

DANUTA PALUT



PROLIFERACJA PEROKSYSOMÓW A PROCES HEPATOKANCEROGENEZY

PEROXISOME PROLIFERATION AND HEPATOCARCINOGENESIS

Zakład Toksykologii Środowiskowej, Państwowy Zakład Higieny
00-791 Warszawa, ul. Chocimska 24
Kierownik: prof. dr hab. J.K. Ludwicki

W artykule przedstawiono aktualny stan wiedzy na temat mechanizmów odpowiedzialnych za rakotwórcze działanie substancji chemicznych z grupy proliferatorów peroksysomów (PPs), różnic gatunkowych we wrażliwości oraz omówiono poglądy dotyczące oceny ryzyka dla ludzi wynikającego z oddziaływania PPs rozpatrywanych jako niegenotoksyczne hepatokancerogeny i/lub promotory raka wątroby.

WSTĘP

Chorobę nowotworową można obecnie określić jako wynik nagromadzenia się błędów genetycznych w prawidłowej komórce, która w konsekwencji przestaje podlegać mechanizmom kontrolującym wzrost komórek. Uważa się, że błędy dotyczą dwóch klas genów tj. onkogenów, pobudzających komórki do proliferacji oraz antyonkogenów, czyli genów supresorowych, które spełniają przeciwną rolę polegającą na hamowaniu wzrostu komórek. Każdy z dotychczas poznanych onkogenów ma swój odpowiednik w normalnym aparacie genetycznym komórki. Te prekursorzy onkogenów – zw. protoonkogenami, a w zasadzie produkty tych genów mogą działać jako czynniki wzrostu, receptory dla czynników wzrostu, uczestniczyć w przenoszeniu sygnałów transdukcyjnych oraz pełnić rolę czynników transkrypcji na poziomie jądra [26, 27]. Spośród drugiej klasy genów, tj. genów supresorowych, najlepiej poznany przedstawicielem jest gen p53, którego produkt białkowy jest niezbędny w procesach kontroli i regulacji cyklu podziałowego komórki, replikacji DNA oraz w zaprogramowanym obumieraniu komórki (apoptozie) [26, 29]. Wg Horsta [29] przewaga onkogenów i niedobór czynników przeciwnowotworowych powoduje wzrost nowotworowy, natomiast mała ilość onkogenów z przewagą czynników przeciwnowotworowych zapobiega powstawaniu nowotworów.

Istnieje kilka możliwych dróg aktywacji komórkowych protoonkogenów i zmiany ich funkcji w onkogeną oraz unieczynnienia genów supresorowych; są to różnego typu mutacje indukowane między innymi czynnikami genotoksycznymi, w tym substancjami chemicznymi, które bezpośrednio lub po aktywacji metabolicznej uszkadzają strukturę DNA [26, 48].

Należy przypomnieć, że proces nowotworowy jest wieloetapowy, obejmujący inicjację, promocję i progresję. Na etapie inicjacji dochodzi do pierwotnej, trwałej i nieodwracalnej zmiany o charakterze mutacyjnym w genomie pojedynczej komórki. W konsekwencji powstaje nowy klon komórek, obdarzony zdolnością selektywnego wzrostu w stosunku do otaczającego je środowiska. Mianem promocji określane jest proces, w którym następuje klonalny wzrost zainicjowanych komórek, tzn. takich, w których zostały już utrwalone pierwsze zmiany genetyczne. Ten etap rozwoju nowotworów jest odwracalny i uwarunkowany działaniem czynników epigenetycznych, tzw. promotorów wzrostu nowotworowego [24, 26, 48]. Sugeruje się, że promocja zależy głównie od zdolności promotorów do interakcji z receptorami komórkowymi. [24] Mechanizm promocji nie jest ostatecznie poznany. Wiadomo jednak, że szereg niegenotoksycznych substancji chemicznych, nieodpowiednie odżywianie, endogenne hormony, itp. – selektywnie stymulują podziały komórkowe, zwłaszcza w populacji zainicjowanych wcześniej komórek [26, 48]. W konsekwencji powstają dalsze błędy genetyczne, a zwłaszcza nadmierna ekspresja genów sterujących syntezą czynników wzrostu i ich receptorów. Definicję procesu progresji można obecnie określić jako wynik nakładających się błędów genetycznych spowodowanych utratą, inaktywacją, mutacją lub nadmierną ekspresją szeregu genów. Stan progresji nowotworu charakteryzuje nasilająca się destabilizacja genetyczna i ewolucja w kierunku wzrostu stopnia proliferacji komórek oraz miejscowe naciekanie tkanek i narządów [26].

Liczne obserwacje wskazują, że oprócz kancerogenów genotoksycznych wzrasta liczba środowiskowych substancji chemicznych, które nie tworzą adduktów z DNA, nie stymulują syntezy naprawczej materiału genetycznego i w powszechnie stosowanych testach na mutagenność dają negatywne wyniki; natomiast w długookresowych badaniach żywieniowych wywołują złośliwe nowotwory różnych narządów i tkanek zwierząt laboratoryjnych [8, 23, 50, 65], a w dwustopniowym modelu kancerogenezy inicjowanej czynnikami genotoksycznymi oddziałują na etapie promocji [8, 48, 50]. Pomimo dynamicznego rozwoju badań, mechanizmy leżące u podstaw takiego działania nie są wyjaśnione. Stwarza to szereg problemów w kompleksowej identyfikacji oraz ocenie ryzyka dla ludzi wynikającego z oddziaływania związków rozpatrywanych jako niegenotoksyczne kancerogeny i/lub promotory wzrostu nowotworowego.

