entre las cuales se encuentra la propia PARP-1, constituye un tipo de modificación postraduccional necesaria para la activación de una serie de procesos celulares¹¹. PARP-1 se activa principalmente en respuesta a daños en el ADN generados por diferentes agentes genotóxicos, tales como radiación ionizante, agentes alquilantes y/o radicales libres; aunque recientemente han sido descritos otros estímulos diferentes al daño en el ADN como infección, estrés y hormonas derivadas de esteroides, que son también activadores de la enzima en lugares muy específicos de los cromosomas^{12,13} (Figura 2). La poli-ADP-ribosilación de proteínas mediadas por PARP-1 es por tanto, una modificación covalente de proteínas nucleares que se realiza de una forma rápida pero transitoria, y permite a estas proteínas modificar su función biológica en un momento determi-

nado. Esta enzima se encuentra altamente conservada en la escala filogenética, aunque no existen evidencias de su presencia en levaduras¹⁰.

La formación del polímero requiere de tres etapas básicas: primero, de una mono-ADP-ribosilación del sustrato; segundo, de una etapa de elongación del polímero; y tercero, de una ramificación del mismo¹⁴. Para ello, PARP-1 posee estas tres actividades enzimáticas. La degradación del polímero sintetizado se lleva a cabo por la enzima Poli-ADP-ribosa Glicohidrolasa (PARG) y la poli-ADP-ribosa liasa. La primera de ellas es la responsable de la hidrólisis de los enlaces glicosídicos mientras la segunda hidroliza los enlaces éster¹⁰. Una vez detectado el daño PARP-1 se une al ADN, activándose e iniciándose la síntesis del polímero y ocasionando la modificación postraduccional de una serie de proteínas implicadas en la reparación del mismo (Figura 2). Los niveles constitutivos del polímero son normalmente muy bajos en células sin estimular; en presencia de daño en el ADN los niveles pueden aumentar entre 10 y 500 veces sobre su nivel basal. La automodificación que sufre la propia PARP-1 regula su actividad enzimática y su unión al ADN. Se ha propuesto un modelo para explicar la disociación de la proteína de las zonas de unión al ADN tras su automodificación¹⁰. El modelo se basa en la repulsión electrostática ocasionada por auto modificación de la propia PARP-1 mediante el polímero, lo que le confiere una gran carga negativa a la enzima, produciendo su inactivación y la electrorepulsión entre PARP-1 y el ADN. A continuación, la enzima PARG llevaría a cabo la degradación del polímero, esto permite de nuevo que la enzima PARP-1 esté lista para un nuevo ciclo de activación en respuesta a daños en el ADN (Figura 3).



Figura 2. Esquema de la activación de PARP-1 tras daños en el ADN y síntesis del polímero.

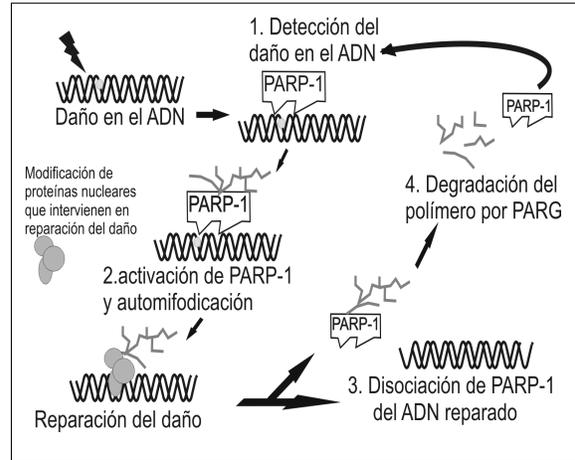


Figura 3. Etapas en la activación de PARP-1.

ESTRUCTURA DE PARP-1

La proteína PARP-1 funcionalmente se divide en tres dominios (Figura 4) aunque estructuralmente se ha dividido en seis dominios (A, B, C, D, E y F). El dominio estructural A o dominio de unión al ADN, situado en el extremo amino terminal, es el dominio a través del cual se produce la interacción de PARP-1 con el ADN, lo cual estimula la actividad catalítica de la enzima^{15,16}. Esta interacción se realiza a través de dos estructuras en dedos de zinc denominadas FI y FII. Dentro de este dominio se encuentra la señal de localización nuclear (dominio estructural B), señal responsable de la Localización Nuclear de la Proteína (NLS, del inglés *Nuclear Localization Sequence*), además de la secuencia diana de la caspasa-3 responsable de la proteólisis de PARP-1^{17,18}. El dominio de automodificación o dominio estructural D comprende la mayoría de residuos de ácido glutámico que son modificados por poli-ADP-ribosilación. También contiene otros motivos (secuencias comunes de aminoácidos con secuencia de pliegues bien conocidas) de gran importancia en la proteína, tales como los motivos de cremallera de leucina (LZ, Leucine Zipper), supuestamente implicados en la homo o heterodimerización de la enzima, y el motivo BRCT (BRCA1 C-terminal) a través del cual PARP-1 podría interactuar con diferentes proteínas, tales como factores de transcripción (NF-κB, Ying-Yang-1 y Oct-1) y proteínas asociadas con la reparación del ADN (histonas, XRCC1 y DNA polimerasa β). El dominio C-terminal o dominio catalítico F es el dominio que se encuentra más conservado en la escala filogenética, revelando relaciones evolutivas con otras enzimas ADP-ribosil transferasas. Presenta estructura terciaria idéntica a las mostradas por otras mono-ADP-ribosil transferasas, alternándose estructuras de láminas-β con hélices-α en donde se une el NAD⁺^{19,20}. Esta alta ho-

