

Received: 2011.03.30
Accepted: 2011.06.07
Published: 2011.06.21

Receptory aktywowane proliferatorami peroksysomów (PPAR). Właściwości antyproliferacyjne

Peroxisome proliferator-activated receptors (PPAR). Antiproliferative properties

Anna Hojka, Andrzej Rapak

Laboratorium Immunobiologii Molekularnej Nowotworów, Instytut Immunologii i Terapii Doświadczalnej PAN im. Ludwika Hirszfelda we Wrocławiu

Streszczenie

Receptory aktywowane proliferatorami peroksysomów, oznaczane skrótem PPAR (peroxisome proliferator-activated receptors), to czynniki transkrypcyjne, należące do rodziny jądrowych receptorów hormonów. Ich główną rolą jest kontrola metabolizmu kwasów tłuszczowych i utrzymanie homeostazy glukozowej. Izotyp γ PPAR może również wpływać na proliferację, przeżywalność i różnicowanie się komórek zarówno prawidłowych, jak i nowotworowych. Związki, które są ligandami PPAR γ negatywnie wpływają na komórki nowotworowe, indukując apoptozę, hamując ich proliferację i promując prawidłowe różnicowanie. W pracy przedstawiono ogólne wiadomości na temat receptorów PPAR oraz skupiono się na właściwościach antyproliferacyjnych ligandów PPAR γ i ich wykorzystaniu w terapii skojarzonej. Terapia skojarzona z użyciem ligandów PPAR γ i innych związków, zwłaszcza retinoidów i swoistych inhibitorów kinaz, może być efektywną strategią w chemioprewencji i leczeniu niektórych typów nowotworów.

Słowa kluczowe:

PPAR • retinoidy • terapia przeciwnowotworowa

Summary

Peroxisome proliferator-activated receptors (PPAR) are transcription factors that belong to the hormone nuclear receptor superfamily. Their main role is control of fatty acid metabolism and to maintain glucose homeostasis. Isotype γ of PPAR can also be implicated in proliferation and cellular differentiation of both normal and cancer cells. Compounds that are PPAR γ ligands have a negative influence on cancer cells and can induce apoptosis, inhibit proliferation or induce cellular differentiation of these cells. This review summarizes general information about PPAR and focuses on anticancer activities of PPAR γ ligands and their use in combined therapy. Combination treatment using PPAR γ ligands and other agents, especially retinoids and specific kinase inhibitors, may be an effective strategy for chemoprevention and treatment of some cancers.

Key words:

PPAR • retinoids • anticancer therapy

Full-text PDF:

<http://www.phmd.pl/fulltxt.php?ICID=949463>

Word count:

3924

Tables:

2

Figures:

4

References:

83

Adres autora:

dr hab. Andrzej Rapak, Laboratorium Immunobiologii Molekularnej Nowotworów, Instytut Immunologii i Terapii Doświadczalnej PAN, Weigla 12, 53-114 Wrocław; e-mail: rapak@iitd.pan.wroc.pl



WSTĘP

Receptory aktywowane proliferatorami peroksydomów, oznaczane skrótem PPAR (peroxisome proliferator-activated receptors), to czynniki transkrypcyjne, należące do rodziny jądrowych receptorów hormonów, do której należą również m.in.: receptor hormonu tarczycy – TR (thyroid hormone receptor), receptor kwasu retinowego – RAR (retinoid acid receptor), receptor witaminy D₃ – VDR (vitamin D₃ receptor) [44]. Ich główną rolą jest kontrola metabolizmu kwasów tłuszczowych i utrzymanie homeostazy glukozy, poprzez regulację transportu i przemiany kwasów tłuszczowych [14]. Ponadto odgrywają one ważną rolę w proliferacji i różnicowaniu się komórek [7].

Receptory PPAR po raz pierwszy opisali Isabelle Issemann i Stephen Green [25]. Zostały one wyizolowane z komórek mysiej wątroby jako czynniki, które ulegały aktywacji i pośredniczyły w efektach wywołanych po podaniu związków określanych jako proliferatory peroksydomów (PP). PP to określenie odnosi się do grupy związków, które wykazują swoiste działanie plejotropowe i w hepatocytach gryzoni powodują drastyczny wzrost liczby peroksydomów, co uważane było za potencjalną przyczynę nowotworów wątroby. Dzisiaj złożona nazwa – receptory aktywowane proliferatorami peroksydomów – ma już jedynie znaczenie historyczne, ponieważ aktywacja PPAR nie wywołuje wzrostu liczby peroksydomów u ludzi i innych ssaków [10].

Dotychczas zidentyfikowano trzy izotypy PPAR: α , β/δ i γ . Każdy z nich jest produktem osobnego genu. Ponadto wykazują one różny profil ekspresji w tkankach, aktywację przez swoiste dla danego typu ligandy i są zaangażowane w różne, chociaż często komplementarne procesy komórkowe [62].

PPAR α jest członkiem tej podklasy receptorów, który został wyizolowany jako pierwszy [25]. Jest on głównie ekspresjonowany w tkankach, które wykazują wysoki poziom katabolizmu kwasów tłuszczowych, czyli w sercu, wątrobie, nerce [4,48]. PPAR α odgrywa ważną rolę w regulacji metabolizmu lipidów. Aktywacja tego receptora wpływa na transkrypcję głównych enzymów zaangażowanych w β -oksydację kwasów tłuszczowych zachodzącą zarówno w peroksydomach, jak i mitochondrium, mikrosomalną ω -oksydację, syntezę ciał ketonowych, transport i przemiany kwasów tłuszczowych [14,40].

Drugi izotyp PPAR jest często oznaczany jako β/δ . Odmienność w oznaczaniu wynika z różnic jakie wykazuje ten izotyp między gatunkami. Po raz pierwszy izotyp β wyizolowano z oocyta żaby. Po wyizolowaniu kolejnego izotypu z myszy, ze względu na nieduży stopień podobieństwa sekwencji do wcześniej odkrytych izotypów, oznaczono go jako δ . Jednakże wyizolowanie tylko trzech izotypów PPAR z kurczęcia i porównanie sekwencji wszystkich dotąd wyizolowanych receptorów z tej grupy wykazało, że PPAR oznaczany jako δ u ssaków jest ortologiem PPAR β u płazów i że jest to ten sam izotyp [62].