Proliferatory peroksysomów

Do niegenotoksycznych hepatokancerogenów i/lub promotorów raka wątroby należą między innymi tzw. proliferatory proksysomów¹ (PPs), stanowiące heterogenną grupę związków pod względem budowy chemicznej, aktywności biologicznej i farmakologicznej [6, 23, 46, 52]. PPs budzą powszechne zainteresowanie, ponieważ obejmują liczne zanieczyszczenia przemysłowe, rozpuszczalniki organiczne, leki oraz grupę środków stosowanych w ochronie roślin (Tabela I) [6]. Jest zatem zrozumiałe, że liczba prac

¹ Peroksysomy są cytoplazmatycznymi organellami występującymi we wszystkich komórkach ssaków, oprócz czerwonych ciałek krwi. W peroksysomach występują m. in. enzymy uczestniczące w β -oksydacji nasyconych i nienasyconych kwasów tłuszczowych o długich łańcuchach oraz katalaza rozkładająca produkt reakcji: nadtlenek wodoru do wody i tlenu. Narządem szczególnie bogatym w peroksysomy jest wątroba.

Tabela I. Wykaz substancji chemicznych stymulujących proliferację peroksyosomów w wątrobie myszy i szczura
Chemicals which shown to produce peroxisome proliferation in mice and rats.

Leki	Pestycydy	Zanieczyszczenia przemysłowe i rozpuszczalniki
aspiryna	kwask 2-chloro-2-metylo-	chlorowane parafiny
benzofibrat	fenoksyoctowy (MCPA)	ftalan dibutyłu
ciprofibrat	2,4-D	ftalan dietylohesylowy (DEHP)
klofibrat	2,4,5-T	adipinian dietyloheksylowy
fenofibrat	fomesafen	2-etyloheksanol
gemfibrozil	haloksyfop	perchloroetylen
halofenat	lactofen	trichloroetylen
myloklofenapat		trimetylopentan
nafenopin		
tiadenal		
WY-14,643		

dotycząca mechanizmów działania tej właśnie grupy niegenotoksycznych substancji chemicznych jest największa.

Mechanizmy proliferacji peroksyosomów

Pojawienie się nowotworów wątroby poprzedza u myszy i szczura wzrost liczby i średnicy peroksyosomów w komórkach mięszzowych narządu [1, 6, 23, 46]. W konsekwencji wzrasta aktywność enzymów peroksyosomalnych uczestniczących w β -oksydacji kwasów tłuszczowych np. oksydaza Acylo CoA oraz aktywność peroksyosomalnej katalazy [6, 23]. Proliferacja peroksyosomów i wzrost wskaźnikowych enzymów są precyzyjnie regulowane na drodze mechanizmu receptorowego. *Issemann* i współpr. [33, 34] udowodnili, że PPs aktywują receptory z rodziny receptorów hormonów steroidowych, które nazwano Peroxisome Proliferator Activated Receptors (PPARs).

Badania tych receptorów wykazały występowanie czterech form PPARs, tj. formy α , β , γ , δ , z których PPs najsilniej aktywują formę α [7, 25, 37]. Powstający ligand tworzy heterodimer [35, 36, 38] z innym receptorem retinoidowym X; dimer wiążąc się ze specyficzną sekwencją DNA, oddziałuje na transkrypcję genów kodujących enzymy uczestniczące w metabolizmie kwasów tłuszczowych [36, 63], w tym również mikrosomalną formą cytochromu P-4504A (uczestniczy w ν -oksydacji kwasów tłuszczowych) [47].

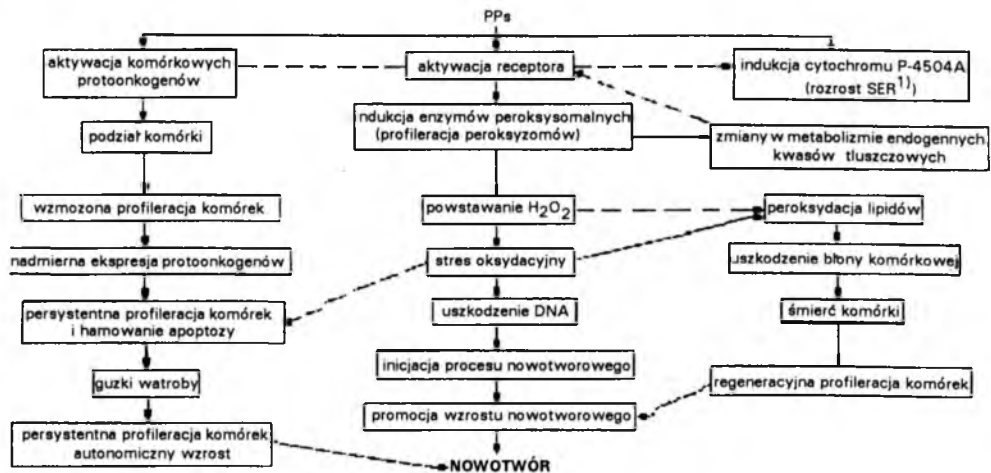
Mechanizmy rakotwórczego działania PPs

Ashby i współpr. [1] sugerowali zależność pomiędzy proliferacją peroksyosomów u myszy i szczura, wzrostem wskaźnikowych enzymów peroksyosomalnych a działaniem hepatokancerogennym PPs (Tabela II). Pomimo sugerowanej korelacji mechanizmy leżące u podstaw rakotwórczego działania PPs u gryzoni pozostają nadal problemem dyskusyjnym. Wysunięto w tym zakresie szereg możliwych hipotez (Rycina 1). Rozpatrywane koncepcje zakładają, oprócz proliferacji peroksyosomów, stymulację proliferacji