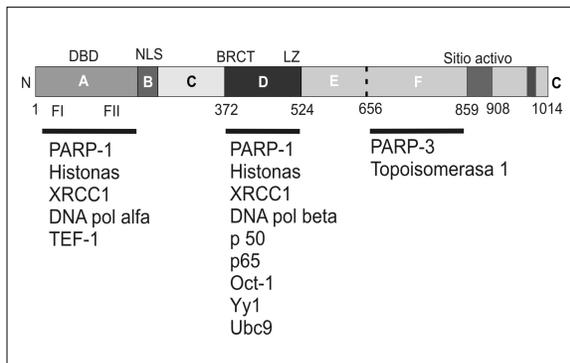


Figura 4. Dominios estructurales de la proteína PARP-1. DBD, dominio de unión al ADN; FI y FII, estructuras en dedos de zinc; NLS, señal de localización nuclear; BRCT, BRCA like C terminus; LZ, estructura de cremallera de leucina. También se muestra los posibles sitios de interacción con otras proteínas.

mología del dominio catalítico compartida por una serie de enzimas ha servido para identificar hasta 18 proteínas que podrían presentar actividad de poli-ADP-ribosa polimerasa²¹. Esto ha dado lugar a la agrupación de estas 18 proteínas en la superfamilia de PARP. Aunque no se conoce la función biológica de muchos de los miembros de esta familia, si es posible sugerir que su existencia puede estar relacionada con un importante papel del proceso de poli-ADP-ribosilación en múltiples funciones celulares.

FUNCIONES DE PARP-1

Gracias al desarrollo de inhibidores farmacológicos de PARP-1 y de ratones deficientes en esta proteína se ha podido demostrar que la enzima PARP-1 está involucrada en diversos procesos tales como reparación y replicación del ADN, transcripción génica, muerte celular y respuesta inflamatoria. Debido a que los fenómenos de transcripción génica e inflamación dependiente de PARP-1 son bastante importantes en la comprensión de este trabajo, se abordará de forma más minuciosa estas funciones en próximos apartados. Respecto al resto de funciones de PARP-1, en las siguientes líneas se expone un breve resumen del conocimiento científico de cada una de ellas.

Se ha observado actividad de PARP-1 durante la reparación del ADN en los procesos de reparación por excisión de bases (BER, del inglés *Base Excision Repair*) y reparación de daños de cadena simple (SSBR, del inglés, *Single Strand Break Repair*)¹¹. El papel de PARP-1 en reparación del ADN dañado se debe a su capacidad de modificar de forma transitoria, mediante poli-ADP-ribosilación, proteínas que intervienen en la estructura de la cromatina (especialmente histonas),

llevando a cabo de este modo una alteración estructural de la cromatina¹⁰, haciéndola de esta forma más accesible a las proteínas que participan en el complejo de reparación del ADN. Además, PARP-1 también participa en el reclutamiento y regulación de las proteínas que forman parte de este complejo como XRCC1, DNA-polimerasa β y la DNA ligasa III^{21,22}. Parece ser que este proceso de reclutamiento y regulación por parte de PARP-1 se debe tanto a su capacidad de modificar proteínas como por la interacción física entre PARP-1 y estas proteínas.

Numerosos estudios han puesto de manifiesto que durante la replicación del material genético el metabolismo de la poli-ADP-ribosa se encuentra acelerado en el núcleo celular²³⁻⁶, aunque el mecanismo de PARP-1 en la regulación de la replicación del ADN no se conoce aún con exactitud, sugiriendo algunos trabajos que PARP-1 podría formar parte del multicomplejo proteico encargado de la replicación (MRC, *Multiprotein Replication Complex*)²⁷. En este sentido, se sabe que PARP-1 se copurifica junto a las DNA polimerasas α y β, DNA primasa, DNA helicasa, DNA ligasa, topoisomerasas I y II²⁷⁻⁹. Algunas de estas proteínas sufren, además, modificaciones por poli-ADP-ribosilación, tales como las topoisomerasas I y II, y DNA polimerasas α.

Recientemente se ha demostrado que PARP-1 puede unirse a ciertas estructuras del ADN en ausencia de daño³⁰. Este hecho unido al descubrimiento de que PARP-1 interacciona con diferentes factores de transcripción³¹⁻⁴, ha hecho pensar a los investigadores en un posible papel de PARP-1 en la regulación de la transcripción génica³⁵. Hoy en día se conoce que PARP-1 puede regular dicho proceso a través de tres mecanismos no excluyentes entre sí, primero, mediante alteración de la estructura de la cromatina; segundo, a través de la interacción física con factores de transcripción; y tercero, uniéndose a secuencias reguladoras de distintos genes.