PPAR β/δ jest ekspresjonowany we wszystkich tkankach na podobnym poziomie [48], chociaż poziom ekspresji w niektórych organach, takich jak łożysko i jelita zależy od

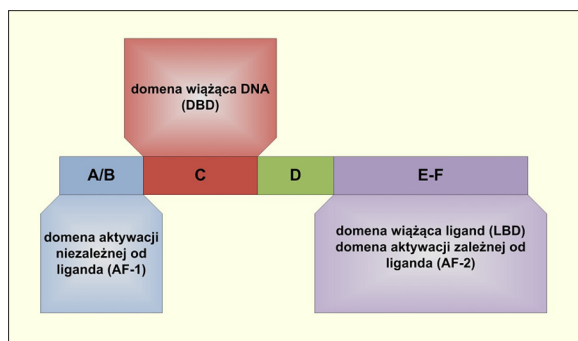
poziomu zróżnicowania i proliferacji komórek [6]. Mimo iż PPAR β/δ jest najbardziej powszechnym izotypem, to jego rola w komórkach jest mało poznana. Do tej pory wykazano, że jest on zaangażowany w kontrolę homeostazy energetycznej i termogenezy. Bierze udział w regulacji β -oksydacji kwasów tłuszczowych i transportu cholesterolu, dlatego też jego ligandy są proponowane jako leki w leczeniu chorób metabolicznego syndromu X. Ponadto odgrywa ważną rolę w proliferacji keratynocytów i procesie gojenia ran [80].

PPAR γ jest obecnie najlepiej poznany izotypem. U ludzi zidentyfikowano cztery różne typy cząsteczek mRNA dla PPAR γ ($-\gamma 1$, $-\gamma 2$, $-\gamma 3$, $-\gamma 4$). Powstają one w wyniku rozpoczęcia transkrypcji w różnych miejscach promotorowych oraz alternatywnego splicingu [67]. Gen PPAR γ składa się z 9 eksonów: A1, A2, B i eksony oznaczone 1–6. W skład każdego typu mRNA PPAR wchodzi eksony 1–6. mRNA PPAR $\gamma 4$ składa się tylko z tych sześciu eksonów, natomiast pozostałe mRNA są zbudowane jeszcze z dodatkowych eksonów. mRNA PPAR $\gamma 1$ jest kodowany przez eksony A1, A2 oraz eksony 1–6, natomiast mRNA PPAR $\gamma 2$ i PPAR $\gamma 3$ przez siedem eksonów, odpowiednio dla PPAR $\gamma 2$: ekson B i eksony 1–6, a dla PPAR $\gamma 3$: ekson A2 i eksony 1–6. Mimo że istnieją aż 4 typy mRNA dla PPAR γ , istnieje on tylko w dwóch izoformach białkowych, oznaczanych jako PPAR $\gamma 1$ i PPAR $\gamma 2$. Z cząsteczek mRNA oznaczanych jako PPAR $\gamma 1$, PPAR $\gamma 3$ i PPAR $\gamma 4$ powstaje izoforma białka PPAR $\gamma 1$, która jest zbudowana z 477 aminokwasów. Z mRNA PPAR $\gamma 2$ powstaje natomiast białko oznaczane jako izoforma PPAR $\gamma 2$, zawierająca dodatkowe 28 aminokwasów na aminowym końcu białka, które są zaktwowane w eksonie B.

Izoformy PPAR γ są ekspresjonowane na różnym poziomie w różnych tkankach. Izoforma PPAR $\gamma 2$ jest głównie ekspresjonowana na wysokim poziomie w tkance tłuszczowej, gdy izoforma PPAR $\gamma 1$ wykazuje znacznie szerszy wzór ekspresji i jest obecna w tkance tłuszczowej, jelicie grubym, nerce i mięśniach szkieletowych [67].

PPAR γ jest uważany za regulatora metabolizmu lipidów. Najszerzej poznana rolę jaką pełni ten receptor w organizmie jest udział w regulacji adipogenezy, która jest procesem różnicowania komórkowego preadipocytów w dojrzałe komórki tkanki tłuszczowej (adipocyty). Typ γ receptora PPAR jest ekspresjonowany na najwyższym poziomie w tkance tłuszczowej [68], ponadto wykazano, że poziom jego ekspresji wzrasta wraz ze stopniem różnicowania adipocytów [12]. W tkance tłuszczowej receptory te działają poprzez regulację ekspresji genów związanych z przemianą i transportem lipidów [7]. Ich aktywacja indukuje ekspresję białek niezbędnych w procesie adipogenezy, takich jak: białko aP2, karboksykinaza fosfoenolopirogronianu, lipaza lipoprotein, które uważane są za markery tego procesu [68]. Uważa się również, że PPAR γ odgrywa ważną rolę w uwrażliwianiu komórek na insulinę, ponieważ jest modulatorem stężenia kwasów tłuszczowych, przez co uczestniczy w regulacji homeostazy glukozy.

Ponieważ PPAR γ bierze udział w regulacji dróg metabolicznych, to może on również wpływać na proliferację, przeżywalność i różnicowanie się komórek. Ligandy PPAR γ opisano jako czynniki hamujące wzrost, promujące



Ryc. 1. Budowa domenowa receptora PPAR γ . W regionach strukturalnych: A/B, C, D i E-F znajdują się funkcjonalne domeny: AF-1 – domena aktywacji niezależnej od liganda, DBD – domena wiążąca DNA, LBD – domena wiążąca ligand, AF-2 – domena aktywacji zależnej od liganda

różnicowanie i indukujące apoptozę komórek nowotworowych. Dane literaturowe wskazują, że receptory PPAR, zwłaszcza izotyp γ , mogą być celem terapii przeciwnowotworowej w raku jelita, gruczołu sutkowego, prostaty oraz nowotworów układu limfatycznego. W pracy skupiono się na właściwościach antyproliferacyjnych PPAR γ .