Tabela II. Korelacja pomiędzy proliferacją peroksysomów a hepatokancerogenezą u myszy i szczurów
Correlation between hepatic peroxisome proliferation and hepatocarcinogenesis in mice and rats

Związek	Szczep	Szczur				Szczep	Mysz				Chomik				Małpa			
		PP		HC			PP		HC		PP		HC		PP		HC	
		M	Ż	M	Ż		M	Ż	M	Ż	M	Ż	M	Ż	M	Ż	M	Ż
ciprofibrat	F344	+	+			C57B1	+	+										
klobuzarit	Wistar	+	-			C75B1	+	+			-	-						
klofibrat	SD	+	+	+	+	C57B1	+	-								-	-	
DEHP	F344	+	+	+	+						-	-						
gemfibrozil	SD	+	+															
metryloklofanat	Wistar	+	+															
nafenopin	F344	+	+															
Wy 14,643	F344	+	+															
kwas trichlorooctowy						B6C3F1	+	+										

PP – proliferacja peroksysomów
HC – nowotwory wątroby



¹⁾SER - glądka siateczka śródplazmatyczna

Ryc. 1. Mechanizmy leżące u podstaw rakotwórczego działania proliferatów peroksysomów (wg Bentleya [7]).

Fig. 1. Mechanisms of tumor by peroxisome proliferators (after Bentley [7]).

hepatocytów [6, 9, 42, 53], pośrednie działanie genotoksyczne (hipoteza stresu oksydacyjnego) [6, 18, 39, 51] jak również oddziaływanie PPs jako promotorów wzrostu nowotworowego [10, 11, 12].

Wyrazem wzrostu liczby i średnicy peroksysomów u myszy i szczura jest powiększenie wątroby na drodze hipertroficznego² przerostu z towarzyszącą wzmoczoną proliferacją hepatocytów (wzrost syntezy DNA i aktywności mitotycznej) [6, 23, 53]. Proliferację hepatocytów poprzedza aktywacja protoonkogenów czynników transkrypcyjnych (c-myc i c-fos) [23, 24], które z kolei aktywują geny zmuszające komórkę do wzrostu. Zdolność do stymulowania replikacji komórek w docelowych narządach i tkankach jest wspólną cechą wszystkich związków rozpatrywanych jako niegenotoksyczne kancerogeny i/lub promotory wzrostu nowotworowego [9, 19, 24]. Niegenotoksyczne kancerogeny wzmagają wzrost komórek bezpośrednio na zasadzie mechanizmu receptorowego, bądź pośrednio poprzez działania cytotoksyczne i w konsekwencji odnowę regeneracyjną [16, 19, 21, 41]. Co więcej – w wątrobie szczura stwierdzono też dwie fazy proliferacji komórek pod wpływem bezpośrednich czynników mitogennych: namnażanie się hepatocytów wyłącznie w okresie pierwszych dni narażenia oraz proliferację persystentną, utrzymującą się na niskim poziomie przez kilka miesięcy [16, 19]. Należy sądzić, że PPs aktywują w wątrobie gryzoni plejotropowy efekt, obejmujący również wzmoczoną proliferację hepatocytów. Jednakże większość PPs wywołuje jedynie przejściowy wzrost namnażania się hepatocytów, z maksimum przypadającym w okresie pierwszych dni podawania związków; [6, 9, 23] następnie, pomimo kontynuowania narażenia, proces replikacji komórek powraca do normy. Zakładając, że proces nowotworowy jest wieloetapowy, trudno zatem wiązać przyczynowo te wczesne zmiany z rozwojem raka [17, 45, 53]. Przejściowy wzrost proliferacji komórek rozpatrywany jest w piśmiennictwie jako wczesny wskaźnik oddziaływania niegenotoksycznych związków w procesie kancerogenezy [23, 28].

Spśród zbadanych dotychczas PPs wyjątek stanowi metyloklofenapat i Wy-14643³, które stymulują w wątrobie szczurów utrzymujący się proces replikacji hepatocytów (odpowiednio przez 26 i 60 tyg.). [5, 20, 40]. Powyższe obserwacje mogą sugerować, że w przypadku tych PPs proliferacja *per se* jest przyczyną ich działania hepatokancerogennego, ponieważ replikacji komórek przypisuje się kluczową rolę na poszczególnych etapach procesu nowotworowego [9, 14, 64]. Jednakże rola proliferacji *per se* w chemicznej kancerogenezie jest niejasnym i ciągle kontrowersyjnym problemem. Wg Mielnicka i wsp. [43, 44, 45] oraz Weisteina [64], brak ilościowej korelacji pomiędzy proliferacją komórek a działaniem kancerogennym substancji chemicznych potwierdza hipotezę, że odnowa regeneracyjna oraz utrzymujący się efekt mitogeny nie jest wystarczającym czynnikiem do inicjacji i promocji nowotworu. Z drugiej zaś strony, wielu autorów [9, 19, 41, 59] upatruje w proliferacji komórek bezpośrednią przyczynę wzrostu nowotworowego. Uzasadniając takie stanowisko postulują oni, że wzmoczony proces proliferacji: 1) skraca czas niezbędny do reperacji uszkodzeń DNA, 2) na etapie inicjacji utrwala mutacje przekazując uszkodzenie genetyczne komórkom potomnym, 3) jest warunkiem występowania aberracji chromosomowych: delecji i amplifikacji

² hipertrofia – zwiększenie masy lub objętości komórek.

