วารสารสัตวแพทยศาสตร์ มข.
KKU Veterinary Journal
ISSN 0858-2297



REVIEW ARTICLE

DNA damage responses and the potential use of DDR inhibitors as anticancer drugs in veterinary medicine

Naowarat Suthamnatpong[1*], Aranya Ponpornpisit[2]

[1] *Department of Veterinary Pharmacology, Faculty of Veterinary Science, Chulalongkorn University, Bangkok Thailand 10330.*
[2] *Department of Veterinary Medicine, Faculty of Veterinary Science, Chulalongkorn University, Bangkok Thailand 10330.*
[*] ***Corresponding author*** *E-mail: nawara.a@chula.ac.th*

Received 18 May 2022, **Revised** 14 September 2022 **Accepted** 23 September 2022, **Published** 5 December 2022

Abstract

The DNA damage responses (DDR) play an important role in maintaining the correct sequence of DNA and the accuracy of DNA replication processes. Several studies demonstrated DDR gene mutations in most types of cancers, suggesting that DDR plays a key role in carcinogenesis. At present, there is a tremendous interest in development of molecularly-targeted, anti-cancer agents as a new type of cancer treatment. One of the DDR-targeted therapy approaches involves the specific inhibitors of some important regulatory molecules of the DDR such as PARP inhibitors, histone deacetylase inhibitors and proteasome inhibitors. The purpose of this article is to provide detailed information on DDR as an important pathway for treating cancer, and the potential use of some DDR inhibitors as anticancer drugs in veterinary medicine.

Keywords: DNA damage responses, PARP inhibitors, histone deacetylase inhibitors, proteasome inhibitors

บทความปริทัศน์

การตอบสนองต่อความเสียหายของดีเอ็นเอและการใช้ยาต้าน DDR เป็นยาต้านมะเร็งในทางสัตวแพทย์

เนาวรัตน์ สุธัมนาถพงษ์[1*], อรัญญา พลพรพิสิฐ[2]

[1] ภาควิชาเภสัชวิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ปทุมวัน กรุงเทพ 10330

[2] ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ปทุมวัน กรุงเทพฯ 10330

**ผู้ประพันธ์บรรณกิจ อีเมล์: nawara.a@chula.ac.th*

บทคัดย่อ

การตอบสนองต่อความเสียหายของดีเอ็นเอ (DNA damage responses; DDR) เป็นกลไกที่มีบทบาทหน้าที่ที่สำคัญในการตรวจสอบ ซ่อมแซมและรักษาลำดับของรหัสดีเอ็นเอและกระบวนการจำลองตัวเองของดีเอ็นเอให้เป็นไปอย่างถูกต้อง มีการศึกษาพบการกลายพันธุ์ของโมเลกุลที่มีบทบาทหน้าที่ที่สำคัญต่อกระบวนการซ่อมแซมความเสียหายของดีเอ็นเอในเซลล์มะเร็งเกือบทุกชนิด ซึ่งแสดงให้เห็นว่า DDR มีความสำคัญต่อการเกิดโรคมะเร็ง ในปัจจุบัน การพัฒนายาต้านมะเร็งแบบมุ่งเป้าระดับโมเลกุลจัดเป็นวิธีการรักษาโรคมะเร็งรูปแบบใหม่ได้รับความสนใจอย่างมาก หนึ่งในการรักษาโรคมะเร็งแบบมุ่งเป้าที่เกี่ยวข้องกับกลไกการตอบสนองต่อความเสียหายของดีเอ็นเอ คือการใช้ยาซึ่งมีฤทธิ์ยับยั้งโมเลกุลที่สำคัญใน DDR อย่างจำเพาะเจาะจง ตัวอย่างเช่น ยาต้านโพลี เอดีพี ไรโบส โพลีเมอเรส, ยาต้านฮิสโตนดีอะเซทิลเลส และยาต้านโปรตีเอโซม วัตถุประสงค์ของบทความนี้คือเพื่อให้ข้อมูลเกี่ยวกับ DDR ซึ่งจัดเป็นเป้าหมายที่สำคัญสำหรับการรักษาโรคมะเร็ง และผลงานวิจัยเกี่ยวกับการใช้ยามุ่งเป้าที่ DDR เป็นยาต้านมะเร็งในทางสัตวแพทย์

คำสำคัญ: การตอบสนองต่อความเสียหายของดีเอ็นเอ, ยาต้านโพลี เอดีพี ไรโบส โพลีเมอเรส, ยาต้านฮิสโตนดีอะเซทิลเลส และยาต้านโปรตีเอโซม

บทนำ

กระบวนการก่อมะเร็ง (carcinogenesis) หมายถึง กระบวนการที่ทำให้เซลล์ปกติในร่างกายเปลี่ยนแปลงไปเป็นเซลล์มะเร็ง กระบวนการก่อมะเร็งเป็นกระบวนการที่มีความสลับซับซ้อน มีหลายขั้นตอนและใช้ระยะเวลานานพอควร ไม่ได้เกิดขึ้นอย่างทันทีทันใด โดยทั่วไปแบ่งระยะในกระบวนการก่อมะเร็งออกเป็นสามระยะคือ ระยะเริ่มต้น (tumor initiation) ระยะส่งเสริม (tumor promotion) และระยะก้าวหน้า (tumor progression) โดยระยะเริ่มต้นเกิดขึ้นเมื่อร่างกายได้รับสารก่อการกลายพันธุ์ทำให้เกิดการกลายพันธุ์ขั้นเริ่มต้นขึ้น (initiation mutation) ซึ่งไม่ใช่เซลล์ทุกเซลล์ในระยะนี้จะกลายเป็นเซลล์มะเร็ง เนื่องจากความเสี่ยงของการเกิดโรคมะเร็งขึ้นอยู่กับหลายปัจจัย เช่น วิธีการที่สัมผัส ระยะเวลาที่สัมผัสและปัจจัยทางพันธุกรรม อย่างไรก็ตาม การกลายพันธุ์ในขั้นเริ่มต้นมักทำให้เซลล์มีความไวต่อการกลายพันธุ์มากยิ่งขึ้น สำหรับระยะส่งเสริมเป็นระยะที่เซลล์ได้รับปัจจัยส่งเสริมมากระตุ้นทำให้เกิดการกลายพันธุ์เพิ่มเติม ทำให้โคลน (clone) ของเซลล์ระยะเริ่มต้นเกิดการเปลี่ยนแปลงที่สร้างศักยภาพให้กับเซลล์ที่ได้รับผลกระทบในการพัฒนาเป็นเซลล์มะเร็ง เกิดการแบ่งตัวเพิ่มจำนวนเซลล์ (clonal expansion) และเข้าสู่ระยะถัดไปคือระยะก้าวหน้า ซึ่งเป็นระยะที่มีการสะสมของของการกลายพันธุ์ ทำให้เกิดภาวะไร้เสถียรภาพของของจีโนม (genomic instability) และทำให้เซลล์เกิดการเปลี่ยนแปลง (malignant conversion) จาก preneoplastic cells ไปเป็นเซลล์ที่มีการแสดงออกถึงฟีโนไทป์ของเซลล์มะเร็ง สามารถแบ่งตัวเพิ่มจำนวนเซลล์ได้อย่างรวดเร็ว โดยที่ไม่สามารถควบคุมได้ และเซลล์เหล่านี้จะก้าวร้าวมากขึ้นเมื่อเวลาผ่านไป ทำให้สามารถบุกรุกและแพร่กระจายไปอยู่ในเนื้อเยื่อและอวัยวะที่ห่างไกลออกไปจากจุดกำเนิดได้ (Klaunig, 2020; Compton, 2020)

เซลล์มะเร็งเป็นที่มีคุณสมบัติและลักษณะที่ผิดไปจากธรรมชาติที่เซลล์ปกติไม่มีหลายประการ ในปี พ.ศ. 2565 Douglas Hanahan (Hanahan, 2022) ได้เผยแพร่บทความชื่อ “Hallmarks of Cancer: New Dimensions” ซึ่งอธิบายถึงคุณสมบัติทางชีวภาพที่โดดเด่นและจัดเป็นลักษณะเฉพาะที่สำคัญของเซลล์มะเร็งได้แก่

1. มีวิถีสัญญาณกระตุ้นให้เซลล์แบ่งตัวเพิ่มจำนวนและเจริญเติบโตได้ด้วยตนเองอย่างต่อเนื่อง (self-sufficiency in growth signals)
2. หลบหนีกลไกที่ยับยั้งเจริญเติบโตของเซลล์ได้ (evading growth suppressors)
3. มีการเปลี่ยนแปลงของการแสดงออกของยีนที่เกิดจากกระบวนการอื่น ๆ นอกเหนือจากการเปลี่ยนแปลงลำดับดีเอ็นเอ ซึ่งเป็นประโยชน์ต่อการคัดเลือกเซลล์ที่มีฟีโนไทป์เหมาะสมสำหรับการเพิ่มจำนวนได้อย่างไม่มีที่สิ้นสุด (non-mutational epigenetic reprogramming)
4. หลบหนีการทำลายโดยระบบภูมิคุ้มกันได้ (avoiding immune destruction)
5. จำลองตัวเองให้เพิ่มจำนวนเซลล์ได้ไม่มีที่สิ้นสุด (enable replicative immortality)
6. มีภาวะอักเสบที่ส่งเสริมการเกิดมะเร็ง (tumor-promoting inflammation)
7. มีจุลชีพที่สนับสนุนพัฒนาการและความก้าวหน้าของเซลล์มะเร็ง (microbiomes)
8. สามารถบุกรุก (invasion) และแพร่กระจาย (metastasis) ไปยังส่วนต่าง ๆ ของร่างกายได้
9. สามารถเหนี่ยวนำการสร้างหลอดเลือดใหม่หรือเข้าถึงหลอดเลือดได้ (inducing/accessing vasculature)
10. มีคุณสมบัติ cellular senescence ซึ่งสนับสนุนพัฒนาการของเซลล์มะเร็ง
11. มีภาวะไร้เสถียรภาพของจีโนม (genome instability) และเกิดการกลายพันธุ์ (mutation)
12. หลบหนีกลไกที่ทำให้เซลล์ตายได้ (resisting cell death)
13. ปรับเปลี่ยนโปรแกรมการเปลี่ยนรูปพลังงานของเซลล์ได้ (deregulating cellular metabolism)
14. มีความสามารถในการหลีกเลี่ยงกระบวนการ cellular differentiation และสามารถปรับเปลี่ยนฟีโนไทป์ซึ่งทำให้เซลล์มะเร็งยังคงแบ่งตัวและเจริญเติบโตได้ต่อไป (unlocking phenotypic plasticity)

จากบทความดังกล่าวนี้จะเห็นได้ว่าการกลายพันธุ์และภาวะที่จีโนมไร้เสถียรภาพ ซึ่งเป็นผลกระทบที่เกิดจากการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างทางเคมีของดีเอ็นเอจัดเป็นหนึ่งในคุณสมบัติทางชีวภาพที่โดดเด่นและสำคัญของเซลล์มะเร็ง ในปัจจุบันเป็นที่ยอมรับกันอย่างกว้างขวางว่า ปัจจัยทางพันธุกรรมจัดเป็นปัจจัยสำคัญปัจจัยหนึ่งที่มีความสัมพันธ์เกี่ยวข้องกับกระบวนการเกิดโรคมะเร็ง เนื่องจากการกลายพันธุ์ทางพันธุกรรมสามารถส่งผลกระทบต่อการแสดงออกและการทำงานของโปรตีนได้ โดยมีข้อมูลสนับสนุนอย่างชัดเจนว่าการกลายพันธุ์ทางพันธุกรรมบางประเภทเกิดจากความเสียหายของดีเอ็นเอ (DNA damages) ที่ไม่ได้รับการแก้ไข ทำให้โปรตีนที่เซลล์สร้างขึ้นเปลี่ยนไปในลักษณะที่ทำให้เซลล์ปกติกลายเป็นมะเร็ง (Takeshi-

ma & Ushijima, 2019; Butera, et al., 2021)

สารพันธุกรรมในเซลล์เป็นโมเลกุลที่มีความเสี่ยงต่อการได้รับความเสียหายได้บ่อยครั้งจากอันตรายที่มีอยู่รอบด้าน เพื่อแก้ไขความเสียหายของดีเอ็นเอและปกป้องเสถียรภาพของจีโนม เซลล์จึงได้พัฒนากระบวนการตอบสนองต่อความเสียหายของดีเอ็นเอ (DNA damage response, DDR) ขึ้นมา ผ่านวิวัฒนาการอันยาวนานจนกระทั่งกลายเป็นเครือข่ายของวิถีการส่งสัญญาณที่สลับซับซ้อน ประกอบด้วยเซลล์และโมเลกุลจำนวนมากที่รับผิดชอบร่วมกันในการทำงาน เพื่อ (1) การตรวจจับและรับรู้ความเสียหายของดีเอ็นเอ (2) การส่งสัญญาณจากบริเวณที่ได้รับความเสียหาย (3) การกระตุ้นให้โมเลกุลที่มีหน้าที่ซ่อมแซมความเสียหายเดินทางไปบริเวณที่ได้รับความเสียหาย (4) การควบคุมวงจรเซลล์ (5) การปรับเปลี่ยนและการซ่อมแซมดีเอ็นเอ และ (6) การตัดสินใจชะตากรรมของเซลล์ให้ตอบสนองต่อความเสียหายของดีเอ็นเอในรูปแบบต่าง ๆ อย่างเหมาะสม รวมทั้งการส่งสัญญาณให้เซลล์ตายแบบอะพอพโทซิสในกรณีที่ไม่สามารถแก้ไขความเสียหายให้กลับมาเป็นปกติได้ (DNA damage-induced apoptosis, DDIA) เครือข่ายดังกล่าวเหล่านี้เป็นผลผลิตของยีนจำนวนไม่ต่ำกว่า 450 ยีน ซึ่งยังคงเพิ่มจำนวนมากขึ้นเรื่อย ๆ จากการศึกษาวิจัยที่กำลังดำเนินอยู่อย่างต่อเนื่อง (Basu, 2018; Chatterjee & Walker, 2017) ในปัจจุบันพบว่าความผิดปกติในการทำงานของโปรตีนเหล่านี้มีความสัมพันธ์กับการเกิดโรคมะเร็งจำนวนมากมายหลากหลายชนิด ทำให้เป็นที่สนใจของนักวิทยาศาสตร์ทั่วโลกในการทำงานวิจัยและพัฒนายาต้านโรคมะเร็งแบบมุ่งเป้าที่เกี่ยวข้องกับ DDR ชนิดต่าง ๆ

บทความนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อนำเสนอองค์ความรู้พื้นฐานที่เกี่ยวกับความเสียหายของดีเอ็นเอและกระบวนการตอบสนองต่อความเสียหายของดีเอ็นเอ รวมทั้งข้อมูลเกี่ยวกับยาต้านโรคมะเร็งแบบมุ่งเป้าบางชนิด ที่มีกลไกการออกฤทธิ์เกี่ยวข้องกับกระบวนการตอบสนองต่อความเสียหายของดีเอ็นเอ ได้แก่ (I) ยาต้านโพลี เอดีพี ไรโบส โพลีเมอเรส [poly ADP ribose polymerase (PARP) inhibitors], (II) ยาต้านฮิสโตน ดีอะเซทิลเลส [histone deacetylases (HDAC) inhibitors] และ (III) ยาต้านโปรตีเอโซม (proteasome inhibitors)

ความเสียหายของดีเอ็นเอ

ความเสียหายของดีเอ็นเอมีหลากหลายรูปแบบ โดยทั่วไปแบ่งประเภทของความเสียหายเป็นสองประเภทหลัก คือ ความเสียหายของดีเอ็นเอที่เกิดจากภายใน (endogenous damages) และความเสียหายของดีเอ็นเอที่เกิดจากภายนอก (exogenous damages)