BUDOWA DOMENOWA PPAR γ

Wszystkie izotypy PPAR wykazują budowę domenową, charakterystyczną dla nadrodziny receptorów jądrowych, do której należą. Zbudowane są z czterech regionów strukturalnych: A/B, C, D i E-F, w których wyróżnić można cztery domeny funkcjonalne: AF-1, DBD, LBD i AF-2 [57] (ryc. 1).

Region strukturalny A/B jest umiejscowiony na aminowym końcu białka. W jego obrębie znajduje się domena AF-1 (ligand-independent activation function), która odpowiada za aktywację transkrypcji genów niezależną od liganda [72]. W regionie A/B znajduje się ponadto reszta serynowa, która może ulegać fosforylacji. Fosforylacja jest jednym z bardzo ważnych mechanizmów regulacji aktywności białek, w tym również receptorów jądrowych. Doświadczalnie wykazano, że aminokwasem ulegającym fosforylacji w PPAR γ jest seryna 82 i 112 (S82/S112) odpowiednio dla izoformy PPAR γ 1 i PPAR γ 2. Aminokwas ten zidentyfikowano w obrębie sekwencji PASP, która jest odpowiednikiem konsensusowej sekwencji MAPK (mitogen-activated protein kinase) [1]. Kinazy MAP są białkami, które regulują odpowiedź komórki na czynniki zewnętrzne (np. czynniki stresowe, cytokiny, czynniki wzrostu), a poprzez fosforylację, m.in. receptorów jądrowych mogą wpływać na takie procesy jak apoptoza, różnicowanie czy też podział komórek [28]. Fosforylacja S82/S112 może prowadzić do zmian w obrębie domeny AF-1, co wpływa na jej oddziaływanie z LBD oraz na wiązanie się kofaktorów, powodując uwalnianie kompleksu korepresorów i wiązanie kompleksu koaktywatorów. W efekcie końcowym prowadzi to do utraty aktywności transkrypcyjnej przez PPAR γ [63].

Region strukturalny C jest fragmentem zawierającym największą liczbę sekwencji homologicznych wśród wszystkich receptorów jądrowych hormonów steroidowych. Znajduje się tutaj domena odpowiedzialna za oddziaływanie receptora z DNA – DBD (DNA binding domain). W obrębie

tej domeny znajdują się dwa motywy palca cynkowego, które biorą udział w wiązaniu się receptora do sekwencji promotorowej docelowego genu [57]. Ponadto w regionie tym znajdują się pojedyncze aminokwasy, które biorą udział w rozpoznawaniu elementu odpowiedzi znajdującego się na promotorze oraz wspomagają wiązanie się do DNA poprzez tworzenie dodatkowych wiązań wodorowych. Wykazano również, że w przypadku PPAR γ , domena DBD oddziałuje z domeną LBD-PPAR γ i domeną DBD-RXR α , przez co stabilizuje i umacnia oddziaływanie z DNA [11].

Region D jest najkrótszym ze wszystkich strukturalnych regionów. Często nazywany „regionem łącznikowym” (hinge region). Nie ma on struktury drugorzędowej, przez co jest bardziej elastyczny, tworząc ruchome połączenie między regionami C i E-F, które umożliwia zmiany konformacyjne między aktywną i nieaktywną postacią białka [57].

Region strukturalny E-F jest najlepiej poznanym u PPAR γ regionem. Jest on bardzo ważny, ponieważ spełnia ważne dla aktywności PPAR γ role: wiąże ligand, kofaktory i oddziałuje z partnerem białkowym. W regionie tym znajdują się dwie domeny funkcjonalne: LBD (ligand binding domain) - która odpowiada za wiązanie liganda oraz AF-2 (ligand-dependent activation function) – określana jako domena aktywacji zależnej od liganda.

Badania nad strukturą drugorzędową LBD wykazały, że kieszeń wiążąca ligand kształtem przypomina literę „Y” i jest znacznie większa w porównaniu do kieszeni innych receptorów jądrowych. Ponadto samo wejście i większość przestrzeni wiążącej ligand składa się głównie z aminokwasów hydrofobowych. Cechy te sprawiają, że receptory PPAR w odróżnieniu od pozostałych receptorów mogą wiązać wiele ligandów, które są dużymi hydrofobowymi cząsteczkami [83]. Jednocześnie należy zwrócić uwagę, że mimo iż część ligandów, zwłaszcza endogennych, ma zdolność do aktywacji wszystkich trzech izotypów PPAR, to bardzo często obserwuje się również swoistość w wiązaniu ligandów do każdego z izotypu PPAR [76].

LIGANDY DLA PPAR

Związki, które mają zdolność do łączenia się z PPAR i ich aktywacji tworzą bardzo zróżnicowaną grupę. Ogólnie możemy je podzielić na ligandy endogenne, czyli takie, które występują w komórkach lub powstają w szlakach metabolicznych oraz ligandy egzogenne, czyli syntetyczne związki, dla których potwierdzono zdolność do aktywacji PPAR oraz te stworzone specjalnie na wzór endogennych ligandów. Większość ligandów wykazuje dużą selektywność wobec trzech izotypów PPAR, która wynika głównie z różnic w budowie kieszeni wiążącej ligand. Jednak część ligandów, szczególnie tych endogennych wykazuje zdolność do aktywacji wszystkich trzech izotypów, chociaż różni się ona poziomem i zależy od stężenia liganda, poziomu ekspresji receptora i typu komórki [73].

Najbardziej znanymi naturalnymi ligandami są kwasy tłuszczowe. Nasycone kwasy tłuszczowe słabo aktywują PPAR, natomiast kwasy wielonienasycone aktywują wszystkie izotypy PPAR, przy czym najwyższe powinowactwo wykazują wobec PPAR α . Do najbardziej aktywnych ligandów

należą kwas linolowy, linolenowy i arachidonowy, które aktywują PPAR w stężeniach mikromolarnych, zbliżonych do fizjologicznych [34]. Ligandami dla tych receptorów są również związki, które powstają w wyniku przemian metabolicznych tych kwasów, tak jak np. utlenione metabolity kwasu linolowego: 13-HODE (13-hydroxy-octadecadienoic acid) i 9-HODE, które wchodzą w skład LDL (low density lipoproteins) [49]. Metabolity kwasu arachidonowego również wykazują zdolność do aktywacji tej grupy receptorów. Wśród nich znaleźć można związki wysoce selektywne wobec izotypu PPAR γ , takie jak 15d-PGJ2 (15-deoxy-prostaglandyna J2) [30].