³ kwas 4-chloro-6-(2,3-ksylidyno)-2-pirymidynylo-triooctowy

geny, 4) może być przyczyną błędów w replikacji DNA, 5) na etapie promocji wzmaga klonalny wzrost wcześniej zainicjowanych nowotworowo komórek. Sprzecznych poglądów na ten temat roli proliferacji komórek w chemicznej kancerogenezie należy upatrywać w braku informacji na temat molekularnych podstaw oddziaływania substancji chemicznych na cykl komórkowy, replikację i apoptozę komórek. Udowodniono, że klasyczne promotory raka skóry tj. estry forbolu indukują kinazę białkową C (PCK). Enzym ten aktywuje czynnik transkrypcji AP1, który odgrywa centralną rolę w przekazywaniu sygnałów w komórce poprzez ekspresję szeregu genów, w odpowiedzi na traktowanie komórek estrami forbolu i innymi mitogenami. Nie można zatem wykluczyć możliwości, że inne niegenotoksyczne kancerogeny i/lub promotory wzrostu nowotworowego zmieniają kontrolę ekspresji genów lub oddziałują na specyficznych etapach sygnalizacji transbłonowej i wewnątrzkomórkowej, stymulując w ten sposób wzmocniony proces proliferacji komórek oraz klonalny wzrost komórek zainicjowanych nowotworowo.

Tabela III. Różnice gatunkowe w proliferacji peroksysomów w warunkach *in vitro*
Species differences in peroxisome proliferation *in vitro*

Związek	Mysz	Szczur	Świnka morska	Pies	Małpa	Człowiek
kwas klofibrowy	+	+	-	ND	-	-
metyloklofanat	ND	+	-	ND	ND	-
ciprofibrat	ND	+	ND	ND	ND	-
benzofibrat	ND	+	ND	-	-	ND
nafenopin	ND	+	ND	ND	ND	ND
Wy 17 1883	ND	+	ND	-	-	ND
kwas trichlorooctowy	+	+	-	ND	ND	-

-) wynik negatywny; +) wynik pozytywny; ND) nie badano

Tabela IV. Różnice gatunkowe w proliferacji peroksysomów *in vivo*
Species differences in peroxisome proliferation *in vivo*

Związek	Mysz	Szczur	Świnka morska	Pies	Małpa	Człowiek
klofibrat	+	+	-	-	ND	-
metyloklofanat	ND	+	+	-	ND	ND
nafenopin	ND	+	+	-	-	-
fenofibrat	ND	+	+	-	ND	-
benzofibrat	+	+	+	+/-	-	-
Wy 17 1883	+	+	+	-	-	-
kwas trichlorooctowy	+	+	ND	-	ND	ND

-) wynik negatywny; +) wynik pozytywny; ND) nie badano

Tabela V. Wpływ leków stosowanych przeciw lipidemii miażdżycy na proliferację peroksyosomów u ochotników

Peroxisomal response to hypolipidemic drugs administered to human volunteers

Związek	Liczba badanych osobników	Czas ekspozycji w miesiącach	Prolifercja peroksyosomów	Kontrola ^{1/}
klofibrat	19	3-4	50% (wzrost liczby)	A
gemfibrozil	9	17-25	-	B
fenofibrat	38	6-36	-	C
ciprofibrat	7	6-24	30% (wzrost objętości)	A

^{1/} rodzaj kontroli

A – pacjenci przed terapią przeciwmiażdżycową

B – porównanie z piśmiennictwem

C – populacja generalna

Wiele uwagi poświęcono też peroksyosomalnym enzymom utleniającym, ponieważ pierwszy etap w metabolizmie kwasów tłuszczowych, katalizowany przez oksydazę Acylo CoA, polega na przeniesieniu elektronu na tlen cząsteczkowy i wytworzeniu nadtlenu wodoru. Nadtlenek wodoru w reakcji *Habera-Weisa* może generować rodnik hydroksylowy i tlen atomowy. Stwierdzono, że PPs stymulują w wątrobie gryzoni 5 – 20 – krotny wzrost aktywności oksydazy AcyloCoA i zaledwie 2-krotny wzrost katalazy. Na podstawie tych obserwacji wysunięto przypuszczenie [18, 39, 51, 54], że różnice w syntezie i degradacji nadtlenu wodoru, prowadzą do powstawania wysoce reaktywnych rodników tlenowych, powodujących pęknięcia nici DNA oraz uszkodzenia zasad typu 8- hydroksydezyksoguanozyny. Potwierdzeniem tego założenia były obserwacje wskazujące między innymi, że narażenie szczurów na PPs wywołuje w cytoplazmie komórek wątroby spadek aktywności peroksydazy glutatynowej i dysmutazy nadtlenukowej [13, 22], enzymów chroniących organizm przed szkodliwym działaniem wolnych rodników tlenowych oraz wzrost nadtlenu wodoru w homogenatach badanego narządu [61]. Wykazano też nieznaczny wzrost 8-hydroksydezyksoguanozyny w wątrobie szczurów pod wpływem szeregu PPs [13, 60], jednakże uszkodzenie dotyczyło mitochondrialnego a nie jądrowego DNA [13, 44]. Znakomita większość PPs daje negatywne wyniki w testach na działanie mutagenne i klastogenne. Wyjątkami są klofibrat, nafenopin i Wy-14643, które indukowały wymiany chromatyd siostrzanych, aberracje chromosomowe oraz mikrojądra w hepatocytach szczura i człowieka hodowanych w warunkach *in vitro* [30, 55, 57, 62]. Wyniki te nie są zaskakujące z uwagi na znaczne różnice w budowie chemicznej PPs. Jednakże z przytoczonych danych wynika, że problem stresu oksydacyjnego należy uznać za nierozstrzygnięty [7].