El hecho que la enzima caspasa-3 reconozca el motivo DEVD¹⁸ dentro de la secuencia de localización nuclear de PARP-1 y que esta proteína pueda ser cortada en dos fragmentos de 89 y 24 KDa¹⁷, ha relacionado a PARP-1 con estados precoces de muerte celular por apoptosis. Esta ruptura proteolítica se considera actualmente como un marcador de la apoptosis dependiente de caspasas. Los fragmentos generados por la acción de la caspasa-3 contribuyen a la inactivación de la enzima intacta, ya que inhiben la unión de la enzima no proteolizada al ADN y su homodimerización^{36,37}. Según este proceso, la rotura de PARP-1, y por tanto su pérdida de actividad, facilitaría el adecuado funcionamiento de la maquinaria apoptótica, preservando de esta forma energía celular necesaria para los siguientes pasos de la apoptosis. Sin embargo,

los estudios hechos para determinar si la poli-ADP-ribosilación afecta al proceso apoptótico, mediante la utilización de inhibidores de PARP-1, han deparado resultados muy dispares dependientes del tipo celular, condiciones de cultivo y drogas utilizadas para inducir apoptosis. Recientemente, se ha demostrado que PARP-1 juega un papel crucial en la apoptosis dependiente de AIF (del inglés, *Apoptosis Inducing Factor*) e independiente de caspasas³⁸. La formación del polímero resultante de la activación de PARP-1 inicia una señal nuclear que se propaga hasta la mitocondria, por mecanismos aún desconocidos. Esto produce en la mitocondria la liberación de AIF, que se transloca al núcleo, donde induce la condensación periférica de la cromatina y la fragmentación del ADN a gran escala.

En una célula las concentraciones de NAD⁺ y ATP son cruciales para que la muerte celular se produzca por apoptosis o por necrosis³⁹. Como es sabido, la característica diferencial más importante entre apoptosis y necrosis quizás sea la desintegración precoz de la envoltura celular o membrana plasmática, de tal forma que en la necrosis todo el contenido celular escapa a los tejidos ocasionando una respuesta inflamatoria a su alrededor. En este sentido, la activación de PARP-1 como enzima catalizadora de reacciones de ADP-ribosilación a partir del consumo de sustratos de NAD⁺, puede actuar como desencadenante de uno u otro proceso. De hecho, son numerosos los trabajos de investigación en modelos experimentales que relacionan la sobreactivación de PARP-1 como detonante de los procesos de necrosis y disfunción orgánica que este proceso conlleva en determinadas circunstancias patológicas, tales como en procesos inflamatorios e isquémicos³⁹⁻⁴¹ (Figura 5).

Por todo ello, el uso de inhibidores de PARP-1 ha sido una herramienta útil para demostrar que la actividad

catalítica de la enzima está implicada muy directamente en los procesos de reparación del ADN dañado y que la inhibición de la reparación de este daño producido, como por ejemplo con el uso del agente alquilante TZM (Temozolamida), sensibiliza a la células tumorales a la quimio y radioterapia. Esto se ha podido constatar a lo largo del proceso de desarrollo de los inhibidores de PARP-1, primero con el uso de benzamidas⁴², posteriormente con herramientas más potentes como los mediadores PD128763^{43,44} y NU1025⁴⁵ y finalmente con su introducción en ensayos clínicos desde junio de 2003^{46,47}.

PARP-1 EN LA INFLAMACIÓN

En los procesos patológicos derivados de diferentes respuestas inflamatorias, la inhibición farmacológica de PARP-1 o bien su bloqueo genético confiere protección frente a estos fenómenos. Esto ha podido ser comprobado en numerosos modelos experimentales, tales como aquellos derivados de daños por isquemia/reperfusión, choque séptico, choque hemorrágico, diabetes y procesos inflamatorios crónicos^{39,40,49} (artritis reumatoide, lupus eritematoso, encefalomiелitis, esclerosis múltiple, enfermedad de Crohn, etc.). Una característica común a todos estos procesos relacionados con la inflamación es la liberación de mediadores proinflamatorios y la formación de radicales libres. Consecuencia de ello es la formación de radicales superóxido (O₂⁻) e hidroxilos (OH⁻) que interaccionan con el óxido nítrico sintetizado (producto de actividad de la isoforma inducible de la Óxido Nítrico Sintasa, NOSi) dando lugar a peroxinitrito (ONOO⁻). Este compuesto es un potente activador de PARP-1 que ocasiona depleción energética en la célula y por tanto necrosis, favoreciendo los procesos inflamatorios (Figura 5). Simultáneamente este agente genotóxico activa también diversos factores de transcripción, tales como NF-κB y AP-1, dando lugar a un aumento de expresión de genes dependientes de estos factores implicados en diversos procesos tales como inflamación, angiogénesis, respuesta inmune, estrés oxidativo, además de controlar la expresión de genes que codifican para proteínas antiapoptóticas, moléculas de adhesión celular, proteínas de señalización celular, entre otros. La expresión de mediadores proinflamatorios dependientes de la anterior expresión génica, a su vez, recluta más células (PMN neutrófilos) al foco inflamatorio, aumentando los efectos del estrés oxidativo, de manera que se produce una retroalimentación positiva que amplifica enormemente este estado, favoreciendo así fenómenos de promoción tumoral.