Większość syntetycznych ligandów PPAR ma właściwości farmakologiczne i obecnie jest stosowana do leczenia chorób metabolicznych.

Pierwszą z grup, dla której wykazano właściwości aktywujące PPAR były fibraty. Należą do niej m.in. bezafibrat, gemfibrozil, fenofibrat, clio-fibrat, związki, które obniżają stężenie LDL i triglicerydów w osoczu i są najczęściej stosowane w leczeniu dyslipidemii [66]. Fibraty wykazują dużą swoistość wobec PPAR α [16].

Drugą grupą związków syntetycznych, dla których wykazano, że aktywują PPAR są tiazolidinediony (TZD). Wykazują one bardzo dużą swoistość wobec izotypu PPAR γ . Nie zaobserwowano, aby nawet w dużych stężeniach wiązały się lub aktywowały pozostałe dwa izotypy [39]. Do grupy tej należą m.in.: troglitazon, ciglitazon, rozigitazon, pioglitazon. Obecnie związki z tej grupy wykorzystuje się w leczeniu cukrzycy typu 2, która jest związana z insulinopornością [66]. Najważniejszym efektem działania TZD jest zmniejszanie insulinoporności. Uwrażliwiają one komórki wątroby i mięśni szkieletowych na działanie insuliny, ale dokładny mechanizm wywołujący ten efekt nie jest poznany. Pierwszym wprowadzonym na rynek lekiem z tej grupy był troglitazon (nazwa handlowa: Rezulin), który jednak dość szybko wycofano, ponieważ powodował rzadkie, ale poważne uszkodzenia wątroby. Obecnie na rynku dostępne są dwa preparaty z tej grupy: pioglitazon (nazwa handlowa: Actos) oraz rozigitazon (nazwa handlowa: Avandia), ten ostatni jest dostępny na rynku polskim. Dotychczasowe badania wskazują, że te dwa leki nie wykazują działań niepożądanych, takich jak troglitazon, chociaż nie są ich również pozbawione, a do najpoważniejszych należy przyrost masy ciała, który można wytłumaczyć mechanizmem molekularnym działania tych leków.

Stwierdzono, że niektóre klasyczne niesteroidowe leki przeciwnzapalne (NLPZ) są również ligandami dla PPAR. Związki te wykazują zdolność do wiązania się i aktywacji PPAR α i PPAR γ . Najsilniejszym i najbardziej swoistym ligandem izotypu gamma okazała się indometacyna. PPAR γ aktywowany był również przez kwas flufenamowy, ibuprofen i fenoprofen [38]. Związki z grupy NLPZ wpływają na proces adipogenezy i w zależności od stężenia mogą być inhibitorami lub aktywatorami różnicowania adipocytów. Wykazano, że przy małych stężeniach NLPZ następuje tylko zahamowanie białek COX i brak różnicowania adipocytów. Natomiast w wyższych mikromolarnych stężeniach nie tylko hamują białka COX, ale jednocześnie aktywują PPAR γ . Dalsze badania wykazały, że ligandami PPAR γ są tylko nieswoiste inhibitory COX (hamują COX1 i COX2). Natomiast swoiste inhibitory COX nie aktywują PPAR γ [50].

Niektóre z nowo syntetyzowanych pochodnych trójarylo-metanu (C-DIMs) o właściwościach antyproliferacyjnych okazały się ligandami receptora PPAR γ . Z kolei pochodne dwuarylowe aktywowały inne receptory jądrowe AR, ER i Nur77 [59].

Ekstrakty wodne lub alkoholowe z niektórych ziół i przypraw, wykazujące działanie antyhiperglikemiczne i antyhiperlipidyczne, również działają poprzez aktywację PPAR α i PPAR γ . Zidentyfikowano wiele związków chemicznych, które są bezpośrednimi ligandami receptorów PPAR (tymol, karwakrol, kapsaicyna, karnosol) [55,64].

W tabeli 1 zebrano przykłady najważniejszych grup ligandów dla PPAR, a na ryc. 2 przedstawiono wzory strukturalne kilku wybranych.

MECHANIZM REGULACJI TRANSKRYPCJI GENÓW

PPAR są czynnikami transkrypcyjnymi i ich podstawową funkcją jest regulacja transkrypcji docelowych genów. Mechanizm ich działania jest bardzo podobny do innych receptorów jądrowych z tej rodziny. Na rycinie 3 przedstawiono schemat regulacji transkrypcji docelowych genów przez PPAR γ , który został krótko omówiony w tekście niżej.

Aby związać się z elementem odpowiedzi na promotorze i aktywować transkrypcję docelowego genu PPAR γ wymaga utworzenia dimeru z innym czynnikiem transkrypcyjnym, którym jest receptor retinoidu X – RXR [68].

RXR należy do tej samej rodziny receptorów jądrowych co PPAR [51]. Wykryto, że w organizmach ssaków ekspresjonowane są trzy izoformy RXR oznaczone jako: α , β , γ [42]. Związkiem, który aktywuje RXR jest izomer 9 *cis* kwasu retinowego, który powstaje w organizmie w wyniku przemian metabolicznych pochodnych witaminy A, dostarczanych z pożywienia [22]. RXR może tworzyć heterodimery z różnymi receptorami jądrowymi. Wykazano, że może on tworzyć heterodimery z takimi czynnikami transkrypcyjnymi jak receptory: witaminy D₃ (VDR), kwasu retinowego (RAR) i hormonu tyroidowego (TR) [54]. Rola aktywacji RXR w komórce nie została ustalona. Ze względu na możliwość oddziaływania z wieloma czynnikami, można stwierdzić ogólnie, że bierze on udział w regulacji przekazywania sygnałów w komórkach.