ความเสียหายของดีเอ็นเอที่เกิดจากปัจจัยภายใน

ความเสียหายของดีเอ็นเอที่เกิดจากปัจจัยภายในเซลล์หมายถึงความเสียหายของดีเอ็นเอที่เกิดจากปัจจัยต่าง ๆ ภายในเซลล์โดยที่ไม่มีอิทธิพลจากปัจจัยภายนอกเข้ามาเกี่ยวข้อง ปัจจัยภายในเซลล์ที่สร้างความเสียหายต่อดีเอ็นเอซึ่งพบบ่อยได้แก่ (1) ความผิดพลาดในระหว่างการจำลองตัวเองของดีเอ็นเอ (replication errors) โดยอาจเกิดจากการจำลองแบบขึ้นมาอย่างไม่ถูกต้องในขณะที่เซลล์กำลังสร้างดีเอ็นเอสายใหม่ เช่น การเติมเบสที่ไม่ถูกต้องใส่เข้าไปในสายดีเอ็นเอซึ่งเกิดจากความบกพร่องในการทำงานของดีเอ็นเอโพลีเมอเรส (DNA polymerase) (2) การเปลี่ยนแปลงของโครงสร้างเบสซึ่งเกิดขึ้นเอง (spontaneous changes) และส่งผลทำให้เบสมีโครงสร้างที่ผิดปกติหรือเปลี่ยนไปจากเดิม (3) ความเสียหายที่เกิดจากเบสของดีเอ็นเอไปจับคู่กับเบสอื่น ๆ บนสายดีเอ็นเอสายเดียวกัน (intra-strand DNA crosslinking) ทำให้กลายเป็นโครงสร้างของโมเลกุลคู่ (dimers) ขึ้นหรือการเชื่อมโยงกับเบสอื่น ๆ บนสายดีเอ็นเอที่แตกต่างกัน (inter-strand DNA crosslinking) และส่งผลทำให้เกิดความเสียหายของดีเอ็นเอขึ้นได้ (4) การแตกหักและขาดออกจากกันของสายดีเอ็นเอทั้งสายเดี่ยวและสายคู่ (single-strand breaks; SSBs) และสายคู่ (double-strand breaks; DSBs) ในขณะที่มีการจำลองแบบของดีเอ็นเอ ซึ่งเซลล์จำเป็นต้องทำให้สายดีเอ็นเอขาดที่บริเวณ application fork เพื่อทำให้เกิดการคลายเกลียวสำหรับการจำลองตนเอง โดยที่หลังจากกระบวนการจำลองตนเองเสร็จสิ้นแล้ว เซลล์มีกลไกการซ่อมแซมรองรับที่คอยทำหน้าที่เชื่อมต่อสายดีเอ็นเอที่ขาดให้ติดกันและเข้าคู่เกลียวจนกระทั่งเป็นปกติตามเดิมในภายภายหลัง อย่างไรก็ตาม หากกลไกดังกล่าวเกิดความผิดปกติขึ้น จะส่งผลทำให้สายดีเอ็นเอที่ขาดนั้น ไม่สามารถเชื่อมต่อกันได้อีกและเกิดความเสียหายที่เป็นอันตรายต่อเซลล์ขึ้นตามมา (5) ความเสียหายของดีเอ็นเอที่เกิดจากสารอนุมูลอิสระหรือสารออกซิไดส์แรงสูง ซึ่งถูกสร้างขึ้นจากปฏิกิริยาทางเคมีในร่างกายระหว่างกระบวนการเมแทบอลิสซึม (Chatterjee & Walker, 2017; Masai & Foiani, 2017; Tubbs & Nussenzweig 2017)

ความเสียหายของดีเอ็นเอที่เกิดจากปัจจัยภายนอก

ความเสียหายของดีเอ็นเอที่เกิดจากปัจจัยภายนอก คือ ความเสียหายที่เกิดจากปัจจัยที่เป็นอันตรายต่าง ๆ ภายนอกเซลล์หรือเกิดจากปัจจัยซึ่งพบได้ในสิ่งแวดล้อมที่ส่งผลต่อโครงสร้าง

ของดีเอ็นเอ ได้แก่ (1) ปัจจัยทางกายภาพที่เป็นพิษต่อดีเอ็นเอ (genotoxins) และ (2) ปัจจัยประเภทสารเคมีที่มีฤทธิ์ก่อการกลายพันธุ์ (mutagens) หรือสารก่อมะเร็ง (carcinogens) สำหรับปัจจัยทางกายภาพที่เป็นพิษต่อดีเอ็นเอและมีความสัมพันธ์กับการเกิดโรคมะเร็งที่พบได้บ่อยคือ รังสีก่อประจุ รังสีเอ็กซ์ รังสีแกมมา และรังสีอัลตราไวโอเลต เช่น แสงอัลตราไวโอเล็ทฟาร์ยูวี (far ultraviolet light) ซึ่งสามารถส่งผลทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางเคมีต่อดีเอ็นเอได้หลายรูปแบบ เช่น ทำให้เกิดการสูญเสียของอะตอมบางส่วนในนิวคลีโอไทด์ไป, ทำให้เกิดการจัดเรียงตัวใหม่ของอะตอมในนิวคลีโอไทด์ขึ้น หรือทำให้มีการเพิ่มกลุ่มของอะตอมที่มีอิทธิพลต่อการทำงานในนิวคลีโอไทด์ขึ้น ในส่วนของปัจจัยประเภทสารเคมีที่มีฤทธิ์ก่อการกลายพันธุ์หรือสารก่อมะเร็งซึ่งพบได้บ่อย ได้แก่ สารพิษจากเชื้อรา สารในกลุ่มโพลีไซคลิกอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอน (polycyclic aromatic hydrocarbons) สารเคมีที่สามารถทำการเติมหมู่อัลคิลให้แก่ดีเอ็นเอ เช่น อัลคิลเล็ทติงเอเจนท์ (alkylating agents) สารออกซิไดส์แรงสูง (ROSs) ที่ทำให้สายดีเอ็นเอขาดเสียหายโดยการทำปฏิกิริยาออกซิเดชัน สารปล่อยไอออนทั้งหลายที่สามารถทำให้เกิดการขาดของสายดีเอ็นเอขึ้นได้ ไม่ว่าจะเป็นสายเดี่ยวหรือสายคู่ สิ่งกระตุ้นปฏิกิริยาระหว่างโมเลกุลของไพริมิดีน (pyrimidines) เช่น ไธมีน (thymine) หรือไซโตซีน (cytosine) และส่งผลทำให้ไพริมิดีนสองโมเลกุล เกิดการเชื่อมติดกันเป็นไพริมิดีนโมเลกุลคู่ขึ้น (Chatterjee & Walker, 2017; Tubbs & Nussenzweig 2017; Trenner & Sartori, 2019)

การตอบสนองต่อความเสียหายของดีเอ็นเอ (DNA damage responses; DDR)

ความเสียหายของดีเอ็นเอที่เกิดขึ้น ไม่ว่าจะเกิดขึ้นในรูปแบบใดหรือในระหว่างขั้นตอนใดก็ตาม เช่น ในระหว่างการจำลองตัวของดีเอ็นเอ หรือในระหว่างกระบวนการสำคัญอื่น ๆ ที่เกี่ยวข้องกับโครงสร้างของดีเอ็นเอ จะต้องได้รับการแก้ไขอย่างทันทีและรวดเร็ว เพราะไม่เช่นนั้น อาจเกิดการกลายพันธุ์ของจีโนมที่ตำแหน่งที่สำคัญต่อการอยู่รอดของเซลล์ และหากความผิดปกติของโมเลกุลดีเอ็นเอไม่ได้ซ่อมแซมแก้ไข ความผิดปกติของโมเลกุลดีเอ็นเอที่เกิดขึ้นในสายดีเอ็นเอที่จะเป็นต้นแบบในการจำลองตัวขึ้นใหม่ (parent DNA molecules) จะส่งผลต่อเซลล์รุ่นต่อไปทำให้เกิดปัญหาจากการกลายพันธุ์อย่างถาวรขึ้น ณ ตำแหน่งนั้น นั่นคือเหตุผลที่เซลล์จะต้องมีกลไกที่สามารถทำการตรวจสอบและแก้ไขความผิดพลาดได้ เพื่อรักษาความสมดุลภายในเซลล์และแก้ไขความผิดพลาดที่เกิดขึ้นเวลาที่ดีเอ็นเอได้รับความเสียหาย เช่น สายดีเอ็นเอขาดออกจากกัน (Huang & Zhou, 2021)

การตอบสนองต่อความเสียหายของดีเอ็นเอ เป็นระบบที่ประกอบด้วยกลไกการทำงานและโมเลกุลหลากหลายชนิด ซึ่งมีบทบาทหน้าที่ที่สำคัญในการตรวจสอบ ซ่อมแซมและรักษาลำดับของรหัสดีเอ็นเอและกระบวนการจำลองตัวเองของดีเอ็นเอให้เป็นไปอย่างถูกต้อง นอกจากนี้ยังมีหน้าที่ส่งสัญญาณกระตุ้นกระบวนการตายของเซลล์ หากเซลล์ไม่สามารถแก้ไขความเสียหายของดีเอ็นเอให้กลับมาเป็นปกติได้ สำหรับกลไกสำคัญซึ่งเซลล์ใช้ในการตรวจสอบและซ่อมแซมดีเอ็นเอที่เสียหาย (DNA damage repair) ประกอบด้วยไดเร็ค รีเวอร์ซัล รีแพร์ (direct reversal repair), ดีเอ็นเอ มิสแม็ทช์ รีแพร์ (DNA mismatch repair; MMR), วิถีเอ็กซ์ซิชัน รีแพร์ (excision repair pathway), และกลไกการซ่อมแซมสายดีเอ็นเอที่ขาดทั้งสองเส้น (double-strand breakage repair) (Basu, 2018; Huang & Zhou, 2021)

กลไกไดเร็ค รีเวอร์ซัล รีแพร์

กลไกไดเร็ค รีเวอร์ซัล รีแพร์เป็นกลไกสำหรับซ่อมแซมความเสียหายของดีเอ็นเอที่เกิดจากกลุ่มอะตอมบางชนิดเข้าไปปฏิกิริยาทางเคมีและส่งผลทำให้มีการจับตัวกันระหว่างกลุ่มอะตอมดังกล่าวกับโมเลกุลของดีเอ็นเอ ในกรณีดังกล่าวนี้เซลล์สามารถแก้ไขความเสียหายของดีเอ็นเอได้อย่างง่ายดาย โดยทำให้ปฏิกิริยาทางเคมีที่ทำให้เกิดความผิดปกติขึ้นนั้นเกิดการย้อนกลับ ส่งผลทำให้โครงสร้างของดีเอ็นเอกลับมาเป็นปกติได้ในที่สุด ตัวอย่างเช่น (1) ความผิดปกติจากรังสียูวีที่ทำให้เกิดไพริมิดีนไดเมอร์จับตัวอยู่บนโครงสร้างของดีเอ็นเอสายเกลียวคู่ การซ่อมแซมความผิดปกติดังกล่าวนี้อาศัยการทำงานของเอนไซม์ดีเอ็นเอโฟโตไลเอส (DNA photolyase) ทำให้ไพริมิดีนไดเมอร์แยกตัวออกจากกัน เอนไซม์นี้ถูกกระตุ้นได้ด้วยแสงจึงมีชื่อเรียกอีกชื่อหนึ่งว่าโฟโตรีแอคติเวชัน (photoreactivation) (2) ความผิดปกติที่เกิดจากปฏิกิริยาอัลคิลเลชัน (alkylation) ทำให้กลุ่มอัลคิลจับตัวอยู่บนดีเอ็นเอ การซ่อมแซมความผิดปกติดังกล่าวนี้อาศัยการทำงานของเอนไซม์ดีเอ็นเอ เมธิลทรานซเฟอเรส (DNA methyl-transferase) หรือเอนไซม์ดีเอ็นเอ ไกลโคซิลเลส (DNA glyco-sylase) ในตรวจจับและกำจัดกลุ่มอัลคิลออกไป (Alhmoud, et al., 2020)

กลไกดีเอ็นเอ มิสแม็ทช์ รีแพร์

กลไกดีเอ็นเอ มิสแม็ทช์รีแพร์มีบทบาทหน้าที่ซ่อมแซมความเสียหายที่เกิดจากเบสที่ไม่เข้าคู่กันบนสายดีเอ็นเอ เนื่องจากมีการเติมเบสหรือตัดเบสออกไปในระหว่างกระบวนการจำลองตนเองของดีเอ็นเอ โดยหลังจากขั้นตอนการรับรู้ความเสีย

หายของดีเอ็นเอแล้ว ขั้นตอนการกำจัดดีเอ็นเอที่เสียหายออกไปจะเกิดขึ้นตามมา จากนั้นจึงเข้าสู่ขั้นตอนการสร้างดีเอ็นเอใหม่เพื่อชดเชยดีเอ็นเอที่ถูกตัดออกไป ขั้นตอนเหล่านี้อาศัยโปรตีนหลากหลายชนิดมาทำงานร่วมกัน (Huang & Zhou, 2021; Bateman, 2021) ได้แก่

- โปรตีนในกลุ่มดีเอ็นเอมิสแม็ทช์ รีแพร์ (MMR proteins) ซึ่งทำหน้าที่รับรู้และจับตัวกับเบสที่เข้าคู่ผิด (mispaired base) ในปัจจุบัน มีการศึกษาพบโปรตีน MMR อย่างน้อยเจ็ดชนิด สำหรับโปรตีน MMR ที่เกี่ยวข้องทางคลินิกกับพยาธิกำเนิดของโรคมะเร็งมากที่สุดมีสี่ชนิด คือ MLH-1, MSH-2, MSH-6 และ PMS-2 โปรตีนทั้งสี่ชนิดนี้จับตัวกันเป็นโปรตีนคอมเพล็กซ์ในรูป heterodimers ซึ่งประกอบด้วย MLH-1 จับตัวอยู่กับ PMS-2 และ MSH-2 จับตัวอยู่กับ MSH-6
- เอนไซม์เอ็กโซนิวคลีเอส-1 (exonuclease 1; EXO1) ทำหน้าที่ตัดนิวคลีโอไทด์ในทิศทาง 5’ ไปยัง 3’
- เรพลิเคชัน โปรตีน เอ (replication protein A; RPA) ทำหน้าที่จับกับดีเอ็นเอสายเดี่ยวที่เกิดจากการตัดโดย EXO1 เพื่อป้องกันดีเอ็นเอไม่ให้ถูกเอนไซม์ตัดย่อยมากเกินไป
- MLH1 เป็นหน่วยย่อยของ MutLα ทำหน้าที่ยับยั้ง EXO1 ไม่ให้ตัดดีเอ็นเอมากจนเกินไป มีการศึกษาพบว่าความผิดปกติของ MLH1 มีความสัมพันธ์กับโรคมะเร็งที่เกิดจากความผิดปกติของกลไก MMR ถึง 50%
- ดีเอ็นเอโพลิเมอเรส δ (DNA polymerase δ) ทำหน้าที่สังเคราะห์ดีเอ็นเอขึ้นทดแทนดีเอ็นเอที่ถูกตัดออกไป
- ดีเอ็นเอไลเกส (ligase) ทำหน้าที่เชื่อมสายดีเอ็นเอที่ขาดให้ต่อกันเป็นเส้นเดียว
- โปรตีนโพรลิเฟอเรทติงเซลล์ นิวเคลียร์ แอนติเจน (proliferating cell nuclear antigen; PCNA) ที่ทำหน้าที่รับรู้ความไม่เข้าคู่กันของเบสและจำเป็นสำหรับขั้นตอนสุดท้ายในการสังเคราะห์ดีเอ็นเอโดยดีเอ็นเอโพลิเมอเรส

วิถีเอ็กซ์ซิชัน รีแพร์

วิถีเอ็กซ์ซิชัน รีแพร์ เป็นกลไกการซ่อมแซมความเสียหายของดีเอ็นเอซึ่งพบได้ในเซลล์ทุกชนิดและจัดเป็นกลไกการซ่อมแซมดีเอ็นเอหลักของเซลล์มนุษย์ วิถีเอ็กซ์ซิชัน รีแพร์ทำหน้าที่ตัดดีเอ็นเอที่เสียหายออกไปและนำดีเอ็นเอที่ถูกต้องมาเติมให้แก่สายดีเอ็นเอบริเวณที่เสียหาย วิถีเอ็กซ์ซิชัน รีแพร์ ประกอบด้วยกลไกหลักสองกลไกคือ กลไกเบส เอ็กซ์ซิชัน รีแพร์ (base excision repair; BER) และกลไกนิวคลีโอไทด์ เอ็กซ์ซิชัน รีแพร์ (nucleotide excision repair; NER)