Różnice gatunkowe w odpowiedzi na PPs

Badania *Shera* i wsp. [58], potwierdziły występowanie w wątrobie człowieka receptora PPAR α homologicznego do receptora myszy. Jednakże zestawienie danych zawarte w tabeli III i IV wskazuje na występowanie znacznych różnic gatunkowych w odpowiedzi na PPs. Porównując wyniki badań prowadzonych na różnych gatunkach zwierząt w warunkach *in vitro* i *in vivo* można zauważyć szczególną wrażliwość myszy

i szczurów na działanie PPs; chomik charakteryzuje się wrażliwością, natomiast wątpliwości budzi proliferacja peroksyosomów u świnki morskiej oraz u naczelnych i ludzi [2, 6, 7, 25]. W dostępnym piśmiennictwie z tego zakresu dotyczącym ludzi można stwierdzić zarówno pozytywne jak i negatywne wyniki uzyskane na ochotnikach w warunkach *in vivo* (Tabela V). Natomiast w doświadczeniach prowadzonych na hepatocytach człowieka hodowanych w warunkach *in vitro*, uzyskano jednoznaczną odpowiedź negatywną. Brak odpowiedzi w warunkach *in vivo* przypisuje się niskiej ekspresji PPAR α . Jednakże krótki okres półtrwania peroksyosomów (36 godz.) oraz gwałtowny ich spadek po przerwaniu stosowania związków może sugerować, że wyniki badań *in vivo* nie są przekonującym dowodem o braku wrażliwości ludzi na PPs [15]. Ponadto, szereg PPs stanowi grupę skutecznych leków przeciw lipidemii miażdżycy; sugeruje to rolę receptora PPAR α w utrzymywaniu homeostazy lipidowej u ludzi [25]. W świetle tych faktów intrygujący jest brak proliferacji peroksyosomów w wątrobie człowieka.

Przedstawione w artykule koncepcje dotyczące podstaw rakotwórczego działania PPs mogą wskazywać, że związki tego typu działają u gryzoni na zasadzie mechanizmu(ów), które nie występują u ludzi. Preferowany przez wielu autorów pogląd, że związki tego typu nie stwarzają większego zagrożenia dla ludzi [3, 6] może być przedczesny w świetle dowodów wskazujących, że PPs przypominają oddziaływanie promotorów raka hamując apoptozę hepatocytów [4, 56]. Rola apoptozy komórek w kancerogenezie jest obecnie jednym z najczęściej dyskutowanych problemów [32, 49, 57]. Uważa się bowiem, że śmierć komórek w apoptozie utrzymuje w dorosłym organizmie homeostazę tkankową, przeciwdziałając rozrostom hiperplastycznym i neoplastycznym poprzez eliminację komórek przednowotworowych i nowotworowych. Ponadto ocena ryzyka zdrowotnego dla ludzi powinna dotyczyć poszczególnych związków a nie całej grupy PPs. Np. Międzynarodowa Agencja Badań nad Rakiem przeanalizowała dotychczasowe wyniki badań kłofibratu i gemfibrozilu, umieszczając te dwa PPs w grupie substancji chemicznych, które nie mogą być klasyfikowane pod względem działania rakotwórczego dla ludzi (grupa 3) [31].

Na obecnym etapie wiedzy konieczna wydaje się wstępna identyfikacja oraz wykrywanie środowiskowych czynników chemicznych, które wywołują w wątrobie gryzoni wzrost proliferacji peroksyosomów, a jednocześnie wykazują zdolność do stymulacji proliferacji komórek wątroby i hamowania ich apoptozy.