Receptory, które tworzą heterodimery z RXR wiążą się do elementów odpowiedzi na DNA, które są powtórzeniem swoistej dla danego typu receptora konsensusowej sześcioklebotydydowej sekwencji oddzielonej przez n nukleotydem (DRn). Heterodimery PPAR/RXR wiążą się do elementu odpowiedzi oznaczanego jako PPRE (peroxisome proliferator response elements), który jest typu DR1 i składa się z powtórzonej sekwencji AGGTC A, oddzielonej jednym nukleotydem [71]. Wiązanie się heterodimeru PPAR/RXR do tej sekwencji jest spolaryzowane. PPAR wiąże się od końca 5', natomiast RXR oddziałuje z dalszym fragmentem [24]. Ważnym dla swoistości oddziaływania z PPRE jest fragment okalający koniec 5', który wpływa na swoistość wiązania się każdego z trzech izotypów PPAR. Chociaż PPAR γ wykazuje znacznie większe powinowactwo do elementów odpowiedzi PPRE na różnych genach, to nie wymaga on zachowania konkretnej konsensusowej sekwencji.

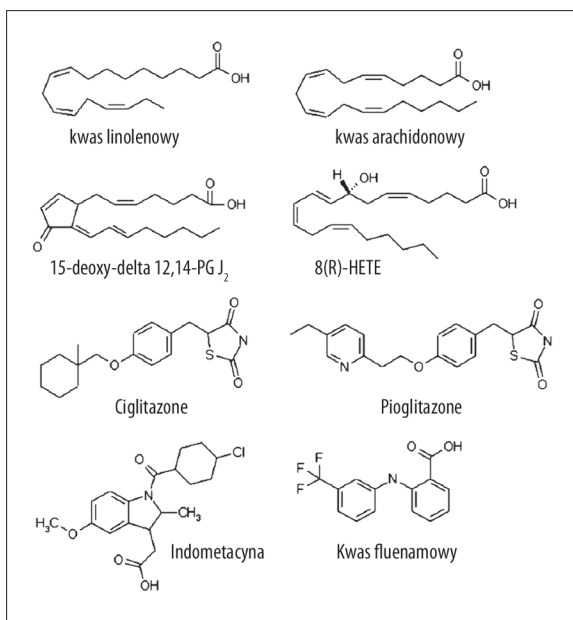
Tabela 1. Przykłady ligandów PPAR

Rodzaj liganda	Stężenie aktywujące PPAR γ (μ M)	Reakcja krzyżowa z	
		PPAR α	PPAR β
Kwasy tłuszczowe			
arachidonowy	30-100	+	+
linolenowy	30-100	+	+
linolowy	30-100	+	+
erukowy	30-100	-	b.d.
laurowy	30-100	-	b.d.
Eikosanoidy			
8S-HETE	3	+	-
8R-HETE	3	-	-
13S-HODE	5-15	-	-
15d-PGJ2	1-10	+	+
TZD			
Ciglitazon	5-20	-	-
Pioglitazon	5-20	-	-
Rosiglitazon	0,1-1	-	-
Troglitazon	1-10	-	-
NSAID			
Indometacyna	10-100	-	-
Ibuprofen	100-1000	+	-
Diclofenac	100-200	+	-
Sulindac	40-400	+	-
Fenoprofen	50-200	+	-
Kwas flufenamowy	100-200	+	-
C-DIMs			
DIM-C-pPhCF3	5-25	+	-
DIM-C-pPhTbu	10-20	b.d.	b.d.
DIM-C-pPhC6H5	10-20	b.d.	b.d.
Inne			
Karwakrol	200-400	+	-
Tymol	200-400	+	-
Karnosol	b.d.	b.d.	b.d.
Kapsaicyna	b.d.	b.d.	b.d.
Geranylogeraniol	b.d.	b.d.	b.d.
Farnesol	b.d.	b.d.	b.d.
Farglitazar	b.d.	+	-
GW1929	0,1-1	-	-
CDDO	1	-	-

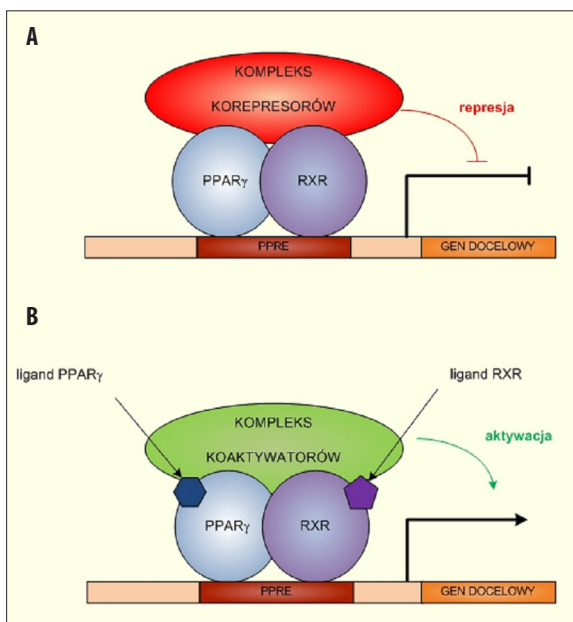
„+” – reakcja pozytywna, „-” – reakcja negatywna, „b.d.” – brak danych.

Natomiast w przypadku PPAR α zachowanie określonej sekwencji konsensusowej fragmentu okalającego koniec 5' ma duży wpływ na zdolność wiązania się tego receptora do PPRE [26]. Elementy odpowiedzi PPRE znaleziono głównie w promotorach genów białek biorących udział w metabolizmie kwasów tłuszczowych, m.in.: oksydazy acetylokoenzymu A, cytochromu P450, syntetazy hydroksymetyloglutarylo-CoA, apolipoproteiny AI, białka wiążącego kwasy tłuszczowe FABP (fatty acid binding protein) [14].