กลไก BER เป็นกลไกการซ่อมแซมความเสียหายที่เกิดกับดีเอ็นเอเพียงหนึ่งตำแหน่งหรือความเสียหายขนาดเล็กประมาณ 1-10 เบส โดยทั่วไป โมเลกุลหลักที่ทำหน้าที่เป็นเซ็นเซอร์ตรวจจับความเสียหายของดีเอ็นเอของกลไก BER คือ APE1 และดีเอ็นเอไกลโคซิเลส (DNA glycosylases) นอกจากนี้กลไก BER ยังอาศัยไกลโคซิเลสในการตัดเบสที่เสียหายออกไปโดยการทำปฏิกิริยาไฮโดรไลสิสที่พันธะไกลโคซิดิก (glycosidic bonds)

กลไก NER คล้ายคลึงกับกลไก BER แต่แตกต่างกันตรงที่ส่วนที่ผิดปกติของสายดีเอ็นเอซึ่งจำเป็นต้องถูกกำจัดออกไปโดยกลไก NER มีขนาดใหญ่กว่า เช่น ในกรณีที่เกิดไธมีนไดเมอร์ (thymine dimers) หรือความผิดปกติที่เกิดจากสารเคมีขนาดใหญ่ไปจับตัวกับเบส นอกจากนี้ กลไก NER ยังเป็นกลไกที่เซลล์มักนำมาใช้ร่วมกันสำหรับการซ่อมแซมความผิดปกติบนสายดีเอ็นเอเกลียวคู่ ในรูปแบบที่เรียกว่าทรานส์คริปชัน-คับเปิล รีแพร์ (transcription-coupled repair; TCR) หรือกลอบัล จีโนม รีแพร์ (global-genome repair; GGR) สำหรับโมเลกุลหลักที่ทำหน้าที่เป็นเซ็นเซอร์ตรวจจับความเสียหายของดีเอ็นเอของกลไก NER คือ xeroderma pigmentosum complementation group C (XPC) และ class-switch recombination (CSA) และยังมีโปรตีนชนิดอื่นๆ ที่มีบทบาทเป็นสื่อกลางในวิถีการส่งสัญญาณ คือ DNA damage recognition and repair factor (XPA), xeroderma pigmentosum group F protein (XPF) และ RPA และโปรตีนที่ทำหน้าที่ตัดและซ่อมแซมสายดีเอ็นเอให้เป็นปกติ คือ xeroderma pigmentosum group G protein (XPG), excision repair cross complementation group 1 (ERCC1) และ DNA polymerase delta 1 catalytic subunit (POLD1) (Alhmoud, et al., 2020; Huang & Zhou, 2021)

กลไกการซ่อมแซมสายดีเอ็นเอที่ขาดทั้งสองเส้น

กลไกการซ่อมแซมสายดีเอ็นเอที่ขาดทั้งสองเส้นประกอบด้วยกลไกโฮโมโลกัส รีคอมไบเนชัน (homologous recombination repair, HR) และกลไกคลาสสิคัล นอน-โฮโมโลกัส ดีเอ็นเอ เอนด์ จอยน์นิง (classical non-homologous DNA end joining; c-NHEJ) (Spies, et al., 2021)ในส่วนของกลไก HR เป็นกลไกที่ทำการซ่อมแซมการขาดของดีเอ็นเอทั้งสองเส้นโดยใช้โฮโมโลกัสโครโมโซม (homologous chromosomes) ที่ไม่มีความเสียหายเป็นสายต้นแบบ เพื่อสังเคราะห์นิวคลีโอไทด์ขึ้นใหม่ ชดเชยนิวคลีโอไทด์ที่ถูกตัดออกไปก่อนที่จะทำการเชื่อมต่อส่วนปลายของสายดีเอ็นเอที่ขาดออกจากกันทั้งสองเส้นให้

กลับมาติดกันเหมือนเดิม ดังนั้นการทำงานของกลไก HR จึงเกิดขึ้นในระหว่างระยะ G2 และระยะ S ของวงจรเซลล์ และอาศัย PI3K อะแท็กเซีย เทแลนจิเอ็กทาเซีย มิวเตท (PI3K ataxia telangiectasia related; ATR) ในการเติมหมู่ฟอสเฟตให้แก่ H2A.X และเกิดการเหนี่ยวนำให้โปรตีนหลักชนิดอื่น ๆ เช่น BRCA1 และ BRCA2 เดินทางไปยังเรพลิเคชัน ฟอร์ค (replication fork) เพื่อการซ่อมแซมดีเอ็นเอในภายหลัง การกลายพันธุ์ของ BRCA1/2 (breast cancer gene 1/2) มีความสัมพันธ์กับกลุ่มอาการของโรคมะเร็งเต้านมในครอบครัว (familial breast cancer syndromes) (Toh & Ngeow, 2021)

กลไก c-NHEJ เป็นกลไกที่ทำการเชื่อมต่อสายดีเอ็นเอที่ขาดทั้งสองเส้นโดยอาศัยเอนไซม์นิวคลีเอสในการทำหน้าที่ตัดย่อยสายดีเอ็นเออย่างเฉพาะเจาะจง เพื่อกำจัดบางส่วนของสายดีเอ็นเอที่เสียหายออกไป ส่งผลทำให้บริเวณบางส่วนของสายดีเอ็นเอเปิดอ้าออกและได้รับการซ่อมแซม หลังจากที่สายดีเอ็นเอบางส่วนถูกตัดออกไปแล้วจะไม่มีการเติมเบสใหม่ใด ๆ เข้าไปอีก แต่ปลายทั้งสองข้างของสายดีเอ็นเอจะถูกเชื่อมรวมให้ต่อกันเป็นสายดีเอ็นเอเส้นเดียวกันโดยเอนไซม์ไลเกส (ligase) ดังนั้น ปัญหาสำคัญของ c-NHEJ คือการเรียงลำดับของนิวคลีโอไทด์ในสายดีเอ็นเอจะเปลี่ยนไปจากเดิม เนื่องจากนิวคลีโอไทด์บางส่วนของสายดีเอ็นเอถูกตัดออกไปอย่างถาวร โดยที่ไม่มีการซ่อมแซมเพิ่มเติมใหม่ใด ๆ ให้กลับมาเหมือนเดิม และส่วนปลายของดีเอ็นเอที่นิวคลีโอไทด์บางส่วนถูกกำจัดออกไปแล้ว จะถูกเชื่อมรวมต่อกันอีกครั้งทันที (Spies, et al., 2021)

ในระยะ G1 ของวงจรเซลล์ กลไก c-NHEJ ทำหน้าที่ซ่อมแซมการขาดของสายดีเอ็นเอ โดยการเชื่อมต่อปลายของสายดีเอ็นเอที่ขาดให้ติดกัน ซึ่งจะเพิ่มความเสี่ยงของการกลายพันธุ์ การทำงานของกลไก c-NHEJ จำเป็นต้องเหนี่ยวนำให้เอนไซม์ฟอสโฟอิโนซิทอล-ไคเนส-ไคเนส-ไคเนส (phosphoinositol-kinase-kinase-kinase (PI3K), อะแท็กเซีย เทแลนจิเอ็กทาเซีย มิวเตท (ataxia telangiectasia mutated; ATM) และ ATM PI3K (ATM PI3K) เดินทางไปยังตำแหน่งที่เกิด DSBs ซึ่งจะทำให้เกิดการเติมหมู่ฟอสเฟตให้แก่ฮีสโตน วาเรียนท์ H2A.X (histone variant H2A.X; γH2AX) เกิดเป็น γH2AX DNA damage foci ใกล้กับตำแหน่งที่เกิดความเสียหายของดีเอ็นเอ และดึงดูดให้โปรตีนที่มีหน้าที่ซ่อมแซมความเสียหายของดีเอ็นเอเข้ามายังบริเวณที่เกิดความเสียหาย นำไปสู่การกระตุ้นการทำงานของโปรตีนชนิด G1 เซลล์ไซเคิล เช็คพอยท์ ไคเนส (G1 cell cycle checkpoint kinase; Chk1) และหยุดการเคลื่อนไปของวงจรเซลล์ (cell cycle arrest) ซึ่งเป็นกระบวนการที่ขึ้นอยู่กับการแสดงออกของ p53 (Lam, 2022; Huang & Zhou, 2021)

การตอบสนองต่อความเสียหายของดีเอ็นเอในสัตว์

การตอบสนองต่อความเสียหายของดีเอ็นเอมีความสำคัญต่อการอยู่รอดของสิ่งมีชีวิตทุกชนิดและได้รับการอนุรักษ์ในทางพันธุกรรมมาอย่างยาวนาน องค์ประกอบและกลไกการทำงานของ DDR ในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมแทบทุกชนิดมีความคล้ายคลึงกันอย่างมาก (Lou 2005; Niida, 2006) โดยเฉพาะอย่างยิ่ง DDR ของสุนัขกับของมนุษย์ เนื่องจากโปรตีนที่สำคัญบางชนิดมีการตอบสนองต่อความเสียหายของดีเอ็นเอในลักษณะที่คล้ายคลึงกันมากเป็นพิเศษ เมื่อเทียบกับสายพันธุ์อื่น (Zhang 2009) ตัวอย่างเช่น การศึกษาการแสดงออกของโปรตีน p53 หลังจากที่ดีเอ็นเอได้รับความเสียหายจากการฉายรังสี ในเซลล์เพาะเลี้ยงจากไตของมนุษย์ หนูเมาส์ หนูแร็ท สุนัข และลิง ผลการทดลองพบว่า ในช่วงเวลาที่ทำการทดสอบ ระดับการแสดงออกของโปรตีน p53 ของทุกสปีชีส์ มีการเพิ่มขึ้นและลดลงในรูปแบบขึ้นลงเหมือนคลื่น อย่างไรก็ตาม พบว่ารูปแบบการแสดงออกของโปรตีน p53 นั้นเกิดขึ้นช้ากว่าและมีความคล้ายคลึงกันมากระหว่างสุนัขกับมนุษย์ มากกว่าในสัตว์ฟันแทะ (Stewart-Ornstein, 2017)

ผลของการศึกษาเกี่ยวกับ DDR proteins ในสุนัข พบว่าการทำงานและการแสดงออกของ DDR proteins หลากหลายชนิด เช่น TopBP1, p53, Rad51, BRCA1, BRCA2, Chk1a, Chk2a, PTEN, PCNA, p21, p27 และ Cyclin A ของสุนัขและของมนุษย์มีความคล้ายคลึงกันอย่างมาก DDR proteins ทั้งของมนุษย์และสุนัขจัดเป็นโปรตีนที่ได้รับการอนุรักษ์ทางพันธุกรรมในระดับสูง นอกจากนี้ยังมีการศึกษาพบว่าทั้งมนุษย์และสุนัขจัดเป็นสิ่งมีชีวิตที่มีอัตราการซ่อมแซมดีเอ็นเอ (DNA repair rates) สูงสุด ทำให้ในปัจจุบัน สุนัขเป็นสัตว์เพื่องานทางวิทยาศาสตร์ที่ได้รับความนิยมอย่างมากในการใช้เป็นโมเดลสำหรับงานวิจัยเกี่ยวกับ DDR และงานวิจัยเพื่อศึกษาข้อมูลทางชีวภาพเชิงลึกเพื่อนำมาแปลผลสำหรับใช้ในมนุษย์ (Hernández-Suárez, 2022) อย่างไรก็ตาม จากการทบทวนวรรณกรรม พบว่าแม้ว่าสุนัขเป็นสัตว์ที่ได้รับความนิยมนำมาใช้ในงานวิจัยดังที่ได้กล่าวมาแล้วก็ตาม แต่ข้อมูลเกี่ยวกระบวนการ DDR และรายละเอียดเกี่ยวกับบทบาทขององค์ประกอบแต่ละขั้นตอนของ DDR ในสุนัขยังมีอยู่ค่อนข้างจำกัด งานวิจัยส่วนใหญ่มุ่งเน้นที่จะตรวจสอบเฉพาะโปรตีนชนิดใดชนิดหนึ่งใน DDR pathway โดยที่ยังไม่มีการศึกษากระบวนการ DDR โดยรวม นอกจากนี้ แม้ว่างานวิจัยบางชิ้นจะศึกษาผลกระทบที่เกิดจากการกลายพันธุ์และการเปลี่ยนแปลงในระดับการแสดงออกของโปรตีนในระบบ DDR

บางชนิดก็ตาม โดยทั่วไป ข้อมูลที่สามารถเชื่อมโยงระบบ DDR ของสุนัขกับการพัฒนาการรักษาด้วยยาต้านมะเร็งชนิดใหม่ได้อย่างชัดเจนยังคงมีอย่างจำกัด (Grosse, 2014; Klopfleisch, 2011)

ความสัมพันธ์ระหว่างโรคมะเร็งกับกลไกการตอบสนองต่อความเสียหายของดีเอ็นเอ

การที่เซลล์มีระบบตรวจสอบภายในและกลไกที่ทำการซ่อมแซมแก้ไขความเสียหายของดีเอ็นเอได้อย่างรวดเร็ว แสดงให้เห็นว่ากระบวนการตอบสนองต่อดีเอ็นเอที่เสียหายนั้นมีความสำคัญอย่างยิ่งต่อการอยู่รอดของสิ่งมีชีวิต เนื่องจาก DDR มีบทบาทหน้าที่ที่สำคัญในการรักษาเสถียรภาพของจีโนมและป้องกันการกลายพันธุ์ของยีน ความผิดปกติในระบบ DDR ของเซลล์ ทำให้เพิ่มความเสี่ยงในการเกิดการกลายพันธุ์ของยีนและภาวะไร้เสถียรภาพของจีโนม อาจนำไปสู่การเปลี่ยนแปลงของเซลล์ปกติไปเป็นเซลล์มะเร็งและพัฒนาการของโรคมะเร็งในที่สุด มีหลักฐานจำนวนมากจากงานวิจัยในมนุษย์ที่แสดงให้เห็นอย่างชัดเจนว่า ความผิดปกติที่เกิดกับวิถีการส่งสัญญาณของ DDR มีความสัมพันธ์อย่างมากกับการก่อมะเร็งและความก้าวหน้าของโรคมะเร็งหลายชนิด เช่น มะเร็งลำไส้ มะเร็งเต้านม มะเร็งปอด มะเร็งรังไข่ มะเร็งต่อมลูกหมาก ฯลฯ (O'Connor, 2015; Pearl et al., 2015; Yin et al., 2022)

สำหรับในทางสัตวแพทย์ การศึกษาความสัมพันธ์ระหว่าง DDR กับโรคมะเร็งส่วนใหญ่เป็นการศึกษาในสุนัข ซึ่งพบว่าความเสียหายของดีเอ็นเอและความผิดปกติในการทำงานของ DDR มีความสัมพันธ์กับการเกิดโรคมะเร็งหลายชนิด ตัวอย่าง เช่น (1) โรคมะเร็งเต้านม ซึ่งพัฒนาการของโรคมะเร็งเต้านมในสุนัขมีความสัมพันธ์กับความผิดปกติในการทำงานของ BRCA1/2 gene เช่นเดียวกับในมนุษย์ นอกจากนี้ยังพบว่าโรคมะเร็งเต้านมในสุนัขและในมนุษย์มีความคล้ายคลึงกันทั้งในทางคลินิกและพยาธิกำเนิดในระดับโมเลกุล ทำให้สุนัขเป็นโมเดลที่มีประโยชน์ในการศึกษาเกี่ยวกับโรคมะเร็งเต้านม (Enginler, et al., 2014; Gray, et al., 2020) (2) โรคมะเร็งต่อมน้ำเหลืองในสุนัข ซึ่งมีรายงานผลการวิจัยที่แสดงให้เห็นว่าความผิดปกติทางพันธุกรรมของกลไกการซ่อมแซมดีเอ็นเออาจเกี่ยวข้องกับพัฒนาการของโรคมะเร็งชนิดนี้ (Sanford & Parshad, 1999) (3) โรคมะเร็งผิวหนังชนิดสควอมัสเซลล์ (squamous carcinomas) ในสุนัขและแมว ซึ่งมีการศึกษาพบการแสดงออกของ p53 ในเซลล์มะเร็งมีระดับสูงกว่าเซลล์ปกติอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แสดงถึงความสัมพันธ์ระหว่างการแสดงออกของโปรตีน p53 มากผิดปกติ (p53 overexpression) และการเกิดโรคมะเร็ง (Rungsipipat , et al., 1999) (4) โรคมะเร็งลำไส้ในสุนัข ซึ่งมีการศึกษาพบการกลายพันธุ์ของ p53 ในเซลล์มะเร็ง (Cho, et al., 2020)