D . P a l u t

PEROXISOME PROLIFERATION AND HEPATOCARCINOGENESIS

Summary

Peroxisome proliferators are diverse group of chemicals which are regarded as rodent hepatocarcinogens and/or liver tumor promoters. These compounds when administered to rats and mice produce a dramatic increase in the size and number of hepatic peroxisomes and increase in activities of enzymes involved in beta-oxidation of fatty acids. Peroxisome proliferation is accompanied by hepatocyte proliferation and liver growth. The steroid hormone receptors superfamily have been identified that can be activated by peroxisome proliferators and are called Peroxisome Proliferator Activated Receptors (PPARs). It is therefore suggests that PPARs mediate the pleiotropic effects of peroxisome proliferators including enzyme induction, peroxisome proliferation, cell proliferation and hepatocarcinogenesis. Although the correlation of peroxisome proliferation and hepatocarcinogenesis is striking, the mechanism(s) by which this

class of chemicals induce tumor is still understood; however several other hypothesis have been advanced. One is based on knowledge that hydrogen peroxide is produced during the increase in peroxisomal fatty acid oxidation. An excess of hydrogen peroxide can lead to oxidative stress (generation of reactive oxygen species), DNA damage and possibly to tumor initiation. In rodents, an alternative mechanism is the promotion of spontaneously initiated lesions by sustained cell proliferation. Thirdly, it is conceivable that sustained growth stimulation may be sufficient for tumor formation. Marked species differences are apparent in response to peroxisome proliferators. Rats and mice are extremely responsive species, and hamsters show an intermediate response, while guinea pigs, monkeys and humans appear to be relatively non-responsive. In the light of these data it seems likely that risk to humans from peroxisome proliferators may be overestimated. However, peroxisome proliferators have shown to produce the other effects such as the suppression of hepatocyte apoptosis which could be an important factor in their hepatocarcinogenic response.

PIŚMIENICTWO

1. Ashby J., Brady A., Elcombe C.R., Elliott B.M., Ishmael J., Odum J., Tugwood J.D., Kettle S., Purchase I.F.H.: An examination of the correlation between peroxisome proliferation and hepatocarcinogenesis. *Human Exptl. Toxicol.*, 1994, 13, Suppl. 2, 7. – 2. Ashby J., Brady A., Elcombe C.R., Elliott B.M., Ishmael J., Odum J., Tugwood J.D., Kettle S., Purchase I.F.H.: Human response to peroxisome proliferators. *Human Exptl. Toxicol.*, 1994, 13, Suppl. 2, 47. – 3. Ashby J., Brady A., Elcombe C.R., Elliott B.M., Ishmael J., Odum J., Tugwood J.D., Kettle S., Purchase I.F.H.: Evaluation of human hazard from peroxisome proliferator mediated-hepatocarcinogenesis. *Human Exptl. Toxicol.*, 1994, 13, Suppl. 2, 49. – 4. Bayly A.C., Roberts R.A., Dive C.: Suppression of liver cell apoptosis in vitro by the non-genotoxic hepatocarcinogen and peroxisome proliferator, nafenopin. *J. Cell Biol.*, 1994, 125, 197. – 5. Barrass N.C., Price R.J., Lake B.G., Orton T.C.: Comparison of the acute and chronic mitogenic effects of peroxisome proliferators: methylclofenapate and clofibrac acid in rat liver. *Carcinogenesis* 1993, 14, 1415. – 6. Bently P., Calder I., Elcombe C., Grasso P.: Hepatic peroxisome proliferation in rodents and its significance for humans. *Food Chem. Toxicol.*, 1993, 31, 857. – 7. Barrett J.C.: Mechanisms for difference in receptor-mediated carcinogenesis. *Mut. Res.*, 1995, 333, 189. – 8. Butterworth B.E.: Consideration of both genotoxic and nongenotoxic mechanisms in predicting carcinogenic potential. *Mut. Res.*, 1990, 239, 117. – 9. Butterworth B.E., Popp J.A., Conolly R.B., Goldsworthy T.L.: Chemically induced cell proliferation in carcinogenesis. *Mechanisms of Carcinogenesis in Risk Identification*. Ed. H. Vanio, B.N. Magee. International Agency for Research on Cancer. Lyon. IARC Scientific Publications 1992, 116, 279. – 10. Cattley R.C., Popp J.A.: Differences between the promoting activities of the peroxisome proliferator Wy-14643 and phenobarbital in rat liver. *Cancer Res.*, 1989, 49, 3246.
11. Cattley R.C., Marsman D.S., Popp J.A.: Failure of the peroxisome proliferator Wy-14643 to initiate growth-selectable foci in rat liver. *Toxicology* 1989, 56, 1. – 12. Cattley R.C., Marsman D.S., Popp J.A.: Age-related susceptibility to the carcinogenic effect of the peroxisome proliferator Wy-14643 in rat liver. *Carcinogenesis* 1991, 12, 469. – 13. Cattley R.C., Glover S.E.: Elevated 8-hydroxydeoxyguanosine in hepatic DNA of rats following exposure to peroxisome proliferators: relationship to carcinogenesis and nuclear localization. *Carcinogenesis* 1993, 14, 2495. – 14. Ciriolo M.R., Mavelli I., Rotilio G., Borzatta V., Cristofari M., Stanzani I.: Decrease of superoxide dismutase and glutathione peroxidase in liver of rats with hypolipidemic drugs. *FEBS Lett.*, 1982, 144, 264. – 15. Citron: Peroxisome proliferators. *Environm. Health Perspect* 1995, 103, 232. – 16. Cohen S. M., Ellwien I.B.: Cell proliferation in carcinogenesis. *Science* 1990, 249, 1007. – 17. Columbano A., Ledda-Columbano G.M., Coni P., Pani P.: Failure of mitogen-induced cell proliferation to achieve initiation of rat liver carcinogenesis. *Carcinogenesis* 1987, 8, 345. – 18. Conway J.G., Tomaszewski K.E., Olson M.J., Cattley R.C., Marsman D.S., Popp J.A.: Relationship of oxidative damage to the hepatocarcinogenicity of the peroxisome proliferators

di(2-ethylhexyl)phthalate and Wy-14,643. *Carcinogenesis* 1989, 10, 513. – 19. *Croy R.G.*: Role of chemically induced cell proliferation in carcinogenesis and its use in health risk assessment. *Environm. Health Perspect.*, 1993, 101, 289. – 20. *Eacho P.J., Lanier T., Brodhecker C.A.*: Hepatocellular DNA synthesis in rat peroxisome proliferating agents: comparison of Wy-14,643 to clofibric acid naftenopin and Ly 171883. *Carcinogenesis* 1991, 12, 1557.