Mechanizm aktywacji transkrypcji genów przez PPAR jest również regulowany przez oddziaływanie heterodimeru PPAR/RXR z różnymi kofaktorami. Pod nieobecność ligandów PPAR/RXR wiąże się z korepresorami, takimi jak N-CoR (nuclear receptor corepressor) lub SMRT (silencing mediator for retinoid and thyroid hormone receptor), które dodatkowo wiążą deacetylazę histonu 3 (HDAC3), co prowadzi do represji docelowego genu [82]. Związanie się z ligandem powoduje



Ryc. 2. Wzory strukturalne wybranych ligandów PPAR γ

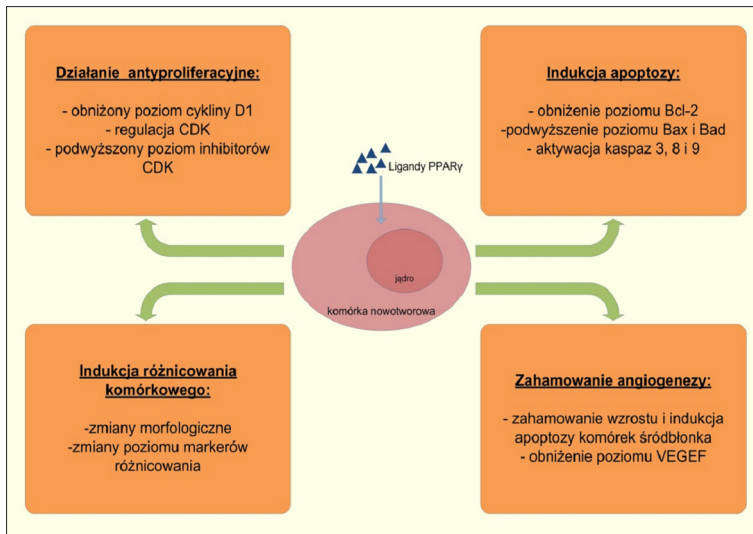


Ryc. 3. Schemat regulacji transkrypcji genów przez PPAR γ ; PPRE – element odpowiedzi na proliferatory peroksisomów, PPAR γ – receptor aktywowany proliferatorami peroksisomów γ , RXR – receptor retinoidu X

zmiany konformacyjne w strukturze receptora PPAR, odłączenie się kompleksu korepresorów i przyłączenie się różnych koaktywatorów [83]. Do grupy koaktywatorów PPAR należą: SRC-1, CBP/p300, PGC-1. W odpowiedzi na związanie się z tymi białkami uruchamiana jest aktywacja transkrypcji docelowego genu przez dekondensację chromatyny i zatrudnienie maszyny inicjującej transkrypcję [14].

MECHANIZMY PRZECIWNOWOTWOROWEGO DZIAŁANIA LIGANDÓW PPAR γ

Ligandy PPAR γ uważane są za jeden z czynników biorących udział w utrzymaniu homeostazy w komórce przez

Ryc. 4. Molekularne mechanizmy przeciwnowotworowego działania ligandów PPAR γ

swoje zaangażowanie w regulację dróg metabolicznych. Poziom ich ekspresji i aktywacji może mieć wpływ na różnicowanie się komórek, ich proliferację i przeżywalność. W literaturze coraz częściej pojawiają się próby wyjaśnienia wpływu aktywacji PPAR γ na wyżej wymienione procesy w komórkach nowotworowych. W wielu badaniach wykazano, że związki, które są ligandami PPAR γ wywierają negatywny wpływ na rozwój komórek nowotworowych [62].

W wielu badaniach wykazano, że PPAR γ jest ekspresjonowany w liniach komórek rakowych, używanych jako systemy modelowe do badań molekularnych, m.in.: raka prostaty [35,47], raka gruczołu sutkowego [46], raka pęcherza moczowego [19], raka płuca [27], białaczkach [32]. Jego ekspresję wykrywano nie tylko w liniach komórkowych prowadzonych *in vitro*, ale również w tkankach nowotworowych pobieranych od pacjentów. W licznych badaniach wykazano, że w liniach komórkowych, w których ekspresjonowany jest PPAR γ , związki, które są potencjalnymi ligandami tego receptora działają przeciwnowotworowo, hamując wzrost komórek nowotworowych i powodując ich śmierć.

Powyższe obserwacje skłoniły naukowców do postawienia hipotezy, że aktywacja PPAR γ może się stać potencjalnym celem w alternatywnym leczeniu nowotworów. W trakcie już kilkunastoletnich badań próbowano wyjaśnić rolę PPAR γ i jego aktywacji w zahamowaniu procesu rozwoju komórek nowotworowych. Okazało się, że rola ta nie jest jednokierunkowa i oczywista i zależy od typu komórki i rodzaju używanego liganda. Wśród potencjalnych mechanizmów przeciwnowotworowego działania ligandów dla PPAR γ (ryc. 4) wyróżniono:

- pobudzanie różnicowania komórkowego,
- działanie antyproliferacyjne,
- indukcję apoptozy,
- zahamowanie angiogenezy.

Pobudzanie różnicowania komórkowego

W pierwszych etapach badań nad przeciwnowotworowymi właściwościami związków, które aktywują PPAR γ , wykazano, że pobudzają one różnicowanie niektórych linii

nowotworowych. Taki kierunek badań narzuciły wcześniejsze obserwacje, że aktywacja PPAR γ odgrywa główną rolę w różnicowaniu komórek tkanki tłuszczowej.

Podawanie pioglitazonu, związku z grupy tiazolidinodionów, indukowało proces różnicowania w komórkach ludzkiego tłuszczakomiesaka, który charakteryzował się zwiększonym nagromadzeniem lipidów wewnątrz komórek, zmianami morfologicznymi i ekspresją białek charakterystycznych dla zróżnicowanych adipocytów [69].

Również w przypadku komórek raka gruczołu sutkowego, związek z tej samej grupy, troglitazon powodował znaczące zmiany morfologiczne i akumulację lipidów w komórkach. Ponadto zauważono zmniejszenie tempa wzrostu komórek nowotworowych oraz zmianę ekspresji genów związanych ze stopniem zróżnicowania. Komórki traktowane troglitazonem miały zwiększone stężenie białka maspiny, które jest obecne w prawidłowych zróżnicowanych komórkach tej tkanki oraz znacznie obniżoną ekspresję białek związanych ze stopniem złośliwości (mucyna 1, keratyna 19) [46].