การใช้สุนัขเป็นโมเดลสำหรับศึกษาเกี่ยวกับโรคมะเร็งนั้น เป็นประโยชน์ไม่เพียงแต่เฉพาะโรคมะเร็งเต้านมเท่านั้น แต่ยังเป็นประโยชน์สำหรับการศึกษาเกี่ยวกับโรคมะเร็งชนิดอื่น ๆ ด้วย เนื่องจากการใช้สุนัขเป็นโมเดลมีข้อได้เปรียบเพิ่มเติมอีกคือ (1) ทั้งมนุษย์และสุนัขมีพัฒนาการของโรคมะเร็งที่เกิดขึ้นเอง (spontaneous) ซึ่งเห็นได้จากอุบัติการณ์ของโรคมะเร็งที่สูงขึ้นตามอายุ (2) การที่ผู้ป่วยแต่ละคนหรือสัตว์ป่วยแต่ละตัว มีการดำเนินไปของโรคที่แตกต่างกันออกไป (heterogeneous course of disease) แม้ว่าจะมีพฤติกรรมการแพร่กระจายของเซลล์มะเร็งเหมือนกัน (3) สุนัขมีลักษณะการตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาต้านมะเร็งที่คล้ายคลึงกับมนุษย์ (3) ความผิดปกติของในวิถี DDR ที่พบในมนุษย์และสุนัข มีความคล้ายคลึงกันมาก (Grosse, et al., 2014) นอกจากนี้ สุนัขยังเป็นสัตว์ที่ถูกนำมาศึกษาเกี่ยวกับความผิดปกติทางพันธุกรรมที่เกี่ยวข้องกับโรคมะเร็ง จนมีข้อมูลเกี่ยวกับความผิดปกติทางพันธุกรรมจำนวนมากกว่า 360 รายการ ซึ่งจัดเป็นข้อมูลความผิดปกติทางพันธุกรรมที่เกิดขึ้นตามธรรมชาติที่มีขนาดใหญ่ที่สุด รองจากข้อมูลในมนุษย์ (Hernández-Suárez, et al., 2022) ข้อมูลจากการใช้สุนัขเป็นโมเดลเหล่านี้สนับสนุนการทำงานร่วมกันระหว่างสัตวแพทย์ แพทย์ ผู้เชี่ยวชาญด้านโรคมะเร็งในสัตว์และในมนุษย์เพื่อความก้าวหน้าขององค์ความรู้เกี่ยวกับภาวะไร้เสถียรภาพของจีโนม โดยเฉพาะอย่างยิ่งความผิดปกติของระบบ DDR ซึ่งจะนำมาสู่ความสำเร็จในการรักษาโรคมะเร็งที่มีประสิทธิภาพได้ในอนาคต

ยาที่มีเป้าหมายเกี่ยวข้องกับกลไกการตอบสนองต่อความเสียหายของดีเอ็นเอ

การค้นหาโมเลกุลที่เป็นกุญแจสำคัญในวิถีการส่งสัญญาณ DDR และโมเลกุลที่สามารถปรับเปลี่ยน DDR แล้วส่งผลทำให้เกิดฤทธิ์ต้านมะเร็งได้ จัดเป็นเป้าหมายสำคัญของการพัฒนายาต้านมะเร็งที่มีประสิทธิภาพ โดยเฉพาะอย่างยิ่งการรักษาโรคมะเร็งแบบมุ่งเป้าระดับโมเลกุล (molecularly-targeted anticancer therapy) ซึ่งจัดเป็นวิธีการรักษาโรคมะเร็งรูปแบบใหม่ที่กำลังได้รับความสนใจอย่างมากในปัจจุบัน หนึ่งในวิธีการรักษาโรคมะเร็งแบบมุ่งเป้าคือ การใช้โมเลกุลซึ่งมีฤทธิ์ยับยั้ง DDR อย่างจำเพาะเจาะจง ในการรักษาโรคมะเร็งซึ่งมีความเกี่ยวข้องกับการทำงานที่ผิดปกติของวิถีการส่งสัญญาณ DDR (Minchom, et al., 2018; Patel, et al., 2020) และตามธรรมชาติ เซลล์มะเร็งมีคุณสมบัติที่สามารถแบ่งตัวอย่างรวดเร็ว จึงมักมีการทำงานของ DDR ที่ลดต่ำลงอยู่แล้ว ซึ่งทำให้เซลล์มะเร็งมีความไวต่อยาต้าน

DDR ที่ออกฤทธิ์อย่างจำเพาะเจาะจงมากขึ้น (เช่น ATR/DNA-PK inhibitors) การตอบสนองในลักษณะดังกล่าวนี้ทำให้เกิดความสนใจในการพัฒนายามุ่งเป้าที่สามารถส่งผลต่อเซลล์มะเร็งได้มากกว่าเซลล์ปกติซึ่งไม่มีปัญหาของระบบ DDR และกลไกการซ่อมแซมดีเอ็นเอสามารถทำงานได้ดี (Cheng, et al., 2022)

นอกจากนี้ ยาต้าน DDR ยังมีศักยภาพในการส่งผลกำจัดเซลล์มะเร็งได้ตามแนวคิดที่เรียกว่าซินธีทิค ลีธัลลิทีย์ (synthetic lethality) ซึ่งหมายถึงปรากฏการณ์ที่ยีนมีความเกี่ยวข้องกันตั้งแต่สองยีนขึ้นไปเกิดความผิดปกติขึ้นพร้อมกันแล้วทำให้เซลล์ตาย ในขณะที่หากยีนที่สัมพันธ์กันเหล่านี้เกิดความผิดปกติขึ้นเพียงยีนเดียว เซลล์จะยังคงสามารถทนต่อภาวะพร่องของยีนเพียงยีนเดียวดังกล่าวนี้และอยู่รอดต่อไปได้ ตามแนวคิดซินธีทิค ลีธัลลิทีย์ เซลล์มะเร็งที่มีภาวะพร่องของยีน DDR ชนิดใดชนิดหนึ่ง มักจำเป็นต้องอาศัยการทำงานของยีน DDR ชนิดอื่น ๆ เพื่อความอยู่รอด และการใช้ยาต้าน DDR ซึ่งมุ่งเป้าที่โปรตีนซึ่งเป็นผลผลิตจากยีนดังกล่าว จะทำให้เซลล์มะเร็งตายแบบจำเพาะเจาะจงได้ เซลล์มะเร็งจะไวต่อฤทธิ์ของยาต้าน DDR ทำให้ยาส่งผลฆ่าเซลล์มะเร็งได้ดี ในขณะที่ไม่ทำอันตรายต่อเซลล์ปกติ (เช่น การใช้ ATR inhibitors ที่ประสบความสำเร็จในโรคมะเร็งที่มีภาวะพร่อง ATM และ WEE1 inhibitors ในโรคมะเร็งที่มีการกลายพันธุ์ของ p53) ในปัจจุบัน ด้วยความก้าวหน้าอย่างรวดเร็วของเทคโนโลยีการแก้ไขยีนด้วยเทคนิค RNAi และ CRISPR ทำให้สามารถคัดกรองผลกระทบที่เกิดจากภาวะพร่องของยีนเพียงยีนเดียว (single gene deletion) ต่อการอยู่รอดของเซลล์มะเร็งได้อย่างรวดเร็วและเป็นจำนวนมาก ทำให้สามารถค้นพบยีนเป้าหมายแนวทางซินธีทิค ลีธัลลิทีย์ได้มากขึ้น (O'Neil, et al., 2017)

ตัวอย่างยามุ่งเป้าที่ DDR บางชนิด

I. ยาต้านโพลี เอดีพี ไรโบส โพลีเมอเรส (PARP inhibitors)

ยาในกลุ่ม PARP inhibitors เป็นยาที่มีฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์โพลีอะดีโนซีนไดฟอสเฟตไรโบสโพลีเมอเรส (polyadenosine diphosphate-ribose polymerase; PARP) ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่มีบทบาทหน้าที่ที่สำคัญอย่างยิ่งต่อการซ่อมแซมดีเอ็นเอที่ขาดแบบเส้นเดียว [single-strand break (SSB) repairs] เช่น ในกรณีที่โดนรังสีหรือได้รับยากลุ่มอัลคิลเลทติงเอเจนท์ ในระหว่างที่เซลล์อยู่ในระหว่างกระบวนการจำลองตนเองของดีเอ็นเอ หาก PARP1 มีความผิดปกติหรือการทำงานถูกขัดขวาง ดีเอ็นเอที่ขาดแบบเส้นเดียวจะยิ่งเกิดความเสียหายรุนแรงมากขึ้นจนกลายเป็นดีเอ็นเอที่ขาดทั้งสองสาย (double-strand break; DSB) จนทำให้เซลล์ตายในที่สุด ตัวอย่างของยาในกลุ่มของ PARP inhibitors คือ โอลาปาริบ (olaparib) รูคาปาริบ (rucaparib) และนิราปาริบ (niraparib) ซึ่งเป็นสารประกอบที่สามารถ "ดักจับ" โมเลกุล PARP1 บนสายดีเอ็นเอได้ ส่งผลป้องกันการเกิดปฏิกิริยาออโตพาริเลชัน (autoPARylation) และทำให้ PARP1 หลุดออกจากดีเอ็นเอบริเวณที่เกิดความเสียหายและขัดขวางวงจรตัวเร่งปฏิกิริยาของ PARP1 โดยยากลุ่ม PARP inhibitors แต่ละชนิด มีความแตกต่างกันออกไปในด้านความสามารถในการดักจับโมเลกุล PARP1 (Pommier et al., 2016) ยากลุ่ม PARP inhibitors ป้องกันไม่ให้เซลล์มะเร็งทำการซ่อมแซมดีเอ็นเอที่เสียหาย ทำให้เซลล์มะเร็งตาย ยากลุ่ม PARP inhibitors จัดเป็นยาต้านมะเร็งประเภทมุ่งเป้า (targeted therapy)

ในมนุษย์ มีการวิจัยและพัฒนายากลุ่ม PARP inhibitors มาใช้เป็นยาสำหรับรักษาโรคมะเร็งที่มีการกลายพันธุ์ของ BRCA1 หรือ BRCA2 genes ซึ่งผลจากการทดลองทางคลินิกพบว่ายากลุ่ม PARP inhibitors ให้ผลที่ดีในการเพิ่มระยะเวลาอยู่รอดของผู้ป่วยด้วยโรคมะเร็ง (Patel et al., 2020) สำหรับการใช้ในทางสัตวแพทย์ ในปัจจุบันนี้ ยังไม่มีผลิตภัณฑ์ยาประเภท PARP inhibitors ชนิดใดที่ได้รับการอนุมัติจากองค์การอาหารและยาแห่งประเทศสหรัฐอเมริกา ให้ใช้สำหรับรักษาสัตว์ป่วย และยังไม่พบมีการนำยาประเภท PARP inhibitors ของมนุษย์มาใช้รักษาโรคมะเร็งในทางสัตวแพทย์เช่นกัน อย่างไรก็ตาม พบมีรายงานผลการศึกษาเกี่ยวกับยากลุ่ม PARP inhibitors ในสุนัขในปี พ.ศ. 2559 (ค.ศ. 2016) ซึ่งเป็นการศึกษาเกี่ยวกับคุณสมบัติทางเภสัชจลนศาสตร์ของยาอินิปาริบ (iniparib) โดยคณะผู้วิจัยได้ทำการเปรียบเทียบผลจากใช้ยาในรูปแบบยาเดี่ยว (monotherapy) และในรูปแบบที่ใช้ยาหลายชนิดร่วมกัน (combination therapy) กับคาร์โบพลาทิน (carboplatin) ผลการทดลองพบว่ายาอินิปาริบค่อนข้างปลอดภัยในสุนัข โดยพบมีผลไม่พึงประสงค์บ้างแต่ไม่รุนแรงไปกว่าที่ผลไม่พึงประสงค์ที่เกิดจากคาร์โบพลาทิน (Saba, et al., 2016) เพื่อให้การนำยากลุ่ม PARP inhibitors มาใช้ในการรักษาโรคมะเร็งในสุนัขเป็นไปอย่างมีประสิทธิภาพและปลอดภัย จึงจำเป็นอย่างยิ่งที่จะต้องทำการศึกษาในทางคลินิกเพิ่มเติมให้ได้ข้อมูลที่จำเป็นอย่างละเอียดมากขึ้น เช่น ข้อมูลที่เกี่ยวข้องกับขนาดยาที่เหมาะสมและผลไม่พึงประสงค์ของยาที่อาจเกิดขึ้นได้

อุปสรรคของยากลุ่ม PARP inhibitors อีกประการหนึ่ง คือข้อจำกัดด้านค่าใช้จ่ายที่สูงมาก แม้แต่สำหรับการใช้ในมนุษย์ ตัวอย่างเช่น ในการรักษาผู้ป่วยเป็นระยะเวลา 30 วัน ค่าใช้จ่ายสำหรับโอลาปาริบ (olaparib) เท่ากับ 13,000ดอลลาร์

สหรัฐอเมริกา หรือประมาณ 442,000 บาท (คำนวณจาก 1 USD = 34 THB) ซึ่งยังไม่รวมถึงค่าใช้จ่ายที่จะมีเพิ่มเติมภายหลัง เช่น ค่าใช้จ่ายสำหรับการตรวจทางห้องปฏิบัติการและการแก้ไขผลไม่พึงประสงค์ในระหว่างการรักษา สำหรับการใช้ในทางสัตวแพทย์นั้น มีการประเมินคร่าว ๆ เกี่ยวกับค่าใช้จ่ายในการรักษาโรคมะเร็งด้วยยากลุ่ม PARP inhibitors ในสุนัข ในประเทศสหรัฐอเมริกา พบว่าค่าใช้จ่าย (เฉพาะค่ายาต่อเดือน) อยู่ที่ 10,000-15,000 ดอลลาร์ (ประมาณ 340,000-510,000 บาท) (Thumser-Henner et al., 2020) ซึ่งเป็นค่าใช้จ่ายที่สูงมาก โดยที่แม้แต่ในประเทศสหรัฐอเมริกา เจ้าของสัตว์เลี้ยงส่วนใหญ่ยังคงไม่มีการทำประกันสุขภาพสำหรับสุนัขและต้องแบกรับค่าใช้จ่ายด้วยตัวเอง ดังนั้น อุปสรรคสำคัญสำหรับการใช้ยากลุ่ม PARP inhibitors เพื่อการรักษาสัตว์ป่วย นอกจากเรื่องที่ยังขาดข้อมูลที่เป็นหลักฐานสนับสนุนการนำมาใช้ในรูปแบบของงานวิจัยทางคลินิกในรูปแบบสุ่มที่มีการควบคุม (randomized clinical control trials) แล้ว อุปสรรคสำคัญอีกประการหนึ่งดังที่ได้กล่าวมาแล้วคือ ปัญหาทางการเงิน โดยเฉพาะอย่างยิ่ง หากผลการศึกษาพบว่าประสิทธิภาพทางการรักษาของยากลุ่ม PARP inhibitors ไม่ได้สูงกว่าการรักษาด้วยยาเคมีบำบัดมาตรฐานที่ใช้ในการรักษาโรคมะเร็งโดยทั่วไป