21. *Farber E.*: Hepatocyte proliferation in stepwise development of experimental liver cell cancer. *Digestive Diseases and Sciences* 1991, 7, 973. – 22. *Furukawa K., Numoto S., Furuya K., Furukawa N.T. and Williams G.M.*: Effects of the hepatocarcinogen nafenopin, a peroxisome proliferator, on the activities of rat liver glutathione-requiring enzymes and catalase in comparison to the action of phenobarbital. *Cancer Res.*, 1985, 45, 5011. – 23. *Grasso P., Hinton R.H.*: Evidence for and possible mechanism of non-genotoxic carcinogenesis in rodent liver. *Mut. Res.*, 1991, 248, 271. – 24. *Green S.*: The search for molecular mechanisms of non-genotoxic carcinogens. *Mut. Res.*, 1991, 1991, 248, 371. – 25. *Green S.*: PPAR: a mediator of peroxisome proliferation. *Mut. Res.*, 1996, 33, 101. – 26. *Harłodzińska-Szmyrka A.*: Nowotwory – choroba genów. *Post. Biochem.*, 1995, 41, 5. – 27. *Hetman M.*: Geny przeciwnowotworowe – ważny element w powstawaniu nowotworów. *Post. Biol. Kom.*, 1991, 18, 203. – 28. *Hildebrand B., Grasso P., Ashby J., Chamberlain M., Jung R., Kolfscholen A., Loester E., Smith E., Bontick W.B.*: Validity of considering that early changes may act as indicators for non-genotoxic carcinogenesis. *Mut. Res.*, 1991, 248, 217. – 29. *Horst A.*: Geny przeciwnowotworowe jako czynniki regulatorowe wzrostu i różnicowania komórek. *Post. Biol. Kom.*, 1992, 19, 3. – 30. *Hwang J.J., Hsia M.T.S., Jirle R.L.*: Induction of sister chromatid exchange and micronuclei in primary cultures of rat and human hepatocytes by the peroxisome proliferator, Wy-14, 643. *Mutat. Res.*, 1993, 286, 123

31. IARC. Some pharmaceutical drugs: in IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risk to Humans. International Agency for Research on Cancer 1966, 66, 389. – 32. *Issacs J.T.*: Role of programmed cell death in carcinogenesis *Environm. Health perspect* 1993, 101, Suppl. 5, 27. – 33. *Issemann J., Green S.*: Activation of a member of the steroid hormone receptor superfamily by peroxisome proliferators. *Nature* 1990, 347, 645. – 34. *Issemann J., Green S.*: Cloning of novel member of the steroid hormone receptor superfamily. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.*, 1991, 40, 263. – 35. *Issemann J., Prince R.A., Tugwood J.D., Green S.*: The peroxisome proliferator activated receptor: retinoid X receptor heterodimer is activated by fatty acids and fibrate hypolipidemic drugs. *J. Mol. Endocrinol.*, 1993, 11, 37. – 36. *Issemann J., Prince R.A., Tugwood J.D., Green S.*: The retinoid X receptor enhance the peroxisome proliferator receptor. *Biochimie* 1993, 75, 251. – 37. *Kliwer S.A., Forman B.M., Blumberg B., Ong E.S.*: Differential expression and activation of a family of murine peroxisome proliferator activated receptors. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1993, 91, 7355. – 38. *Kliwer S.A., Umesono K., Noonan D.J., Heyman R.A., Evans R.A.*: Convergence of 9-cis retinoic and peroxisome proliferator signalling pathways through heterodimer formation of their receptors. *Nature* 1992, 358, 771. – 39. *Lake B.G., Gray T.B.J., Smith A.G., Evans J.G.*: Hepatic peroxisome proliferation and oxidative stress. *Biochem. Soc. Trans.*, 1990, 18, 94. – 40. *Lake B.G., Evans J.G., Cunningham M.G., Price R.J.*: Comparison of the hepatic effects of nafenopin and Wy-14,643 on peroxisome proliferation and cell replication. *Environm. Health Perspect* 1993, 101, Suppl. 5, 241.