En esta cascada inflamatoria ocasionada por la sobreactivación de PARP-1 hay que tener en cuenta también el efecto que esta proteína tiene sobre la activación de

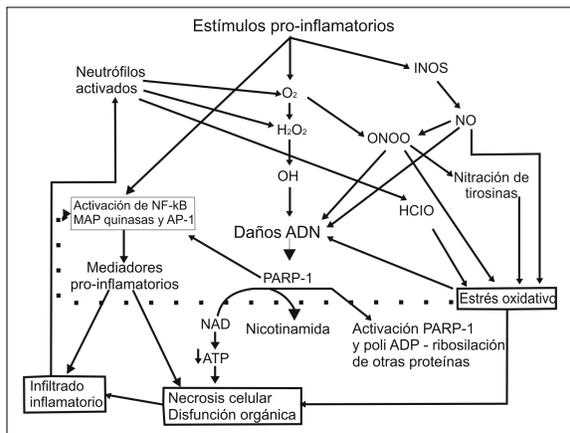


Figura 5. Modulación de la respuesta inflamatoria a través de la sobre activación de PARP-1. Modificado de Virág y Szabó, 2002.

los mencionados factores de transcripción. Por tanto, es un hecho demostrado que los ratones deficientes en la proteína PARP-1 (ratones *parp-1*^{-/-}) muestran un mayor grado de protección frente a patologías asociadas con procesos inflamatorios debido al menor estatus oxidativo ofrecido ante este estímulo y a una disminuida activación de factores de transcripción dependientes de PARP-1 e implicados en estos procesos^{48,50}. En este sentido, el hecho de que los ratones *PARP-1*^{-/-} muestren también mejores beneficios ante situaciones de estrés oxidativo que los ratones deficientes en NOS, sugiere un papel importante de PARP-1 a través de otros mecanismos, como por ejemplo, el referente a la modulación de la expresión génica a través de la regulación de la actividad de importantes factores de transcripción implicados en estos eventos (Figura 5). Es de especial interés el hecho de que los ratones deficientes en PARP-1 ofrecen una mayor resistencia al desarrollo de tumores debido en gran parte a una deficiencia en la activación del factor de transcripción NF- κ B51.

También es cierto que ante elevadas concentraciones de oxidantes, producidos durante la respuesta inflamatoria, las células disparan además otras rutas citotóxicas independientes de PARP-1 que ocasionan importantes daños celulares. Entonces, es muy probable que en diversas patologías existan efectos citotóxicos sinérgicos entre la actividad de PARP-1 y estos otros procesos celulares independientes de PARP-1, siendo en este caso la inhibición farmacológica de PARP-1 un tratamiento parcial que influye en la mejora de los distintos estados inflamatorias derivados de estas patologías.

PARP-1 Y TRANSCRIPCIÓN GÉNICA

Una ruta a través de la cual PARP-1 puede intervenir en la regulación de los diversos procesos patológicos enumerados anteriormente puede ser mediante modificación de los patrones de expresión génica en respuesta a los estímulos proinflamatorios. En los últimos años numerosos trabajos implican a PARP-1 en la regulación de la actividad transcripcional³⁵. Como se ha comentado en apartados anteriores, PARP-1 puede regular la transcripción a través de diferentes mecanismos. A grandes rasgos esta regulación obedece a tres formas de actuación de PARP-1 (Figura 6), mediante la alteración de la estructura de la cromatina.

PARP-1 puede modificar de forma transitoria la estructura de la cromatina mediante poli-ADP-ribosilación de proteínas con papeles fundamentales en su ensamblaje¹⁰. Entre estas proteínas destacan las histonas y las proteínas HMG (del inglés, *High-Mobility Group protein*). Esta alteración estructural de la cromatina permite su

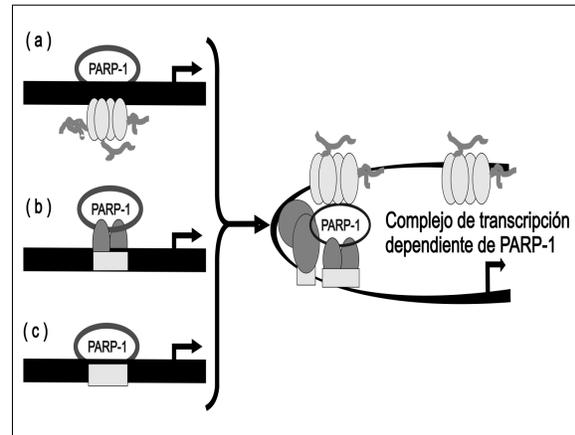


Figura 6. Mecanismos a través de los cuales PARP-1 puede activar la transcripción génica. Adaptado de Kraus y Lis, 2003.

descondensación y la accesibilidad al ADN de proteínas implicadas en el inicio de la transcripción. Esto ha podido ponerse de manifiesto en trabajos realizados en *Drosophila* en las cuales se ha observado actividad enzimática de PARP-1 en zonas del ADN con alta actividad transcripcional y con descondensación de la cromatina⁵² (Figura 6A), a través de la interacción con otros factores de transcripción.