II. ยาต้านฮิสโตนดีอะเซทิลเลส (HDAC inhibitors)

ฮิสโตน ดีอะเซทิลเลส (histone deacetylases, HDACs) เป็นเอนไซม์ที่ทำหน้าที่ดึงกลุ่มอะเซทิล (acetyl groups) ออกจากไลซีน (lysine) ของฮิสโตนและโปรตีนอื่น ๆ นอกเหนือจากฮีสโตนบางชนิด HDACs มีบทบาทสำคัญในกระบวนการทางชีวภาพต่าง ๆ ของร่างกาย เช่น การถอดรหัสดีเอ็นเอ การปรับเปลี่ยนโครงสร้างของโครมาติน (chromatin remodeling) การควบคุมเสถียรภาพของจีโนม และการซ่อมแซมความเสียหายของดีเอ็นเอ โดยเฉพาะอย่างยิ่ง เวลาที่ดีเอ็นเอสายเกลียวคู่ขาด (DSBs) (Bhaskara, 2015) ซึ่งขั้นตอนที่สำคัญและจำเป็นสำหรับการซ่อมแซม DSBs ต้องอาศัยการทำงานของ HDACs (HDAC1; class I HDAC) ในการกระตุ้นปฏิกิริยาดีอะเซทิเลชัน (deacetylation) ของ H3K56 และ H4K16 โดยขั้นตอนนี้จะต้องเกิดขึ้นทันที ณ ตำแหน่งที่เกิดการฉีกขาด เพื่อเหนี่ยวนำให้กลไก NHEJ19 ที่เป็นกลไกหลักของการซ่อมแซมความเสียหายของดีเอ็นเอในรูปแบบ DSB เริ่มต้นทำงาน (Pao, 2019; Pao, 2020)

ยาต้านฮิสโตนดีอะเซทิลเลส (histone deacetylase inhibitors) หรือที่นิยมเรียกสั้น ๆ ว่า เอ็ชแด็ก อินฮิบิเตอร์ (HDAC inhibitors) จัดเป็นยาชนิดใหม่ที่ได้รับความสนใจในการนำมาใช้เป็นยารักษาโรคมะเร็ง ตัวอย่างยาในกลุ่มนี้คือ โวริโนสแต็ท (vorinostat) ชื่อการค้าว่า Zolinza® และชื่อทางเคมีคือ กรดซับเบอรอยลานิไลด์ ไฮดรอกซามิก (suberoylanilide hydroxamic acid) ยาโวริโนสแต็ทเป็นยาต้านฮิสโตนดีอะเซทิลเลสสำหรับใช้ในมนุษย์ที่ได้รับอนุมัติการขึ้นทะเบียนยาจากองค์การอาหารและยาแห่งประเทศสหรัฐอเมริกา (US FDA) เป็นตัวแรกในปีพ.ศ. 2549 (ค.ศ. 2006) เพื่อรักษาโรคมะเร็งน้ำเหลืองทีเซลล์ที่ผิวหนัง (cutaneous T-cell lymphoma) ซึ่งเป็นโรคมะเร็งชนิดที่หายาก (Mann et al., 2007)

ในช่วงไม่กี่ปีที่ผ่านมา มีการพัฒนายาต้านฮิสโตนดีอะเซทิลเลสชนิดใหม่ ๆ ที่มีความหลากหลายทางโครงสร้างได้เป็นจำนวนมาก และมีการทดสอบพบว่ายาเหล่านี้มีฤทธิ์ยับยั้งองค์ประกอบของกระบวนการตอบสนองต่อความเสียหายของดีเอ็นเอและกลไกการซ่อมแซมดีเอ็นเอหลายชนิด เช่น HR, NHEJ, และ ATM (Groselj, et al., 2013; Bose, et al., 2014) ซึ่งเน้นย้ำว่ากลไกการออกฤทธิ์ของยาต้านฮิสโตนดีอะเซทิลเลสเกี่ยวข้องกับกระบวนการตอบสนองต่อความเสียหายของดีเอ็นเอ โดยส่งผลรบกวนกลไกการซ่อมแซมดีเอ็นเอได้หลากหลายหลายกลไก นอกจากนี้ยังมีผลงานวิจัยที่แสดงให้เห็นว่าการใช้ยาต้านฮิสโตนดีอะเซทิลเลสร่วมกันกับยาต้านมะเร็งประเภทอื่น ๆ ทำให้เซลล์มะเร็งตายเพิ่มมากขึ้น เช่น การศึกษาฤทธิ์ของยา PCI-24781 ซึ่งเป็นยาต้านฮิสโตนดีอะเซทิลเลสชนิดหนึ่งร่วมกับ PJ34 ซึ่งเป็นยากลุ่ม PARP inhibitors พบว่าทำให้เซลล์มะเร็งตายแบบอะพอพโทซิสเพิ่มมากขึ้น โดยการยับยั้ง RAD51-mediated homologous recombination (HR) (Demeyer 2021) ทำให้เกิดแนวคิดสนับสนุนการใช้ยาต้านฮิสโตนดีอะเซทิลเลสในรูปแบบ combination therapy ร่วมกับยาต้านมะเร็งที่มีกลไกการออกฤทธิ์โดยสร้างความเสียหายต่อต่อดีเอ็นเอ เพื่อเสริมฤทธิ์ต้านมะเร็ง เพิ่มความไวต่อฤทธิ์ยาและลดภาวะดื้อยา เนื่องจากมีแนวโน้มที่จะเป็นประโยชน์ต่อการรักษาโรคมะเร็งในทางคลินิก

ในส่วนของการทดลองขั้นพรีคลินิก มีรายงานผลการวิจัยเกี่ยวกับผลของยาต้านฮิสโตนดีอะเซทิลเลสที่มีต่อเซลล์มะเร็ง ทั้งในเซลล์เพาะเลี้ยง เซลล์มะเร็งจากโมเดลสัตว์ทดลอง และเซลล์มะเร็งจากผู้ป่วยโรคมะเร็งหลากหลายชนิด ซึ่งแสดงให้เห็นว่ายาต้านฮิสโตนดีอะเซทิลเลสส่งผลกระทบต่อเซลล์มะเร็งหลากหลายประการ เช่น ยับยั้งวงจรเซลล์, ยับยั้งการเคลื่อนที่ย้ายถิ่น (migration) ของเซลล์, ยับยั้งการบุกรุก (metastasis) ไปในเนื้อเยื่ออื่น ๆ, ยับยั้งการสร้างหลอดเลือดใหม่, ยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็ง และทำให้เซลล์ตายแบบอะพอพโทซิส (Jenke et al., 2021; Kiweler et al., 2020; Lee et al., 2010; Li et al., 2020; Zhao et al., 2020)

ในปัจจุบัน มีงานวิจัยและพัฒนายาในกลุ่มยาต้านฮิส

โตนดีอะเซทิลเลสชนิดต่าง ๆ ที่แตกต่างกันไม่ต่ำกว่า 12 ชนิด โดยกำลังอยู่ในขั้นการทดลองทางคลินิกระยะต่าง ๆ และมีการศึกษาการใช้ยาต้านฮิสโตนดีอะเซทิลเลสทั้งในรูปแบบยาเดี่ยวและในรูปแบบที่ใช้ยาร่วมกันกับเคมีบำบัดชนิดอื่น ๆ รวมทั้งแบบผสมผสานกับการใช้รังสีบำบัดในผู้ป่วยที่เป็นโรคมะเร็งทางโลหิตวิทยาและโรคมะเร็งเป็นก้อนชนิดต่าง ๆ รวมทั้งมะเร็งปอด มะเร็งเต้านม มะเร็งตับอ่อน มะเร็งไต มะเร็งกระเพาะปัสสาวะ มะเร็งผิวหนังเมลาโนมา (melanoma) เนื้องอกในสมองกลัยโอบลาสโตมา (glioblastoma) มะเร็งเม็ดเลือดขาว มะเร็งต่อมน้ำเหลือง และมะเร็งของพลาสมาเซลล์มัลติเพิล มัยอีโลมา (multiple myeloma) นอกจากนี้ยังมีการศึกษาการใช้ยากลุ่มนี้สำหรับรักษาโรคที่เกิดจากความผิดปกติของระบบประสาท โรคทางจิตเวชและโรคที่เกิดจากปฏิกิริยาอักเสบชนิดต่าง ๆ ด้วย (Milazzo et al., 2020)

สำหรับการศึกษาฤทธิ์ของยาต้านฮิสโตนดีอะเซทิลเลสเพื่อต้านมะเร็งในทางสัตวแพทย์นั้น ในปัจจุบัน ข้อมูลเกี่ยวกับการใช้ยาต้านฮิสโตนดีอะเซทิลเลสในสัตว์เลี้ยงมีน้อยมาก งานวิจัยส่วนใหญ่เป็นการศึกษาในโรคมะเร็งของเซลล์ผนังหลอดเลือดหรือฮีแมงจิโอซาร์โคมา (haemangiosarcoma, HSA) ในสุนัข ซึ่งเป็นโรคมะเร็งที่ยังไม่มีการรักษาที่มีประสิทธิภาพ เนื่องจากยังขาดความรู้ความเข้าใจในพยาธิกำเนิดของโรค อย่างไรก็ตาม ผลของการศึกษาเมื่อไม่นานมานี้ รายงานว่าความผิดปกติของฮิสโตน อะเซทิลเลชัน (histone acetylation) มีบทบาทเกี่ยวข้องกับความรุนแรงของโรคมะเร็ง HSA และการให้ยาโวริโนสแต็ททางการกิน อาจให้ผลป้องกันการแพร่กระจายของเซลล์มะเร็ง HSA ของสุนัขได้ (Suzuki et al., 2022) รวมทั้งมีการทดลองใช้ยาโวริโนสแต็ทหลังการผ่าตัดในสุนัขที่เป็นโรค HSA พบว่าให้ผลค่อนข้างดี (Cohen et al., 2004) อย่างไรก็ตาม เนื่องจากยังไม่มีข้อมูลเกี่ยวกับการใช้ยานี้ในสุนัขมาก่อน คณะผู้วิจัยจึงกำหนดขนาดยา ความถี่และวิธีการบริหารยาขึ้นโดยอาศัยประเมินข้อมูลจากการใช้ยานี้ในมนุษย์

ความเป็นพิษของยาที่พบในสุนัขคือพิษต่อระบบทางเดินอาหาร ซึ่งจัดเป็นข้อจำกัดของการใช้ยานี้ (Thamm 2008) ข้อจำกัดสำคัญประการหนึ่งคือค่าใช้จ่ายของยาโวริโนสแต็ทซึ่งมีราคาสูง โดยหนึ่งแคปซูล (100 มิลลิกรัม) ราคาประมาณ 5,100 บาท (US$150) (คำนวณจาก 1 USD = 34 THB) (UpToDate 2022) นอกจากนี้ ในปัจจุบัน ยังคงขาดข้อมูลการศึกษาทางเภสัชจลนศาสตร์หรือเภสัชพลศาสตร์เพื่อแสดงให้เห็นถึงคุณสมบัติสำคัญทางเภสัชวิทยาของยาในทางสัตวแพทย์ที่ชัดเจนมากขึ้น ดังนั้นจึงจำเป็นต้องมีการวิจัยเพิ่มเติมเพื่อตรวจสอบว่าสามารถใช้โวริโนสแต็ท เป็นยาทางเลือกในการรักษาโรค HSA ในสุนัขได้หรือไม่

ดังที่กล่าวมาแล้วในเบื้องต้นว่าข้อมูลทางเภสัชจลนศาสตร์ของยาในสัตว์ยังมีอยู่น้อยมาก โดยพบมีรายงานการศึกษาเภสัชจลนศาสตร์ของโวริโนสแต็ทในสุนัขหนึ่งฉบับ (Sandhu et al., 2007) ซึ่งระบุว่าโวริโนสแต็ทมีค่า clearance ที่สูงคือ 7.8 ลิตร/กก./ชม. และมีค่าครึ่งชีวิตค่อนข้างสั้นคือ 12 นาที นอกจากนี้ยังพบว่าหลังให้ยาทางการกิน โวริโนสแต็ทถูกดูดซึมเข้าสู่ร่างกายได้ไม่ดี มีค่าชีวปริมาณออกฤทธิ์เท่ากับ 11% ยาถูกเมแทบอไลซ์อย่างกว้างขวาง โดยมากกว่า 80% ของยาที่ให้ไปจะถูกเปลี่ยนรูปที่ตับ ทำให้อยู่ในรูปที่ไม่สามารถออกฤทธิ์ได้ สำหรับยาต้านฮิสโตนดีอะเซทิลเลสชนิดอื่น ๆ ที่มีการศึกษาคือ โซเดียมวัลโปรเอต (sodium valproate, VPA) มีชื่อการค้าว่า Depakote® เป็นยาที่ได้รับการรับรองจาก US FDA สำหรับใช้เป็นยาต้านชัก ยานี้มีราคาไม่แพงเมื่อเทียบกับโวริโนสแต็ท และมีให้เลือกทั้งรูปแบบสำหรับให้ทางปากและยาสำหรับฉีด อย่างไรก็ตาม จากการศึกษาทางเภสัชจลนศาสตร์เบื้องต้นในสุนัข พบว่า VPA มีค่าครึ่งชีวิตที่สั้นมาก จึงไม่นิยมนำยานี้มาใช้เป็นยาต้านชักในสุนัข และแม้ว่าในปัจจุบันนี้มีการผลิตยา VPA ในรูปแบบ sustained-release oral formulations ออกมาจำหน่ายแล้ว แต่ยังคงไม่มีข้อมูลทางเภสัชจลนศาสตร์ในสัตว์ มีการทดลองทางคลินิกในมนุษย์ เพื่อศึกษาผลของการให้ยา VPA ทั้งในรูปแบบให้เพียงชนิดเดียวและรูปแบบที่ให้ร่วมกับยาอื่น ๆ ได้แก่ เรตินอยด์ (retinoids) ซึ่งเป็นยากลุ่มดีเมทิลเลติงเอเจนท์ (demethylating agents) หรือยาที่เป็นพิษต่อเซลล์ (cytotoxic agents) ผลการทดลองพบว่า VPA ที่ความเข้มข้นซึ่งใช้ในการทดลองสามารถถูกดูดซึมเข้าสู่ในร่างกายและส่งผลต่อ HDAC activity ได้ อย่างไรก็ตาม ยังไม่มีข้อมูลที่ศึกษาในสุนัข จึงยังคงต้องรอการพิสูจน์ว่าในสุนัขจะเห็นผลเช่นเดียวกันหรือไม่

นอกจากฤทธิ์ต้านมะเร็งแล้ว ฤทธิ์ต้านการอักเสบของยาต้านฮิสโตนดีอะเซทิลเลสก็กำลังเป็นที่สนใจในทางสัตวแพทย์อย่างมากเช่นกัน ในปัจจุบัน มีการศึกษาความเป็นไปได้ของการนำยาต้านฮิสโตนดีอะเซทิลเลสมาใช้เป็นยาทางเลือกเพื่อใช้แทนยามาตรฐานอื่น ๆ สำหรับรักษาโรคข้ออักเสบและโรคข้อต่อเสื่อมชนิดต่าง ๆ ในสุนัขและม้า ในรายที่ใช้ยามาตรฐานแล้วไม่ได้ผลหรือเกิดภาวะดื้อต่อยาขึ้น (Murahari et al., 2017; Zhang et al., 2020)

กล่าวโดยสรุปแล้ว ความคืบหน้าในการนำยาต้านฮิสโตนดีอะเซทิลเลสมาใช้ทางการสัตวแพทย์ ยังคงต้องรอข้อมูลที่ชัดเจนยิ่งขึ้นกว่านี้ โดยเฉพาะอย่างยิ่งความรู้และความเข้าใจเกี่ยวกับบทบาทของฮิสโตนดีอะเซทิลเลสที่มีต่อพยาธิกำเนิดของโรคต่าง ๆ ในสัตว์ และความสัมพันธ์ระหว่างฮิสโตนดีอะเซทิลเล

สกับยีนในทางอีพีเจเนติกส์ (epigenetics) ซึ่งเป็นองค์ความรู้ทางพันธุศาสตร์ด้านกระบวนการเหนือพันธุกรรม เกี่ยวกับการเปลี่ยนแปลงของการแสดงออกของยีนที่เกิดจากกระบวนการอื่นนอกเหนือจากการเปลี่ยนแปลงลำดับดีเอ็นเอ (เช่น การถอนหมู่อะเซทิลออกจากฮิสโตน) ที่สามารถส่งผลยับยั้งการแสดงออกของยีนได้โดยไม่มีการเปลี่ยนแปลงของลำดับดีเอ็นเอในยีนนั้น ๆ ความรู้ความเข้าใจในเรื่องดังกล่าวเหล่านี้จึงเป็นเรื่องสำคัญอย่างยิ่งที่ควรจะสนับสนุนให้มีการศึกษาเพิ่มเติมมากขึ้น