41. *Ledda Cojumbano G.M., Coni P., Simbula G., Zedda I., Columbano A.*: Compensatory regeneration, mitogen-induced liver growth and multistage chemical carcinogenesis. *Environm. Health Perspecti.* 1993, 101, Suppl. 5, 163. – 42. *Marsman D.S. Cattley R.C., Conway J.G., Popp J.A.*: Relationship of hepatic peroxisome proliferation and replicative DNA synthesis to the hepatocarcinogenicity of the peroxisome proliferators di(2-ethylhexyl)phthalate and [4-chloro-6-(2,3-xylidino)-2-pyrimidinyl-thio]actic acid (Wy- 14,643) in rats. *Cancer Res.* 1988, 48, 6739. – 43. *Melnick R.L.*: Does chemically induced hepatocyte proliferation predict liver carcinogenesis. *FASEB J.*, 1992, 6, 2698. – 44. *Melnick R.L., Kohn M.C., Portier C.J.*: Implications for risk

assessment of suggested nongenotoxic mechanisms of chemical carcinogenesis. Environm. Health Perspect., 1996, 104, 123. – 45. *Melnick R.L., Huff J., Barrett J.C., Lucier G., Portier C.J.*: Cella proliferation and chemical carcinogenesis. Environm. Health Perspect 1993, 101, Suppl. 5, 3. – 46. *Moody D.E., Reddy J.K., Lake B.G., Popp J.A. Reese D.H.*: Peroxisome proliferation and nongenotoxic carcinogenesis. Fundam. Appl. Toxicol., 1991, 16, 233. – 47. *Muerhoff A.S., Griffin K.J. Johnson E.F.*: The peroxisome proliferator activated receptor mediates the induction of CYP4A, a cytochrome P-450 fatty acid α -hydroxylase by clofibrac acid. J. Biol. VChem., 1992, 267, 19051. – 48. *Palut D., Kostka G., Kopeć-Szłęzak J.*: Rola niegenotoksycznych substancji chemicznych w procesie kancerogenezy. Farmacja Polska 1996, 52, 449–461. – 49. *Radziszewska E.*: Fizjologiczna rola apoptozy. Postępy Biologii Komórki 1995, 22, 247. – 40. *Ramel C.*: Genotoxic and nongenotoxic carcinogens: mechanism of action and strategies. Mechanism of Carcinogenesis in Risk Identification. Ed. *H. Vanio, B.N. Magee*, Lyon, International Agency for Research on Cancer. IARC Scientific Publications 1992, 116, 195.

51. *Reddy J.K., Lalwani N.D.*: Carcinogenesis by hepatic peroxisome proliferations: evaluation of the risk of hypolipidemic drugs and industrial plasticizers to humans. CRC Crit. Rev. Toxicol., 1983, 12, 1. – 52. *Reddy J.K., Azamoff D.L., Hignite C.E.*: Hypolipidemic hepatic peroxisome proliferators from a novel class of chemical carcinogens. Nature 1980, 283, 397. – 53. *Reddy J.K., Rao M.S.*: Peroxisome proliferation and hepatocarcinogenesis. Mechanisms of Carcinogenesis in Risk Identification. Ed. *H. Vanio, B.N. Magee*. International Agency for Research on Cancer., Lyon, IARC Scientific Publications 1992, 225. – 54. *Reddy J.K., Rao M.S.*: Oxidative DNA damage caused by persistent peroxisome proliferation: its role in hepatocarcinogenesis. Mut. Res., 1989, 24, 63. – 55. *Reisenbichler H., Eckl P.M.*: Genotoxic effects of selected peroxisome proliferators. Mut. Res., 1992, 286, 135. – 56. *Roberts R.A., Soames A.E., Gill J.H., James N.H., Wheeldon E.B.*: Non- genotoxic carcinogens stimulate DNA synthesis and their withdrawal induces apoptosis, but in different hepatocyte populations. Carcinogenesis 1995, 16, 1693. – 57. *Schulte-Hermann R., Bursch W., Grasl-Kraupp B., Mullaer B., Nedecky B.*: Apoptosis and multistage carcinogenesis in rat liver. Mut. Res., 1995, 333, 81. – 58. *Sher T., McBride W., Gonzalez F.J.*: cDNA cloning, chromosomal mapping and functional characterisation of the human peroxisome proliferator activated receptor. Biochemistry 1993, 32, 5598. – 59. *Swenberg J.A.*: Cell proliferation and chemical carcinogenesis: Conference Summary and Future Directions. Environm. Health Perspect., 1993, 101, Suppl. 5, 153. – 60. *Takagi A., Sai K., Umemura T., Hasegawa E., Kurokawa Y.*: Relationship between peroxisome proliferation and 8-hydroxydeoxyguanosine formation in liver DNA of rats following long-term exposure to three peroxisome proliferators; di(2-ethylhexyl)phthalate, aluminum clofibrate and simifibrate. Cancer Lett., 1990, 53, 33.

61. *Tomaszewski K.E., Agarwal D.K., Melnick R.L.*: *In vitro* steady-state levels of hydrogen peroxide after exposure of male F344 rats and female B6C3F1 mice to hepatic peroxisome proliferators. Carcinogenesis 1986, 7, 1871. – 62. *Tsutsiu T., Watanabe E., Barrett J.C.*: Ability of peroxisome proliferation to induce cell transformation, chromosome aberrations and peroxisome proliferation in cultured syrian hamster embryo cells. Carcinogenesis 1993, 14, 611. – 63. *Tugwood J.D., Issemann I., Anderson R.G., Bundell K.R., McPheat W.L. & Green S.*: The mouse peroxisome proliferator activated receptor recognises a response element in the 5 flanking sequence of the rat acyl CoA oxidase gene. EMBO J., 1992, 11, 433. – 64. *Weinstein B.*: Cell Proliferation: Concluding remarks, Environm. Health Perspect., 1993, 101, Suppl. 5, 159. – 65. *Yamasaki H., Ashby J., Bingnani H. Et al.*: Non-genotoxic carcinogens: development of detection methods based on mechanisms: a European project. Mut. Res., 1996, 353, 47.