La descondensación de la cromatina no es un acontecimiento suficiente para la activación transcripcional, también es necesaria la presencia de factores de transcripción específicos en el complejo de inicio de la transcripción. Se ha visto, en este sentido, que PARP-1 regula la actividad de diversos factores de transcripción tales como Ying-Yang-1, OCT-1, SP-1, NF- κ B, P53, CREB, AP-1, AP-2, B-MYB, E2F-1, TEF-1 y HSF-1 a distintos niveles, es decir, algunos de estos factores de transcripción pueden ser sustratos de PARP-1 y de esta forma ser modificados, alterando así su capacidad para unirse a las secuencias promotoras de los genes^{31,32,34,48,53-55}. Esto se produciría siempre y cuando el factor de transcripción no se encuentre ya unido al ADN, en cuyo caso ya no podría ser modificado por la enzima. Para otra serie de factores de transcripción, en cambio, no es necesaria la anterior modificación, pero sí la interacción física de estos con PARP-1. Por tanto, PARP-1 en este caso actuaría como coactivador de una serie de factores de transcripción (NF- κ B, AP-2, B-MYB, E2F-1), de manera que esta interacción estabiliza y/o aumenta su unión al ADN, favoreciendo así la activación de los factores de transcripción y transactivando la expresión de genes que se hallan bajo el control de estos^{48,56} (Figura 6B) mediante la unión a secuencias reguladoras o promotoras del ADN.

PARP-1 puede ser reclutada a la región promotora de ciertas secuencias del ADN, reconociendo ciertas estructuras o interactuando con otros factores de unión al ADN⁵⁷⁻⁶¹. Para esta interacción, sólo en algunos casos se requiere de la actividad enzimática de PARP-1, mientras en otros casos su función es independiente de esta actividad, actuando PARP-1 como un regulador clásico de la transcripción de ciertos promotores⁶²⁻⁵. Un ejemplo de esto es el reconocimiento por parte de PARP-1 de regiones específicas en su propio promotor para regular su propia expresión⁶⁶. Para ello, PARP-1 se une a su promotor inhibiendo su expresión. Además de la autounión de PARP-1 a su promotor, otros autores han sugerido, tras demostrar posibles sitios de unión en el promotor de PARP-1 para SP-1 y YY1, que ambos factores de transcripción son necesarios para la regulación de la propia PARP-1³¹. Para ello postula que PARP-1 puede controlar su propia expresión no sólo por unión a su promotor, sino también por unión y/o modificación de proteínas capaces de unirse a su promotor (Figura 6C). Todas estas anteriores propiedades hacen de PARP-1 un regulador de la transcripción único, capaz de modular la estructura de la cromatina y de activar la expresión génica.

CONCLUSIONES

Una serie de nuevas evidencias del acoplamiento molecular entre la inflamación y cáncer⁷ han sido recientemente demostradas. En estos trabajos se detalla cómo la inactivación de un gen implicado en el proceso inflamatorio puede reducir dramáticamente el desarrollo de tumores gastrointestinales en ratones. Estos investigadores encontraron que la deficiente expresión del gen IKKb (*Inhibitor of nuclear factor Kappa B Kinase beta subunit*), un gen que codifica para una quinasa implicada en el proceso de activación de NF-κB y por tanto en fenómenos inflamatorios, suprime la incidencia del cáncer y el crecimiento tumoral en ratones. Debido a que la inflamación crónica contribuye a la génesis tumoral de una gran cantidad de diversos cánceres, estos investigadores eligieron uno de estos cánceres (el cáncer asociado a colitis), como un modelo para el estudio de la importancia de los fenómenos inflamatorios en el cáncer. En este modelo demuestran cómo los tumores inducidos químicamente se forman de manera más precoz en un ambiente inflamatorio. Por tanto, es ahora evidente que la inflamación juega un papel fundamental en el desarrollo de tumores de origen epitelial, y estos tumores son los que presentan una mayor incidencia en la población humana. Por tanto, aquellas terapias destinadas a frenar los procesos inflamatorios en el transcurso de estas patologías pueden ejercer una acción coadyuvante en el tratamiento del cáncer. En las fases tempranas del desarrollo de un tumor epitelial, los factores proin-