III. ยาต้านโปรตีเอโซม (proteasome inhibitors)

ยูบิควิติเนชัน (ubiquitination) หรือเรียกอีกชื่อหนึ่งว่า ยูบิควิติเลชัน (ubiquitylation) เป็นรูปแบบหนึ่งของ post-translational modification ที่นำยูบิควิติน (ubiquitins) ซึ่งเป็นโปรตีนขนาดเล็กไปเชื่อมติดบนโปรตีนเป้าหมาย ยูบิควิติเนชันประกอบด้วยสามขั้นตอนที่อาศัยเอนไซม์หลักสามชนิดคือ ยูบิควิติน-แอคติเวทติงเอนไซม์ (ubiquitin-activating enzyme; E1), ยูบิควิติน-คอนจูเกทติงเอนไซม์ (ubiquitin-conjugating enzyme; E2) และยูบิควิติน-โปรตีนไลเกส (ubiquitin-protein ligase; E3) การนำยูบิควิตินหนึ่งโมเลกุลไปเชื่อมติดบนโปรตีนเป้าหมายเรียกว่าโมโน-ยูบิควิติเนชัน (mono-ubiquitination) ส่วนโพลี-ยูบิควิติเนชัน (poly-ubiquitination) หมายถึงการนำยูบิควิตินจำนวนมากกว่าหนึ่งยูบิควิตินมาเชื่อมติดบนโปรตีนเป้าหมาย ทำให้เกิดห่วงโซ่ของยูบิควิติน (ubiquitin chains) ที่มีลักษณะเป็นสายยาว ซึ่งจะส่งผลกระตุ้นโปรตีเอโซม (proteasomes) เข้ามาตัดย่อยโปรตีนเป้าหมายด้วยปฏิกิริยาโปรตีโอไลซิส (proteolysis) (Swatek, 2016; Guo and Tadi, 2022)

โปรตีเอโซมเป็นโมเลกุลที่อยู่ในรูปสารประกอบเชิงซ้อนขนาดใหญ่ (> 2.5 เมกะดาลตัน) มีคุณสมบัติเป็นเอนไซม์โปรตีเอสที่ทำลายพันธะเปปไทด์ ทำหน้าที่ตัดย่อยโปรตีนที่ไม่จำเป็นและโปรตีนที่เสียหายซึ่งมียูบิควิตินติดฉลากอยู่ โปรตีเอโซมเป็น multi-catalytic proteins ที่มีหลายรูปแบบและมีความแตกต่างกันอย่างหลากหลาย โดยเฉพาะอย่างยิ่งความแตกต่างของหน่วยย่อย เช่น หน่วยย่อยที่ทำหน้าที่เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา (catalytically active subunits) หน่วยย่อยที่ทำหน้าที่ควบคุม (regulatory subunits) และโปรตีนอื่น ๆ ที่เกี่ยวข้อง (Nunes & Annunziata, 2017) เรียกการทำงานของยูบิควิตินและโปรตีเอโซมเหล่านี้ว่าระบบยูบิควิติน-โปรตีเอโซม (Ubiquitin-Proteasome System; UPS) ซึ่งเป็นระบบในทางสรีรวิทยาที่จำเป็นสำหรับยูคาริโอติกเซลล์และเป็นโมเลกุลที่ได้รับการอนุรักษ์อย่างสูงมาอย่างยาวนานรวมถึงในมนุษย์และในสัตว์สปีชีส์ต่าง ๆ รวมทั้ง สุนัข (Gerke, 2018; Guo and Tadi, 2022)

ระบบ UPS ส่งผลกระทบต่อโปรตีนเป้าหมายหลายประการ นอกจากเป็นการติดฉลากหรือทำเครื่องหมายให้โปรตีนเป้าหมายดังกล่าวถูกทำลายแล้ว ยังทำให้โปรตีนเป้าหมายเกิดการเปลี่ยนแปลงตำแหน่งที่อยู่ภายในเซลล์, ส่งผลต่อกิจกรรมการทำงานของโปรตีนเป้าหมาย และส่งผลส่งเสริมหรือป้องกันการเกิดปฏิกิริยาระหว่างโปรตีนเป้าหมายกับโปรตีนหรือโมเลกุลอื่น ๆ กล่าวโดยสรุปได้ว่าการควบคุมพลวัตของโปรตีโอม (proteome) ภายในเซลล์ให้มีความสมดุลและทำงานได้อย่างมีประสิทธิภาพจะประสบความสำเร็จได้ต้องอาศัยระบบ UPS ดังนั้น ระบบ UPS จึงเป็นรากฐานของกระบวนการระดับเซลล์ที่สำคัญจำนวนมากมาย เช่น การแบ่งตัวเพิ่มจำนวนเซลล์, การเจริญเติบโตและการอยู่รอดของเซลล์, การตายแบบอะพอพโทซิส และกระบวนการซ่อมแซมดีเอ็นเอและการควบคุมการทำงานของเอนไซม์ใน DDR (Wertz and Wang, 2019) มีรายงานผลงานวิจัยจำนวนมากที่แสดงให้เห็นถึงความสำคัญของระบบ UPS ต่อ DDR ซึ่งช่วยปกป้องเสถียรภาพของจีโนมและสมดุลของเซลล์ หากระบบ UPS มีความผิดปกติเกิดขึ้น มักจะส่งผลกระทบต่อ DDR ทำให้เกิดการสะสมของการกลายพันธุ์และปัญหาจากภาวะไร้เสถียรภาพของจีโนมที่นำไปสู่การเกิดโรคมะเร็งขึ้นได้ (Popovic et al., 2014)

ความเชื่อมโยงระหว่างโปรตีเอโซมกับการตอบสนองต่อความเสียหายของดีเอ็นเอ

โปรตีเอโซมมีความสำคัญอย่างยิ่งต่อกระบวนการตอบสนองต่อความเสียหายของดีเอ็นเอ มีการศึกษาพบโปรตีเอโซมอยู่ในบริเวณที่ดีเอ็นเอเกิดความเสียหาย (Galanty et al., 2012) และมีรายงานที่แสดงให้เห็นว่าโปรตีเอโซมมีบทบาทที่สำคัญสำหรับการซ่อมแซมดีเอ็นเอที่เสียหายในรูปแบบ DSBs โดยควบคุม protein turnover และระดับของโปรตีนในกลุ่ม DNA damage checkpoint proteins เช่น CDC25A รวมทั้งโปรตีนที่ทำหน้าที่ซ่อมแซมดีเอ็นเอ (DNA repair proteins) เช่น MDC1, BRCA1 และ RPA (Brown and Jackson, 2015) ในปัจจุบัน มีผลการศึกษาจำนวนมากทั้งในเซลล์มะเร็งชนิดต่าง ๆ ของมนุษย์และสัตว์ทดลอง ซึ่งแสดงให้เห็นว่า ubiquitin-proteasome pathway มีความสัมพันธ์กับกระบวนการก่อมะเร็ง ตัวอย่างเช่น เซลล์มะเร็งแทบทุกชนิดมักจะมีการทำงานของ 26S โปรตีเอโซม (26S proteasome) ที่ผิดปกติ; มนุษย์และสัตว์ที่เป็นโรคมะเร็งมักจะมีระดับความเข้มข้นของโปรตีเอโซมในเลือดสูงกว่าค่าปกติ (Kumatori et al., 1990; Shah et al., 2001; Gallo et al., 2017; Sun et al.,2020)

นอกจากนี้ ยังมีการศึกษาพบว่าโปรตีเอโซมมีบทบาทเกี่ยวข้องในกระบวนการที่จำเป็นสำหรับการสังเคราะห์และการ

ย่อยสลายไซคลิน (cyclin) และไซคลินดีเพนเดนท์ไคเนส อินฮิบิเตอร์ (CDK inhibitors หรือ CKI) เพื่อกระตุ้นให้เกิดการเคลื่อนไปของวงจรเซลล์, mTOR ทำให้ส่งผลเหนี่ยวนำการเกิดเซลล์มะเร็ง, p53 ในการป้องกันการส่งสัญญาณให้เกิดการตายของเซลล์แบบอะพอพโทซิส, c-Myc ในการควบคุม metabolic re-programing เพื่อการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งและการกำจัดโปรตีนที่เสียหายภายในเซลล์เพื่อทำให้เซลล์มะเร็งมีความได้เปรียบในการอยู่รอด (Arlt et al., 2009; Sun et al.,2020) ดังนั้นโมเลกุลที่เป็นองค์ประกอบสำคัญของระบบ UPS เช่น โปรตีเอโซมชนิดต่าง ๆ จึงอาจมีประโยชน์ในการใช้เป็นเครื่องหมายสำหรับพยากรณ์โรค (prognostic markers) และเป็นเป้าหมายของการรักษาแบบมุ่งเป้าที่มีประสิทธิภาพ สำหรับในทางสัตวแพทยศาสตร์นั้น ยังมีการศึกษาทางด้านนี้ค่อนข้างน้อย แต่ผลของการศึกษาแสดงให้เห็นอย่างสอดคล้องกันว่าโปรตีเอโซมมีความสัมพันธ์กับกระบวนการก่อมะเร็ง โดยมีรายงานผลการวิจัยในสุนัขเกี่ยวกับความสัมพันธ์ระหว่างระดับความเข้มข้นของ 26S proteasome (26SP) กับโรคมะเร็ง ซึ่งพบว่าสุนัขที่เป็นโรคมะเร็งโดยเฉพาะอย่างยิ่ง สุนัขที่เป็นโรคมะเร็งเต้านม มีระดับความเข้มข้นของ 26SP ในเลือดสูงกว่ากลุ่มควบคุม (สุนัขปกติ) อย่างไรก็ตาม ระดับความเข้มข้นของ 26SP ไม่มีความสัมพันธ์กับระยะเวลาการรอดชีวิตหรือค่า body condition score (Gerke, 2018)

โปรตีเอโซมจัดเป็นเป้าหมายที่น่าสนใจในการพัฒนายามุ่งเป้าเพื่อการรักษามะเร็ง มีการศึกษาพบว่าสารที่มีฤทธิ์ยับยั้งโปรตีเอโซมสามารถเหนี่ยวนำให้เกิดการตายแบบอะพอพโทซิสได้ในเซลล์มะเร็งหลากหลายชนิด และเซลล์มะเร็งมีความไวต่อยาต้านโปรตีเอโซมมากกว่าเซลล์ปกติ (Delic et al., 1998; LeBlanc et al., 2002) รวมทั้งมีรายงานการวิจัยที่แสดงให้เห็นว่า ยาต้านโปรตีเอโซมส่งผลทำให้เกิดความเป็นพิษที่ค่อนข้างจำเพาะต่อเซลล์มะเร็ง โดยทำให้เซลล์ที่กำลังแบ่งตัวเพิ่มจำนวนอย่างรวดเร็วตายไปได้มากกว่าเซลล์ที่ไม่ได้กำลังแบ่งตัวเพิ่มจำนวน (Drexler, 1997; Fricker, 2020)

การวิจัยและพัฒนายาต้านโปรตีเอโซม

ยาต้านโปรตีเอโซมหมายถึงสารที่มีฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของโปรตีเอโซม ในปัจจุบัน ยาต้านโปรตีเอโซมจัดเป็นยาที่มีบทบาทสำคัญในการรักษาโรคมะเร็งทางโลหิตวิทยาในมนุษย์หลายชนิด เช่น โรคมะเร็งมัลติเพิล มัยอีโลมา (multiple myeloma) ที่เกิดจากความผิดปกติของพลาสมาเซลล์ซึ่งเป็นเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดบีลิมโฟซัยท์ที่ทำหน้าที่ผลิตแอนติบอดี โรคมะเร็งต่อมน้ำเหลืองหลายชนิด และเป็นยาที่กำลังอยู่ในขั้นตอนของการทดลองทางคลินิกเพื่อพัฒนาเป็นยาสำหรับรักษาโรคอื่น ๆ อีกหลายโรค (Engelhardt et al., 2022) กลไกการออกฤทธิ์หลักของยาต้านโปรตีเอโซมคือการยับยั้งโปรตีเอโซม ซึ่งเป็นโมเลกุลที่สำคัญสำหรับการซ่อมแซมดีเอ็นเอที่เสียหายในรูปแบบ DSBs นอกจากนี้ยังมีการศึกษาพบฤทธิ์ยับยั้งวิถีการส่งสัญญาณในระยะท้าย (downstream events) ที่นำไปสู่การตายของเซลล์ซึ่งในส่วนนี้ยังไม่มีผลการศึกษาในรายละเอียดที่ชัดเจน อย่างไรก็ตาม มีรายงานการวิจัยพบว่ายาต้านโปรตีเอโซมส่งผลต่อการหมุนเวียนของโปรตีนบางชนิด แต่ที่ระดับความเข้มข้นที่สูงกว่าความเข้มข้นที่ใช้ได้ผลดีในทางคลินิก ซึ่งผลการทดลองดังกล่าวสนับสนุนความเป็นไปได้ที่ว่ายาต้านโปรตีเอโซมอาจส่งผลกระทบต่อเซลล์โดยผ่านกลไกการออกฤทธิ์อื่น ๆ นอกเหนือจากฤทธิ์ยับยั้งโปรตีเอโซม (Manasanch & Orlowski, 2017)

ยาต้านโปรตีเอโซมชนิดแรกที่มีการพัฒนาขึ้นเป็นสารประเภทเปปไทด์อัลดีไฮด์ (peptide aldehydes) อย่างไรก็ตาม ยาต้านโปรตีเอโซมเหล่านี้มีคุณสมบัติที่ไม่ค่อยจำเพาะเจาะจงมากนัก และสามารถส่งผลยับยั้งเอนไซม์โปรตีเอสภายในเซลล์ที่ไม่ใช่โปรตีเอโซมด้วย ในเวลาต่อมา มีการพัฒนายาต้านโปรตีเอโซมประเภทเปปไทด์โบโรเนต (peptide boronates) เช่น บอร์เทโซมิบ (bortezomib) ขึ้น และพบว่ายาประเภทเปปไทด์โบโรเนตมีประสิทธิภาพมากขึ้น ซึ่งเป็นผลมาจากการที่สารเหล่านี้มีอัตราการแยกตัว (dissociation rates) ที่ช้าลง มีความจำเพาะสูงขึ้น และมีเสถียรภาพมากขึ้น (Fricker, 2020) ยาต้านโปรตีเอโซมประเภทเปปไทด์โบโรเนตเหล่านี้ส่วนใหญ่ ส่งผลต่อ ß5 subunit และดังนั้นจึงส่งผลต่อการทำงานของ 26S โปรตีเอโซมที่คล้ายคลึงกับไคโมทริปซิน (chymotrypsin) เนื่องจากไม่ค่อยมีประสิทธิภาพในการยับยั้งที่ ß1 และ ß2 subunits (Neilsen et al., 2013)

ในปัจจุบัน ยาต้านโปรตีเอโซมที่ได้รับการอนุมัติจากองค์การอาหารและยาแห่งประเทศสหรัฐอเมริกา สำหรับใช้ในการรักษาโรคมะเร็งในมนุษย์มีสามชนิดคือ (1) บอร์เทโซมิบ (bortezomib หรือ Velcade®) ซึ่งเป็นยาต้านโปรตีเอโซมตัวแรกที่ได้รับการอนุมัติ (2) ไอซาโซมิบ (ixazomib หรือ Ninlaro®) และ (3) คาร์ฟิโซมิบ (carfilzomib หรือ Kyprolis®) ได้รับการอนุมัติเมื่อเร็ว ๆ นี้ นอกจากนี้ ยังมียาต้านโปรตีเอโซมอื่น ๆ อีกหลายชนิดกำลังอยู่ในระหว่างขั้นตอนการวิจัยและพัฒนา (Manasanch & Orlowski, 2017) จากรายงานที่พบการทำงานอย่างผิดปกติของโปรตีเอโซมในเซลล์มะเร็งจำนวนมาก จึงมีความสนใจในการทดสอบฤทธิ์ต้านมะเร็งของยาต้านโปรตีเอโซมในมนุษย์ขึ้น พบว่ายาต้านโปรตีเอโซมให้ผลดีในการรักษาโรคมะเร็งทางโลหิตวิทยาหลายชนิด รวมทั้งโรคมะเร็งต่อมน้ำเหลือง โดยมีการทดลองใช้ยาต้านโปรตีเอโซมร่วมกับยาเคมีบำบัดชนิดอื่นๆ ในโปรโตคอล CHOP ซึ่งประกอบด้วยไซโคลฟอสฟาไมด์ (cyclophospha-

mide), ด็อกโซรูบิซิน (doxorubicin), วินคริสทีน (vincristine) และเพร็ดนิโซโลน (prednisone) เช่น การศึกษาผลของบอร์เทโซมิบในผู้ป่วยโรคมะเร็งต่อมน้ำเหลืองชนิด diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL) พบว่า บอร์เทโซมิบช่วยปรับปรุงอัตราการอยู่รอด เมื่อให้ยาร่วมกับ CHOP regimen (Fricker, 2020)