Działanie antyproliferacyjne

W trakcie badań nad rolą PPAR γ w procesie adipogenezy, Altiok i wsp. zauważyli, że ektopowa ekspresja tego receptora w linii mysich fibroblastów (NIH 3T3) powoduje nie tylko indukcję różnicowania się tych komórek do komórek tkanki tłuszczowej, ale również wpływa znacząco na zahamowanie wzrostu tych komórek [2].

Obserwacje te zmieniły spojrzenie na PPAR γ , nie tylko jako na czynnik biorący udział w różnicowaniu komórek, ale również jako na czynnik wpływający na zahamowanie wzrostu komórek.

Aktywacja PPAR γ , przez podanie swoistych ligandów, powoduje zahamowanie wzrostu w niektórych modelach komórek rakowych. Zahamowanie wzrostu najczęściej odbywa się przez zatrzymanie komórek w fazie G1. Postęp cyklu komórkowego jest regulowany zmianami ekspresji i aktywności dwóch rodzajów cząsteczek: cyklin i kinaz zależnych od cyklin (CDKs – cyclin-dependent kinases), które w odpowiednim etapie cyklu komórkowego tworzą

aktywne katalityczne kompleksy i powodują kaskadę fosforylacji docelowych białek [60]. Aktywacja PPAR γ może wpływać na obie te grupy.

W badaniach nad wpływem ligandów PPAR γ na komórki linii A549, czyli ludzkiego niedrobnokomórkowego raka płuca, wykazano, że troglitazon znacząco wpływa na zahamowanie wzrostu tych komórek rakowych i powoduje wzrost ich liczby w fazie G1 cyklu komórkowego. Ponadto zaobserwowano, że związek ten powoduje znaczne obniżenie stężenia cykliny D1 [27], której aktywność jest potrzebna komórce do przejścia punktu kontrolnego G1/S [60]. Podobne efekty po podaniu ligandów PPAR γ obserwowano również na liniach raka trzustki [70], gruczołu sutkowego [81], pęcherza moczowego [19].

W niektórych przypadkach obserwowane zatrzymanie w fazie G1 cyklu komórkowego wynikało nie tylko z obniżenia stężenia cykliny D1, ale również towarzyszyło temu obniżenie aktywności CDKs. W przypadku podawania troglitazonu komórkom ludzkiego raka gruczołu sutkowego MCF7, mimo braku znacznej zmiany poziomu ekspresji CDK2 i 4 zaobserwowano znaczący spadek ich aktywności katalitycznej [81].

W regulacji aktywności kompleksów cyklina/CDK biorą również udział białkowe inhibitory CDKs. Zastosowanie ligandów PPAR γ może wpływać na poziom ich ekspresji. W przypadku podawania troglitazonu komórkom raka trzustki obserwowano podwyższoną ekspresję p27 i brak zmian w ekspresji p21 i p18 [45]. W komórkach raka pęcherza moczowego ten sam związek zwiększał ekspresję p21 i p16 [19], a w liniach raka wątrobowokomórkowego podwyższał ekspresję p21 i p27 [31]. Różnice w oddziaływaniu na zmianę ekspresji inhibitorów CDKs tego samego związku chemicznego mogą wskazywać, że działanie ligandów dla PPAR γ zależy od typu komórek, w związku z różnymi szlakami sygnałowymi regulującymi wzrost i przeżywalność komórek.

Zahamowanie angiogenezy

Angiogeneza, czyli formowanie się naczyń krwionośnych, jest procesem zaangażowanym w wiele prawidłowych procesów fizjologicznych, takich jak embriogeneza czy gojenie się ran. Jednakże angiogeneza jest również ważnym procesem w rozwoju nowotworów, ponieważ tworzenie się nowych naczyń krwionośnych w okolicy guzów nowotworowych stwarza odpowiednie warunki do ich wzrostu. Zahamowanie procesu angiogenezy może zmniejszać tempo wzrostu guzów pierwotnych oraz możliwości przerzutowania.

Ligandy PPAR γ mogą hamować proces angiogenezy zaangażowany w zezłożliwienie i przerzutowanie. Związki te działają bezpośrednio przez wpływ na proliferację komórek śródbłonka oraz pośrednio np. zmniejszając ekspresję czynników angiogennych.

Wykazano, że PPAR γ jest ekspresjonowany w komórkach śródbłonka. Aktywacja tego receptora przez swoiste ligandy powodowała zahamowanie wzrostu i różnicowania ludzkich komórek śródbłonka żyły pępowinowej (HUVEC – human umbilical vein endothelial cells) [75]. Bishop-Bailey i Hla wykazali natomiast, że komórki tej linii komórkowej po traktowaniu ligandami PPAR γ ulegają apoptozie zależnej od kaspaz [8].

Panigrahy i wsp. wykazali, że PPAR γ jest wysoko ekspresjonowany w komórkach śródbłonka wyizolowanych z okolic guzów nowotworowych. Poziom ekspresji receptora był nawet wyższy niż w sąsiadującej tkance nowotworowej. Stymulacja komórek śródbłonka rosiglitazonem zmniejszała w znacznym stopniu ich proliferację. Ponadto systematyczna terapia rosiglitazonem obniżała wzrost guzów pierwotnych tłuszczakomięśnaka, glejaka i mięśniakomięśnaka [52].

Oprócz działań bezpośrednich na komórki śródbłonka zaobserwowano, że związki aktywujące PPAR γ wpływają również na ekspresję czynników angiogennych. Ligandy PPAR γ powodują obniżenie stężenia czynnika wzrostu naczyniowo-śródbłonkowego (VEGF – vascular endothelial growth factor) [74]. Ponadto aktywacja PPAR γ powoduje obniżenie stężenia leptyny i czynnika nekrozy nowotworów α (TNF- α – tumor necrosis factor α) [53], które również mogą powodować indukcję angiogenezy [65].