flamatorios liberados, junto a la presencia masiva de células inflamatorias en la zona donde se está produciendo la promoción tumoral, crean un ambiente idóneo de estrés oxidativo local que promueve lesiones en el ADN, además de procesos angiogénicos, y en definitiva favorecen el crecimiento tumoral. Por ello, una eficiente inhibición de PARP-1 puede ser beneficiosa en la terapia antitumoral a través del efecto reductor que esta inhibición posee tanto sobre el estrés oxidativo⁵⁰ como en la activación de factores proinflamatorios⁵¹ y proangiogénicos, además de su uso como monoterapia en tumores con inactivación de las rutas de reparación por recombinación homóloga^{67,68}. En este sentido, se ha demostrado⁶⁷ que el uso de inhibidores de PARP en células tumorales con mutaciones en BRCA1 y BRCA2 (dos importantes proteínas que participan en la reparación del ADN por recombinación homóloga) produce inestabilidad cromosómica, detención del ciclo celular y apoptosis⁶⁷. Parece ser que este proceso se debe a que la inhibición de PARP origina daños en el ADN que suelen repararse por recombinación homóloga. Los resultados del trabajo ilustran cómo las diferentes vías cooperan para reparar el daño y sugiere que la inhibición de la reparación del ADN puede permitir el diseño de terapias específicas menos tóxicas para el control del cáncer.

SUMMARY

Poly(ADP-ribose)polymerase-1: a nuclear protein involved in inflammatory process, cell death and cancer.

Several studies in experimental models have established that the genetic blockade or pharmacological inhibition of Poly-ADP-ribose-Polymerase, a nuclear protein involved in phenomena of cellular signal through modifications postraductional by poly-ADP-ribosylation, confers protection during inflammatory processes. A common denominator in all the inflammatory processes is a release of proinflammatory mediators and the production of radicals that are going to activate Poly-ADP-ribose-Polymerase-1 and simultaneously, modulate the activation of several transcription factors as soon as NF-κB and AP-1 and inducing the dependent-gene expression. Furthermore, is now very known that inflammation in cancer, as process of continuous oxidative stress, acts like a tumour promoter favouring the tumour development. This revision claims to give an overview on the current knowledge of this protein so to cellular level in pathological of important processes as the cancer. MÉDICAS UIS 2006;19(2):95-103.

KEY WORDS: PARP-1. Inflammation. Neoplasms. Transcription Factors.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Parkin DM, Pisani P, Muñoz N. In: R Newton, V Beral, RA Weiss, editors. Infections and human cancer. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY; 1999.
2. Balkwill F, Mantovani A. Inflammation and cancer: back to Virchow? *Lancet* 2001;357:539-45.
3. Dvorak HF. Tumors: wounds that do not heal. Similarities between tumor stroma generation and wound healing. *N Engl J Med* 1986;315:1650-9.
4. Kuper H, Adami HO, Trichopoulos D. Infections as a major preventable cause of human cancer. *J Intern Med* 2000;248:171-83.
5. Wahl LM, Kleinman HK. Tumor-associated macrophages as targets for cancer therapy. *J Natl Cancer Inst* 1998;90:1583-4.
6. Coussens LM, Werb Z. Inflammation and cancer. *Nature* 2002;420:860-7.