สำหรับการศึกษาเกี่ยวกับยาต้านโปรตีเอโซมในทางสัตวแพทย์ ในปัจจุบัน ข้อมูลเกี่ยวกับประสิทธิภาพของยาต้านโปรตีเอโซมในการรักษาโรคมะเร็งยังมีค่อนข้างจำกัด โดยในปีพ.ศ. 2564 มีรายงานการศึกษาในสุนัขซึ่งรายงานเกี่ยวกับผลของยาต้านโปรตีเอโซมที่มีต่อเซลล์เพาะเลี้ยงของสุนัขที่ป่วยเป็นโรคมะเร็งต่อมน้ำเหลือง [(canine B-cell lymphoma cell line (CLBL-1) cells] (Prevedel, 2021) โดยคณะผู้วิจัยได้ทำการทดสอบผลของยาต้านโปรตีเอโซมสองชนิดคือบอร์เทโซมิบและไอซาโซมิบ ที่มีต่อการมีชีวิตอยู่ของเซลล์และตรวจสอบว่ายาต้านโปรตีเอโซมส่งผลช่วยทำให้เซลล์มะเร็งมีความไวต่อการรักษาด้วยยาในโปรโตคอล CHOP มากขึ้นหรือไม่ ด้วยสมมติฐานที่ว่ายาต้านโปรตีเอโซมจะลดจำนวนเซลล์ที่มีชีวิตอยู่รอด (CLBL-1 viability) และจะให้ผลเสริมฤทธิ์กันกับยาในโปรโตคอล CHOP ผลการศึกษาพบว่าเซลล์มะเร็ง CLBL-1 มีความไวต่อยาต้านโปรตีเอโซม โดยค่า IC50 ของบอร์เทโซมิบเท่ากับ 15.1 นาโนโมลาร์ และของไอซาโซมิบ (ixazomib) เท่ากับ 59.14 นาโนโมลาร์ การใช้ยาต้านโปรตีเอโซมร่วมกับด็อกโซรูบิซิน ให้ผลเสริมฤทธิ์กันต่อการมีชีวิตของ CLBL-1 cells ในส่วนของการใช้ยาต้านโปรตีเอโซมร่วมกับวินคริสทีน ผลที่ได้แตกต่างกันออกไป ขึ้นอยู่กับอัตราส่วนของยาที่ให้ร่วมกัน (combination ratio) และยาต้านโปรตีเอโซมให้ผลต้านกัน (antagonistic effects) เมื่อให้ร่วมกับไซโคลฟอสฟาไมด์ ผลการทดลองเหล่านี้แสดงให้เห็นถึงความเป็นไปได้ของการนำยาประเภทยาต้านโปรตีเอโซมมาใช้ในทางคลินิกทางสัตวแพทย์ เนื่องจากการให้ผลเสริมฤทธิ์ต่อกันระหว่างยายับยั้งโปรตีเอสโซมกับยาในโปรโตคอล CHOP ซึ่งอาจช่วยในการปรับปรุงผลตอบสนองต่อยาเคมีบำบัด โดยเฉพาะอย่างยิ่ง ในสุนัขที่ป่วยด้วยโรคมะเร็งต่อมน้ำเหลือง เช่น โรคมะเร็ง DLBCL จัดเป็นโรคมะเร็งต่อมน้ำเหลืองที่มีความชุกสูงในสุนัขและอัตราการรอดชีวิตโดยรวมที่ค่อนข้างต่ำ หลังจากการรักษาด้วยโปรโตคอล CHOP นอกจากนี้ ลักษณะทางพยาธิสรีรวิทยาระดับโมเลกุลของโรคมะเร็งทางโลหิตวิทยาในสุนัขความคล้ายคลึงกันกับของมนุษย์ค่อนข้างมาก ทำให้มีความเป็นไปได้ค่อนข้างมากในการนำยาต้านโปรตีเอโซมมาใช้ในการรักษาโรคมะเร็งทางโลหิตวิทยาในทางสัตวแพทย์เช่นกัน

ในสุนัข นอกจากการศึกษาในเซลล์ไลน์ของสุนัขที่เป็นโรคมะเร็งต่อมน้ำเหลืองแล้ว ยังมีการศึกษาผลของยาต้านโปรตีเอโซม (บอร์เทโซมิบ) ที่มีต่อการเจริญเติบโตของเซลล์ไลน์จากมะเร็งผิวหนังเมลาโนมาของสุนัข (canine malignant melanomas) โดยการทดลองทั้งแบบในกายและแบบนอกกาย (Ito et al., 2013) โดยผลจากการทดลองแบบนอกกาย ในเซลล์ไลน์พบว่าบอร์เทโซมิบสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์เพาะเลี้ยงจากมะเร็งผิวหนังเมลาโนมาของสุนัขทั้ง 3 ชนิด ได้อย่างมีประสิทธิภาพโดยมีค่าความเข้มข้น IC50 ที่ 3.5–5.6 นาโนโมลาร์ นอกจากนี้ เนื่องจากกลไกการออกฤทธิ์ต้านมะเร็งที่สำคัญของบอร์เทโซมิบกลไกหนึ่งเกี่ยวข้องกับฤทธิ์ยับยั้งวิถีการส่งสัญญาณของ NF-ΚB pathway โดยการป้องกันการเสื่อมสภาพของโปรตีเอโซมของ IΚB คณะผู้วิจัยจึงได้ทำการศึกษาผลของบอร์เทโซมิบที่มีต่อ NF-ΚB pathway ในเซลล์ไลน์ของสุนัขที่เป็นโรคมะเร็งต่อมน้ำเหลืองด้วย ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าบอร์เทโซมิบสามารถยับยั้งวิถีการส่งสัญญาณของ NF-ΚB pathway ใน CMM-1 ซึ่งเป็นเซลล์ไลน์จากมะเร็งเมลาโนมาของสุนัขได้ สำหรับการทดลองแบบในกายนั้น มีการศึกษาผลของบอร์เทโซมิบในหนูเมาส์ โดยใช้ CMM-1 xenograft mouse model และพบว่าบอร์เทโซมิบสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยกลไกการออกฤทธิ์หลักคือยับยั้งการแบ่งตัวเพิ่มจำนวนของเซลล์มะเร็ง กล่าวโดยสรุปแล้ว ผลจากการศึกษาเหล่านี้แสดงให้เห็นว่า บอร์เทโซมิบมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งที่เป็นของสุนัขที่เป็นโรคมะเร็งต่อมน้ำเหลืองได้อย่างมีประสิทธิภาพ โดยอาศัยกลไกการออกฤทธิ์ที่เกี่ยวข้องกับวิถีการส่งสัญญาณ NF-Κ B ซึ่งโดยธรรมชาติมีลักษณะการทำงานอยู่ตลอดเวลาอยู่แล้ว โดยไม่ต้องอาศัยการกระตุ้นใด ๆ ดังนั้นจึงมีความเป็นไปได้ที่การรักษาโรคมะเร็งแบบมุ่งเป้าโดยใช้บอร์เทโซมิบอาจเป็นประโยชน์ในการรักษาโรคมะเร็งผิวหนังชนิดเมลาโนมาในสุนัข ซึ่งเป็นโรคที่มีความก้าวร้าวและร้ายแรงสามารถทำให้สัตว์เสียชีวิตได้ในอัตราที่สูง โดยในปัจจุบันยังคงอยู่ในระหว่างการรอให้มีข้อมูลจากการศึกษาเกี่ยวกับประสิทธิภาพและความปลอดภัยของยาในทางสัตวแพทย์ให้มากกว่านี้

สำหรับการศึกษาในแมวนั้น ในปี พ.ศ. 2565 มีการศึกษาแบบนอกกายเกี่ยวกับผลของยาบอร์เทโซมิบที่มีต่อการอยู่รอดของเซลล์ ระดับการทำงานของโปรตีเอโซม และการตายของเซลล์แบบอะพอพโทซิส โดยใช้เซลล์ไลน์ของแมวซึ่งได้จากมะเร็งซาร์โคมาที่ตำแหน่งฉีดยา [feline injection site sarcoma (FISS) cell lines] 3 ชนิด (Laver et al., 2022) ผลการทดลองพบว่าเซลล์เพาะเลี้ยงของแมวทั้ง 3 ชนิดมีความไวต่อบอร์เทโซมิบ โดยมีค่า IC50 เท่ากับ 17.46, 19.48 และ 21.38 นาโนโมลาร์ ตามลำดับ สำหรับผลที่มีต่อการทำงานของโปรตีเอโซมนั้น พบว่าบอร์เทโซมิ

บที่ความเข้มข้น 20 นาโนโมลาร์ มีฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของ 20S โปรตีเอโซมได้ดีเช่นกัน (90.9% และ 70% เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม) ในการทดลองสุดท้าย พบว่าบอร์เทโซมิบที่ความเข้มข้น 25 และ 40 นาโนโมลาร์ ส่งผลให้ค่าของระดับการอยู่รอดของ FISS cell lines ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ พร้อมกับทำให้จำนวนเซลล์ตายแบบอะพอพโทซิสเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ผลการทดลองเหล่านี้สนับสนุนความเป็นไปได้ของการนำยาต้านโปรตีเอโซม เช่น บอร์เทโซมิบ มาใช้เพื่อรักษา FISS ในแมว ซึ่งเป็นโรคมะเร็งที่ตัวเลือกการรักษาค่อนข้างมีจำกัดอย่างมาก โดยเฉพาะอย่างยิ่งใน FISS ที่ไม่สามารถทำการผ่าตัดได้ อย่างไรก็ตาม การนำยาต้านโปรตีเอโซมมาใช้ในทางสัตวแพทย์จำเป็นต้องมีข้อมูลสนับสนุนเพิ่มเติมมากกว่านี้ เช่น การศึกษาประสิทธิภาพของยาทั้งในรูปแบบของการให้ยาเพียงชนิดเดียวหรือในรูปแบบของการให้ยาร่วมกับการรักษาอื่น ๆ และการศึกษาผลไม่พึงประสงค์ของยาในสัตว์สปีชีส์ที่ประสงค์จะใช้ยาเพื่อความปลอดภัยก่อนนำยามาใช้จริงในทางคลินิก

สรุป

DDR เป็นการตอบสนองต่อความเสียหายของดีเอ็นเอ เนื่องจากปัจจัยต่าง ๆ โดยอาศัยกระบวนการซ่อมแซมความเสียหายที่เกิดขึ้นกับสารพันธุกรรมในจีโนม DDR ประกอบด้วยโมเลกุลหลายชนิดที่มีบทบาทหน้าที่สำคัญในการรับรู้ ส่งต่อถ่ายทอดสัญญาณและร่วมกันทำการแก้ไขความเสียหายของดีเอ็นเอได้อย่างแม่นยำและรวดเร็ว ผลจากการศึกษาจำนวนมากได้แสดงให้เห็นอย่างชัดเจนว่าความผิดปกติในการทำงานของ DDR มีความสัมพันธ์กับการเกิดโรคมะเร็ง DDR จึงมีความสำคัญและเกิดเป็นแนวทางการรักษาโรคมะเร็งโดยอาศัยยาต้านมะเร็งแบบมุ่งเป้าระดับโมเลกุลที่มีฤทธิ์ยับยั้งกระบวนการทำงานของ DDR เพื่อให้เกิดผลต้านโรคมะเร็ง ในปัจจุบัน การศึกษาเกี่ยวกับความสัมพันธ์ระหว่างความผิดปกติของวิถีการส่งสัญญาณ DDR กับพยาธิกำเนิดและพัฒนาการของโรคมะเร็ง รวมทั้งคุณสมบัติทางชีวเคมีและทางพันธุศาสตร์อื่น ๆ ในโมเดลที่ใช้สุนัขเป็นสัตว์ทดลองกำลังได้รับความสนใจอย่างกว้างขวาง เนื่องจากพบว่าข้อมูลที่ได้จากการศึกษาในสุนัขมีความคล้ายคลึงกันอย่างมากกับข้อมูลในมนุษย์ อย่างไรก็ตาม สำหรับในทางสัตวแพทย์ งานวิจัยและพัฒนายาต้านมะเร็งแบบมุ่งเป้าระดับโมเลกุลที่เกี่ยวข้องกับ DDR เพื่อการรักษาโรคมะเร็งในทางสัตวแพทย์ยังอยู่ในช่วงเริ่มต้นเท่านั้น โดยส่วนใหญ่ ข้อมูลที่มีอยู่เป็นข้อมูลจากการศึกษาฤทธิ์ของยาที่ทำการทดลองในเซลล์ไลน์หรือสัตว์ทดลองประเภทหนู ข้อมูลเกี่ยวกับคุณสมบัติทางเภสัชจลนศาสตร์ ประสิทธิภาพ ผลไม่พึงประสงค์และความปลอดภัยของยาเหล่านี้ยังคงมีอยู่จำกัด นอกจากนี้ เพื่อสนับสนุนการนำยาไปใช้จริงในทางคลินิกในสัตว์เลี้ยง เช่น สุนัขและแมว หากในอนาคตมีข้อมูลซึ่งเป็นหลักฐานเชิงประจักษ์ที่น่าเชื่อถือจากงานวิจัยในรูปแบบสุ่มที่มีการควบคุม (randomized clinical control trials) เพิ่มเติม จะเป็นประโยชน์อย่างยิ่งในการช่วยสนับสนุนการใช้ยาต้านมะเร็งแบบมุ่งเป้าในทางสัตวแพทย์และเพิ่มทางเลือกในการรักษาโรคมะเร็งในสัตว์ซึ่งยังมีอยู่ค่อนข้างจำกัด นอกจากนี้อุปสรรคที่สำคัญของการใช้ยาต้านมะเร็งแบบมุ่งเป้าในทางสัตวแพทย์อีกประการหนึ่งคือปัญหาด้านค่าใช้จ่าย เนื่องจากยาประเภทมุ่งเป้าเหล่านี้มีราคาค่อนข้างสูง

เอกสารอ้างอิง

Alhmoud FJ, Woolley JF, Moustafa AA, Malki MI, 2020. DNA damage/repair management in cancers. Cancers 12(4), 1050-1069.

Anuar MNN, Hisam NNS, Liew SL & Ugusman A, 2020. Clinical review: navitoclax as a pro-apoptotic and anti-fibrotic agent. Front Pharmacol 11 Article 564108, 1-16.

Arlt A, Bauer I, Schafmayer C, Tepel J, Sebens Müerköster S, Brosch M, Röder C, Kalthoff H, Hampe J, Moyer MP, Fölsch UR, Schäfer H, 2009. Increased proteasome subunit protein expression and proteasome activity colon cancer relate to an enhanced activation of nuclear factor E2-related factor 2 (Nrf2). Oncogene 28(45), 3983–3996.

Basu AK, 2018. DNA damage, mutagenesis and cancer. Int J Mol Sci 19, 970-983.

Bhaskara S, 2015. Histone deacetylases 1 and 2 regulate DNA replication and DNA repair: potential targets for genome stability-mechanism-based therapeutics for a subset of cancers. Cell Cycle 14(12), 1779-1785.

Bose P, Dai Y, Grant S, 2014. Histone deacetylase inhibitor (HDACI) mechanisms of action: Emerging insights. Pharmacol Ther 143(3), 323-336.

Brown JS, Jackson SP, 2015. Ubiquitylation, neddylation and the DNA damage response. Open Biol 5, 150018.

Butera A, Melino G, Amelio I, 2021. Epigenetic Drivers of Cancer. JMB 433(15), 167094.