7. Greten FR, Karin M. The IKK/NF-kappaB activation pathway-a target for prevention and treatment of cancer. *Cancer Lett* 2004;206:193-9.
8. Chambon P, Weill JD, Mandel P. Nicotinamide mononucleotide activation of new DNA-dependent polyadenylic acid synthesizing nuclear enzyme. *Biochem Biophys Res Commun* 1963;11:39-43.
9. Suzuki H, Quesada P, Farina B, et al. In vitro polyADP-ribosylation of seminal ribonuclease. *J Biol Chem* 1986;261:6048-55.
10. D'Amours D, Desnoyers S, D'Silva I, et al. PolyADP-ribosylation reactions in the regulation of nuclear functions. *Biochem J* 1999;342:249-68.
11. Shall S, de Murcia G. Poly(ADP-ribose) polymerase-1: what have we learned from the deficient mouse model? *Mutat Res* 2000;460:1-15.
12. Tulin A, Stewart D, Spradling AC. The *Drosophila* heterochromatic gene encoding poly(ADP-ribose) polymerase (PARP) is required to modulate chromatin structure during development. *Genes Dev* 2002;6:2108-19.
13. Gordon-Shaag A, Yosef Y, Abd El-Latif M, et al. The abundant nuclear enzyme PARP participates in the life cycle of simian virus 40 and is stimulated by minor capsid protein VP3. *J Virol* 2003;77:4273-82.
14. Alvarez-Gonzalez R, Watkins TA, Gill PK, et al. Regulatory mechanisms of poly(ADP-ribose) polymerase. *Mol Cell Biochem* 1999;193:19-22.
15. Lindahl T, Satoh MS, Poirier GG, et al. Post-translational modification of poly(ADP-ribose) polymerase induced by DNA strand breaks. *Trends Biochem Sci* 1995;20:405-11.
16. Caldecott W, Aoufouchi S, Johnson P, et al. 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;24:4387-94.
17. Kaufmann SH, Desnoyers S, Ottaviano Y, et al. Specific proteolytic cleavage of poly(ADP-ribose) polymerase: an early marker of chemotherapy-induced apoptosis. *Cancer Res* 1993;53:976-85.
18. Lazebnik YA, Kaufmann SH, Desnoyers S, et al. Cleavage of poly(ADP-ribose) polymerase by a proteinase with properties like ICE. *Nature* 1994;371:346-7.
19. Ruf A, de Murcia J, de Murcia G, et al. Structure of the catalytic fragment of poly(AD-ribose) polymerase from chicken. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996;93:7481-5.
20. Ruf A, Rolli V, de Murcia G, et al. The mechanism of the elongation and branching reaction of poly(ADP-ribose) polymerase as derived from crystal structures and mutagenesis. *J Mol Biol* 1998;278:57-65.
21. Ame JC, Spenlehauer C, de Murcia G. The PARP superfamily. *Bioessays* 2004;96:882-93.
22. Leppard JB, Dong Z, Mackey ZB, et al. Physical and functional interaction between DNA ligase III alpha and poly(ADP-Ribose) polymerase 1 in DNA singlestrand break repair. *Mol Cell Biol* 2003;23:5919-27.
23. Tanuma SI, Enomoto T, Yamada MA. Changes in the level of poly ADP ribosylation during a cell cycle. *Exp Cell Res* 1978;117:421-30.
24. Kanai Y, Tanuma S, Sugiura T. Immunofluorescent staining of poly(ADP-ribose) in situ in HeLa cell chromosomes in the M phase. *Proc Natl Acad Sci USA* 1981;78:2801-4.
25. Leduc Y, Lawrence JJ, De Murcia G, et al. Cell cycle regulation of poly(ADP-ribose) synthetase in FR3T3 cells. *Biochim Biophys Acta* 1988;968:275-82.
27. Simbulan-Rosenthal CM, et al. The expression of poly(ADP-ribose) polymerase during differentiation-linked DNA replication reveals that it is a component of the multiprotein DNA replication complex. *Biochemistry* 1996;35:11622-33.
28. Dantzer F, Nasheuer HP, Vonesch JL, et al. Functional association of poly(ADP-ribose) polymerase with DNA polymerase alphaprimase complex: a link between DNA strand break detection and DNA replication. *Nucleic Acids Res* 1998;26:1891-8.
29. Bauer PI, et al. Molecular interactions between poly(ADP-ribose) polymerase (PARP I) and topoisomerase I (Topo I): identification of topology of binding. *FEBS Lett* 2001;506:239-42.
30. Kun E, Kirsten E, Ordahl CP. Coenzymatic activity of randomly broken or intact double-stranded DNAs in auto and histone H1 trans-poly(ADP-ribosylation), catalyzed by poly(ADP-ribose) polymerase (PARP I). *J Biol Chem* 2002;277:39066-9.
31. Oei SL, et al. Interaction of the transcription factor YY1 with human poly(ADP-ribosyl) transferase. *Biochem Biophys Res Commun* 1997;240:108-11.
32. Hassa PO, Hottiger MO. A role of poly(ADP-ribose) polymerase in NF-kappaB transcriptional activation. *Biol Chem* 1999;380:953-9.
33. Wesierska-Gadek J, Schmid G. Poly(ADP-ribose) polymerase-1 regulates the stability of the wild-type p53 protein. *Cell Mol Biol Lett* 2001;6:117-40.
34. Hassa PO, Buerki C, Lombardi C, et al. Transcriptional coactivation of nuclear factor-kappaB-dependent gene expression by p300 is regulated by poly(ADP)-ribose polymerase-1. *J Biol Chem* 2003;278:145-53.
35. Kraus WL, Lis JT. PARP goes transcription. *Cell* 2003;113:677-83.
36. Kim JW, Kim K, Kang K, et al. Inhibition of homodimerization of poly(ADP-ribose) polymerase by its C-terminal cleavage products produced during apoptosis. *J Biol Chem* 2000;275:8121-5.
37. D'Amours D, Sallmann FR, Dixit VM, et al. Gain-of-function of poly(ADP-ribose) polymerase-1 upon cleavage by apoptotic proteases: implications for apoptosis. *J Cell Sci* 2001;114:3771-8.
38. Yu SW, Wang H, Dawson TM, et al. Poly(ADP-ribose) polymerase-1 and apoptosis inducing factor in neurotoxicity. *Neurobiol Dis* 2003;14:303-17.
39. Virag L, Szabo C. The therapeutic potential of poly(ADP-ribose) polymerase inhibitors. *Pharmacol Rev* 2002;54:375-429.
40. Szabo C, Dawson VL. Role of poly(ADP-ribose) synthetase in inflammation and ischaemia-reperfusion. *Trends Pharmacol Sci* 1998;19:287-98.
41. Pieper AA, et al. Poly(ADP-ribose) polymerase-deficient mice are protected from streptozotocin-induced diabetes. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999;96:3059-64.
42. Purnell MR, Whish WJ. Novel inhibitors of poly(ADP-ribose) synthetase. *Biochem J* 1980;185:775-7.
43. Suto MJ, Turner WR, Arundel-Suto CM, et al. Dihydroisoquinolines: the design and synthesis of a new series of potent inhibitors of poly(ADP-ribose) polymerase. *Anticancer Drug Des* 1991;6:107-17.
44. Arundel-Suto CM, Scavone SV, Turner WR, Suto MJ, Sebolt-Leopold JS. Effect of PD 128763, a new potent inhibitor of poly(ADP-ribose) polymerase, on X-ray-induced cellular recovery processes in Chinese hamster V79 cells. *Radiat Res* 1991;126:367-71.
45. Griffin RJ, et al. Novel potent inhibitors of the DNA repair enzyme poly(ADP-ribose) polymerase (PARP). *Anticancer Drug Des* 1995;10:7-14.
46. Calabrese CR, et al. Identification of potent nontoxic poly(ADP-ribose) polymerase-1 inhibitors: chemopotential and pharmacological studies. *Clin Cancer Res* 2003;9:2711-8.
47. Calabrese CR, et al. Anticancer chemosensitization and radiosensitization by the novel poly(ADP-ribose) polymerase-1 inhibitor AG14361. *J Natl Cancer Inst* 2004;96:56-67.
48. Oliver FJ, et al. Resistance to endotoxic shock as a consequence of defective Nf-kappaB activation in poly(ADP-ribose) polymerase-1 deficient mice. *Embo J* 1999;18:4446-54.
49. Szabo C, et al. Inhibition of poly(ADP-ribose) synthetase attenuates neutrophil recruitment and exerts antiinflammatory effects. *J Exp Med* 1997;186:1041-9.
50. Conde C, et al. Loss of poly(ADP-ribose) polymerase-1 causes increased tumour latency in p53-deficient mice. *Embo J* 2001;20:3535-43.
51. Martín-Oliva D, et al. Crosstalk between PARP-1 and NF-κB modulates the promotion of skin neoplasia. *Oncogene* 2004;23:5275-83.
52. Tulin A, Spradling A. Chromatin loosening by poly(ADP-ribose) polymerase (PARP) at *Drosophila* puff loci. *Science* 2003;299:560-2.
53. Andreone TL, O'Connor M, Denenberg A, Hake PW, Zingarelli B. Poly(ADP-ribose) polymerase-1 regulates activation of activator protein-1 in murine fibroblasts. *J Immunol* 2003;170:2113-20.
54. Rawling JM, Alvarez-Gonzalez R. TFIIF a basal eukaryotic transcription factor, is a substrate for poly(ADP-ribosylation). *Biochem J* 1997;324:249-53.
55. Butler AJ, Ordahl CP. Poly(ADP-ribose) polymerase binds with transcription enhancer factor 1 to MCAT1 elements to regulate muscle-specific transcription. *Mol Cell Biol* 1999;19:296-306.
56. Hassa PO, Covic M, Hasan S. The enzymatic and DNA binding activity of PARP-1 are not required for NF-kappa B coactivator function. *J Biol Chem* 2001;276:45588-97.