Chabanon RM, Rouanne M, Lord CJ, Soria JC, Pasero P, Postel-Vinay S, 2021. Targeting the DNA damage response in immunooncology: developments and opportunities. Nat Rev Cancer 21, 701–717.

Chatterjee N, Walker GC, 2017. Mechanisms of DNA damage, repair, and mutagenesis. Environ Mol Mutagen 58, 235–263.

Cheng B, Pan W, Xing Y, Xiao Y, Chen J, Xu Z, 2022. Recent ad-

vances in DDR (DNA damage response) inhibitors for cancer therapy. Eur J Med Chem 230, 114109.

Cho SH, Seung BJ, Kim SH, Lim HY, Sur JH, 2020. Overexpression and mutation of p53 exons 4–8 in canine intestinal adenocarcinoma. J Comp Pathol 175, 79-84.

Cohen LA, Powers B, Amin S, Desai D, 2004. Treatment of canine hemangiosarcoma with suberoylanilide hydroxamic acid, a histone deacetylase inhibitor. Vet Comp Oncol 2(4), 243-248.

Compton C, 2020. Chapter 2 Cancer initiation, promotion, and progression and the acquisition of key behavioral traits. In: Compton C (Eds.) Cancer: The Enemy from Within. London.

Delic J, Masdehors P, Omura S, Cosset JM, Dumont J, Binet JL, Magdelenat H, 1998. The proteasome inhibitor lactacystin induces apoptosis and sensitizes chemo- and radioresistant human chronic lymphocytic leukaemia lymphocytes to TNF-αinitiated apoptosis. Br J Cancer 77, 1103–1107.

Demeyer A, Benhelli-Mokrani H, Chénais B, Weigela P, Fleury F, 2021. Inhibiting homologous recombination by targeting RAD51 protein. Biochim Biophys Acta Rev Cancer 1876(2), 188597.

Doyle J, 2010. A review of Histone Deacetylase inhibitors and their application in veterinary medicine. Hung Vet Arch 235, B-9349.

Drexler HC, 1997. Activation of the cell death program by inhibition of proteasome function. Proc Natl Acad Sci USA 94, 855–860.

Engelhardt M, Waldschmidt JM, Wäsch R, 2022. Proteasome inhibition: the dawn of novel therapies in multiple myeloma. Haematologica 107(5), 1018-1019.

Enginler SO, Akiş I, Toydemir TSF, Oztabak K, Haktanir D, Gündüz MC, Kırşan I, Fırat I, 2014. Genetic variations of BRCA1 and BRCA2 genes in dogs with mammary tumours. Vet Res Commun 38(1), 21-27.

Fricker LD, 2020. Proteasome Inhibitor Drugs. Annu Rev Pharmacol Toxicol 60, 457–476.

Galanty Y, Belotserkovskaya R, Coates J, Jackson SP, 2012. RNF4, a SUMO-targeted ubiquitin E3 ligase, promotes DNA double-strand break repair. Genes Dev 26, 1179–1195.

Gallo LH, Ko J, Donoghue DJ, 2017. The importance of regulatory ubiquitination in cancer and metastasis, Cell Cycle 16(7), 634-648.

Gerke I, Kaup FJ, Neumann S, 2018. 26S Proteasome and insulin-like growth factor-1 in serum of dogs suffering from malignant tumors. Can J Vet Res 82, 115–123.

Gray M, Meehan J, Martínez-Pérez C, Kay C, Turnbull AK, Morrison LR, Pang LY, Argyle D, 2020. Naturally-occurring canine mammary tumors as a translational model for human breast cancer. Front Oncol 10, 617-631.

Groselj B, Sharma NL, Hamdy FC, Kerr M, Kiltie AE, 2013. Histone deacetylase inhibitors as radiosensitizers: effects on DNA damage signaling and repair. Br J Cancer 108, 748–54

Grosse N, Van Loon B, Rohrer BC, 2014. DNA damage response and DNA repair-dog as a model? BMC Cancer 14(1), 1- 8.

Guo HJ, Tadi P. Biochemistry, Ubiquitination [internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2022 [Cited 2022 Sep 13]. Available from: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK556052/

Hanahan D. 2022. Hallmarks of cancer: New dimensions. Cancer Discov 12(1), 31-46.

Hernández-Suárez B, Gillespie DA, Pawlak A, 2022. DNA damage response proteins in canine cancer as potential research targets in comparative oncology. Vet Comp Oncol 20(2), 347-361.

Huang R, Zhou PK, 2021. DNA damage repair: historical perspectives, mechanistic pathways and clinical translation for targeted cancer therapy. Sig Transduct Target Ther 6, 254-289.

Ito K, Kobayashi M, Kuroki S, Sasaki Y, Iwata T, Mori K, Kuroki T, Ozawa Y, Tetsuka M, Nakagawa T, Hiroi T, Yamamoto H, Ono K, Washizu T, Bonkobara M, 2013. The proteasome inhibitor bortezomib inhibits the growth of canine malignant melanoma cells *in vitro* and *in vivo*. Vet J 198(3), 577-582.

Jenke R, Rebing N, Hansen FK, Aigner A, Buch T, 2021. Anticancer Therapy with HDAC Inhibitors: Mechanism-Based Combination Strategies and Future Perspectives. Cancers 13(4), 634-645.

Kiweler N, Wünsch D, Wirth M, et al. 2020. Histone deacetylase inhibitors dysregulate DNA repair proteins and antagonize metastasis-associated processes. J Cancer Res Clin Oncol 146, 343–356.

Klaunig JE, 2020. Chapter 8 Carcinogenesis. In: Pope CN, Liu J (Eds.) An Introduction to Interdisciplinary Toxicology: From Molecules to Man. New York.

Klopfleisch R, von Euler H, Sarli G, Pinho SS, Gärtner F, Gruber AD, 2011. Molecular carcinogenesis of canine mammary tumors: news from an old disease. Vet Pathol 48(1), 98-116.

Kumatori A, Tanaka K, Inamura N, Sone S, Ogura T, Matsumoto T, Tachikawa T, Shin S, Ichihara A, 1990. Abnormally high expression of proteasomes in human leukemic cells. Proc Natl Acad Sci USA 87(18), 7071–7075.

Lam FC, 2022. The DNA damage response - from cell biology to human disease. J Transl Genet Genom 6, 204-222.

Laver T, Lee BM, Gogal RM, 2022. Bortezomib inhibits the proteasome, leading to cell death via apoptosis in feline injection site sarcoma cells in vitro. AJVR 83(6), 1-6.

LeBlanc R, Catley LP, Hideshima T, Lentzsch S, Mitsiades CS, Mitsiades N, Neuberg D, Goloubeva O, Pien CS, Adams J, Gupta D, Richardson PG, Munshi NC, Anderson KC, 2002. Proteasome inhibitor PS-341 inhibits human myeloma cell growth ในกาย and prolongs survival in a murine model. Cancer Res 62, 4996–5000.

Lee JH, Choy M, Ngo L, Foster SS, Marks PA, 2010. Histone deacetylase inhibitor induces DNA damage, which normal but not transformed cells can repair. PNAS 107(33), 14639-14644.

Li G, Tian Y, Zhu WG, 2020. The roles of histone deacetylases and their inhibitors in cancer therapy. Front Cell Dev Biol 8, 576946.

Liu J, Bi K, Yang R, Li H, Nikitaki Z, Chang L, 2020. Role of DNA damage and repair in radiation cancer therapy: a current update and a look to the future. Int J Radiat Biol 96(11), 1329-1338.

Lou Z, Chen J, 2005. Mammalian DNA damage response pathway. Genome Instability in Cancer Development. Springer-Verlag 570, 425- 455.

Manasanch EE, Orlowski RZ, 2017. Proteasome inhibitors in cancer therapy. Nat Rev Clin Oncol 17(4), 417-433.

Mann BS, Johnson JR, Cohen MH, Justice R, Pazdur R, 2007. FDA Approval Summary: Vorinostat for Treatment of Advanced Primary Cutaneous T-Cell Lymphoma. Oncologist 12(10), 1247–1252.

Masai H, Foiani M, 2017. DNA replication: from old principles to new discoveries. 1st ed. Singapore: Springer Singapore.

Milazzo G, Mercatelli D, Muzio GD, Triboli L, Rosa PD, Perini G, Giorgi FM, 2020. Histone deacetylases (HDACs): Evolution, specificity, role in transcriptional complexes, and pharmacological actionability. Genes 11, 556-605.

Minchom A, Aversa C, Lopez J, 2018. Dancing with the DNA damage response: next-generation anti-cancer therapeutic strategies. Ther Adv Med Oncol 10, 1-18.

Murahari S, Jalkanen AL, Kulp SK, Chen CS, Modiano JF, London CA, Kisseberth WC, 2017. Sensitivity of osteosarcoma cells to HDAC inhibitor AR-42 mediated apoptosis. BMC Cancer 17, 67-78.

Nakajima W, Tanaka N, 2016. BH3 mimetics: Their action and efficacy in cancer chemotherapy. Integr Cancer Sci Therap 3, 1000184.

Neilsen PM, Pehere AD, Pishas KI, Callen DF, Abell AD, 2013. New 26S proteasome inhibitors with high selectivity for chymotrypsin-like activity and p53-dependent cytotoxicity. ACS Chem Biol 8(2), 353-359.

Niida H, Nakanishi M, 2006. DNA damage checkpoints in mammals. Mutagenesis 21(1), 3- 9.

Nunes AT, Annunziata CM, 2017. Proteasome inhibitors: structure and function. Semin Oncol 44(6), 377-380.

O'Connor MJ, 2015. Targeting the DNA Damage Response in Cancer. Mol Cell 60(4), 547-560.

O'Neil N, Bailey M, Hieter P, 2017. Synthetic lethality and cancer. Nat Rev Genet 18, 613–623.

Pao PC, Patnaik D, Watson LA, Gao F, Pan L, Wang J, Adaikkan C, Penney J, Cam HP, Huang WC, Pantano L, Lee A, Nott A, Phan TX, Gjoneska E, Elmsaouri S, Haggarty SJ, Tsai LH, 2020. HDAC1 modulates OGG1-initiated oxidative DNA damage repair in the aging brain and Alzheimer's disease. Nat Commun 11(1), 2484.

Pao PC, Penney J, Tsa LH, 2019. Examining the role of HDACs in DNA double-strand break repair in neurons. In: Brosh, Jr., R. (eds) Protein Acetylation. Methods in Molecular Biology, Humana, New York, NY. 1983. 225–234.

Patel M, Nowsheen S, Maraboyina S, Xia F, 2020. The role of poly(ADP-ribose) polymerase inhibitors in the treatment of cancer and methods to overcome resistance: a review. Cell biosci 10, 35-46.

Pearl LH, Schierz AC, Ward SE, Al-Lazikani B, Pearl FMG, 2015. Therapeutic opportunities within the DNA damage response. Nat Rev Cancer 15, 166-180.

Pommier Y, O'Connor MJ, de Bono J, 2016. Laying a trap to kill cancer cells: PARP inhibitors and their mechanisms of action. Sci Transl Med 8(362), 362ps17.

Popovic D, Vucic D, Dikic I, 2014. Ubiquitination in disease pathogenesis and treatment. Nat Med 20, 1242–1253.

Prevedel NE. Effect of proteasome inhibitors on canine lymphoma cell response to CHOP chemotherapy *in vitro*. 2021 [Cited 2022 May 11]. Available from: https://atrium.lib.uoguelph.ca/xmlui/handle/10214/26654?show=full

Rungsipipat A, Tateyama S, Yamaguchi R, Uchida K, Miyoshi N, Hayashi T, 1999. Immunohistochemical analysis of c-yes and c-erbB-2 oncogene products and p53 tumor suppressor protein in canine mammary tumors. J Vet Med Sci 61(1), 27-32.

Saba C, Paoloni M, Mazcko C, Kisseberth W, Burton JH, Smith A, Wilson-Robles H, Allstadt S, Vail D, Henry C, Luna S, Ehrhart EJ, Charles B, Kent M, Lawrence J, Burgess K, Borgatti A, Suter S, Woods P, Gordon I, Vrignaud P, Khanna C, LeBlanc AK, 2016. A comparative oncology study of

Iniparib defines its pharmacokinetic profile and biological activity in a naturally-occurring canine cancer model. PLoS One 11(2), e0149194.

Sandhu P, Andrews PA, Baker MP, Koeplinger KA, Soli ED, Miller T, Baillie TA, 2007. Disposition of Vorinostat, A Novel Histone Deacetylase Inhibitor and Anticancer Agent, in Preclinical Species. Drug Metab Lett 1(2), 153 – 161.

Sanford KK, Parshad R, 1999. The contribution of deficient DNA repair to chromosomal radiosensitivity of CHO cells after G2 irradiation. Cancer Genet Cytogenet 108(1), 38-41

Shah SA, Potter MW, McDade TP, Ricciardi R, Perugini RA, Elliott PJ, Adams J, Callery MO, 2001. 26S proteasome inhibition induces apoptosis and limits growth of human pancreatic cancer. J Cell Biochem 82(1), 110–122.

Spies J, Polasek-Sedlackova H, Lukas J, Somyajit K, 2021. Homologous recombination as a fundamental genome surveillance mechanism during DNA replication. Genes 12(12), 1960-1979.

Stewart-Ornstein J, Cheng HW, Lahav G, 2017. Conservation and divergence of p53 oscillation dynamics across species. Cell Syst 5(4), 410- 417.

Sun T, Liu Z, Yang Q, 2020. The role of ubiquitination and deubiquitination in cancer metabolism. Mol Cancer 19, 146-165.

Suzuki T, Aoshima K, Yamazaki J, Kobayashi A, Kimura T, 2022. Manipulating histone acetylation leads to antitumor effects in hemangiosarcoma cells. Vet Comp Oncol 21, 1-12.

Swatek KN, Komander D, 2016. Ubiquitin modifications. Cell Res 26(4), 399-422.

Takeshima H, Ushijima T, 2019. Accumulation of genetic and epigenetic alterations in normal cells and cancer risk. npj Precis Onc 3, Article 7.

Thamm DH, 2008. Histone deacetylase: An epigenetic target for cancer therapy. ACVIM 2008. [Cited 2022 September 12]. Available from: https://www.vin.com/apputil/content/defaultadv1.aspx?id=3865583&pid=11262

Thumser-Henner P, Nytko KJ, Bley CR, 2020. Mutations of BRCA2 in canine mammary tumors and their targeting potential in clinical therapy. BMC Vet Res 16, 30-51.

Toh M, Ngeow J, 2021. Homologous recombination deficiency: cancer predispositions and treatment implications, Oncologist 26(9), e1526–e1537.

Trenner A & Sartori AA, 2019. Harnessing DNA Double-Strand Break Repair for Cancer Treatment. Front Oncol 9, 1-10.

Tubbs A, Nussenzweig A, 2017. Endogenous DNA damage as a source of genomic instability in cancer. Cell, 168, 644–656.

UpToDate (2022). Vorinostat: drug information. [Cited 2022 September 12]. Available from: https://www.uptodate.com/contents/vorinostat-drug-information?search=vorinostat&source=panel_search_result&selectedTitle=1~25&usage_type=panel&kp_tab=drug_general&display_rank=1#F16322954

Wertz IE, Wang X, 2019. From discovery to bedside: Targeting the ubiquitin system. Cell Chem Biol 26(2), 156-177.

Yin M, Hong F, Wang QE, 2022. Chapter 9 DNA Damage Response and Cancer Metastasis: Clinical Implications and Therapeutic Opportunities. In: Sergi, CM (Eds) Metastasis. Brisbane.

Zhang H, Ji L, Yang Y, Zhang X, Gang Y, Bai L, 2020. The role of HDACs and HDACi in cartilage and osteoarthritis. Front Cell Dev Biol 8, Article 560117.

Zhang J, Chen X, Kent MS, Rodriguez CO, Chen X, 2009. Establishment of a dog model for the p53 family pathway and identification of a novel isoform of p21 cyclin-dependent kinase inhibitor. Mol Cancer Res 7(1), 67- 78.

Zhao C, Dong H, Xu Q, Zhang Y, 2020. Histone deacetylase (HDAC) inhibitors in cancer: a patent review (2017-present). Expert Opin Ther Pat 30, 263-274.