57. Nie J, et al. Interaction of Oct-1 and automodification domain of poly(ADP-ribose)synthetase. *FEBS Lett* 1998;424:27-32.
58. Plaza S, Aumercier M, Bailly M, Dozier C. Involvement of poly(ADP-ribose)-polymerase in the Pax-6 gene regulation in neuroretina. *Oncogene* 1999;18:1041-51.
59. Akiyama T, et al. Activation of Reg gene, a gene for insulin-producing beta-cell regeneration: poly(ADP-ribose) polymerase binds Reg promoter and regulates the transcription by autopoly(ADP-ribosylation). *Proc Natl Acad Sci USA* 2001;98:48-53.
60. Nirodi C, et al. A role for poly(ADP-ribose) polymerase in the transcriptional regulation of the melanoma growth stimulatory activity (CXCL1) gene expression. *J Biol Chem* 2001;276:9366-74.
61. Ha HC, Hester LD, Snyder SH. Poly(ADP-ribose) polymerase-1 dependence of stress-induced transcription factors and associated gene expression in glia. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002;99:3270-5.
62. Meisterernst M, Stelzer G, Roeder RG. Poly(ADP-ribose) polymerase enhances activator-dependent transcription in vitro. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997;94:2261-5.
63. Anderson MG, Scoggin KE, Simbulan-Rosenthal CM, et al. Identification of poly(ADP-ribose) polymerase as a transcriptional coactivator of the human T-cell leukemia virus type 1 Tax protein. *J Virol* 2000;74:2169-77.
64. Cervellera MN, Sala A. Poly(ADP-ribose) polymerase is a B-MYB coactivator. *J Biol Chem* 2000;275:10692-6.
65. Hassa PO, Hottiger MO. The functional role of poly(ADP-ribose) polymerase 1 as novel coactivator of NF-kappaB in inflammatory disorders. *Cell Mol Life Sci* 2002;59:1534-53.
66. Soldatenkov VA, et al. Transcriptional repression by binding of poly(ADP-ribose) polymerase to promoter sequences. *J Biol Chem* 2002;277:665-70.
67. Farmer H, et al. Targeting the DNA repair defect in BRCA mutant cells as a therapeutic strategy. *Nature* 2005;434:917-21.
68. Bryant HE, et al. Specific killing of BRCA2-deficient tumours with inhibitors of poly(ADP-ribose) polymerase. *Nature* 2005;434:913-7.