SKOJARZONA TERAPIA PRZECIWNOWOTWOROWA Z WYKORZYSTANIEM LIGANDÓW PPAR

Monoterapia z wykorzystaniem klasycznych cytostatyków jest mało skuteczna i swoista, przy wielu działaniach niepożądanych. Również próby kliniczne z użyciem ligandów PPAR γ w leczeniu nowotworów wykazują, że zastosowanie tych związków w monoterapii nie jest skuteczne w zwalczaniu chorób nowotworowych. Dlatego też alternatywnym rozwiązaniem może być zastosowanie kombinacji tych ligandów z innymi związkami, a zwłaszcza z retinoidami, ponieważ ich połączenie wykazuje synergistyczne działanie na zahamowanie wzrostu komórek nowotworowych w badaniach *in vitro*.

W literaturze opisano wiele przykładów synergistycznego współdziałania ligandów PPAR i RXR w schorzeniach hematologicznych. Kombinacja ciglitazonu i ATRA obniżała wzrost komórek białaczki szpikowej HL-60 poprzez zatrzymanie komórek w fazie G1, któremu towarzyszył wzrost ekspresji fosfatazy PTEN [37]. Troglitazon w połączeniu z ATRA indukował różnicowanie i apoptozę komórek białaczek limfoidalnych i szpikowych [32].

W estrogenozależnych komórkach raka piersi kombinacja ligandów hamowała ekspresję aromatazy odpowiedzialnej za syntezę estrogenów [58]. Ciglitazon i 9-cRA synergistycznie hamował ekspresję białka COX-2 i syntezę prostaglandyn PGE2 w komórkach raka jelita HT-29 [79]. Działanie było wzmacniane przez dodatkowe zahamowanie fosforylacji receptora RXR [77]. Przeciwnowotworowe i przeciwzapalne działanie ligandów PPAR i RXR związane było również z zahamowaniem aktywności NF κ B [13] i β -kateniny [9]. Aktywacja PPAR γ oraz receptorów RXR i RAR z użyciem troglitazonu i 9-cRA lub ATRA synergistycznie hamowało proliferację komórek kostniakomięśnaka [21].

Ligandy PPAR także wzmacniały antyproliferacyjne działanie innych chemioterapeutyków. Użycie pioglitazonu z kwasem walproinowym – inhibitorem deacetylazy histonu efektywniej hamowało wzrost komórek raka prostaty [3] oraz nerwiaka płodowego [15]. TZD18, ligand receptorów PPAR α i γ , w połączeniu z imanitibem (Glivec) indukował wydajniej



apoptozę komórek białaczki limfoblastycznej [41]. Inny inhibitor kinaz tyrozynowych gefitinib efektywniej działał w komórkach raka płuca w połączeniu z ligandem PPAR γ [36]. Rosiglitazon wzmocnił antyproliferacyjne działanie bortezomibu w komórkach ludzkiego czerniaka [17].

Wiele komórek nowotworowych wykazuje zwiększoną lub nawet konstytutywną nadekspresję (aktywność) niektórych kinaz przy jednocześnie obniżonej ekspresji (aktywności) fosfataz. Receptor RXR jest jednym z najistotniejszych receptorów jądrowych, ponieważ tworzy aktywne heterodimery z innymi receptorami jądrowymi [33]. W wielu komórkach nowotworowych (m.in. wątroby, jelita, białaczkach)

stwierdzono akumulację fosforylowanej postaci RXR, która nie ulega proteasomalnej degradacji [43]. Jak opisano wyżej fosforylacji ulega również receptor PPAR, co prowadzi do jego dezaktywacji. Dlatego zahamowanie fosforylacji przywraca prawidłowe funkcjonowanie kompleksu PPAR/RXR i zatrzymanie proliferacji. Przypuszcza się, że połączenie ligandów receptorów PPAR i RXR z inhibitorami odpowiednich kinaz może stanowić skuteczną terapeutyczną strategię w niektórych typach nowotworów.

W tabeli 2 zgromadzono kilka przykładów terapii skojarzonej ligandów PPAR γ z innymi związkami o potencjalnych właściwościach przeciwnowotworowych.

Tabela 2. Przykłady działania połączenia ligandów PPAR γ z innymi związkami o potencjalnym działaniu przeciwnowotworowym

Ligand PPAR γ + inny związek	Rodzaj komórek	Molekularny mediator	Piśmiennictwo
Ciglitazon + kwas 9 <i>cis</i> retinowy	rak jelita kostniakomięsak	kaspaza 3	[79] [20]
Roziglitazon + ATRA	szpiczak mnogi	FLIP, XIAP, surwiwina, kaspaza 3	[23]
Rosiglitazon + bexaroten	chłoniak skóry T-komórkowy	brak danych	[61]
CDDO + HA14-1	przewlekła białaczka limfatyczna (CLL)	Bcl-2, kaspaza 8, 9 i 3	[32]
15d-PGJ2 + indometacyna	rak płuca	brak danych	[5]
Ciglitazon + kwas niflumowy	rak płuca	kaspaza 8, Bid, Bax	[29]
Pioglitazon + rofecoxib	czerniak i mięsak	brak danych	[56]
Troglitazon + aspiryna	rak płuca	CDK2, p27, cyklina B1 i D3	[78]
TZD18 + imatinib	ostra białaczka limfoblastyczna (ALL)	Bax, NFkB	[41]
Rosiglitazon + karboplatyna	rak płuca	metalotioneiny: MT1H, MT1X, MT2A	[18]
Rosiglitazon + gefitinib	rak płuca	PTEN	[36]
Pioglitazon + kwas walproinowy	rak prostaty	E-kateryna	[3]

PIŚMIENNICTWO

- [1] Adams M., Reginato M.J., Shao D., Lazar M.A., Chatterjee V.K.: Transcriptional activation by peroxisome proliferator-activated receptor gamma is inhibited by phosphorylation at a consensus mitogen-activated protein kinase site. *J. Biol. Chem.*, 1997; 272: 5128–5132
- [2] Altiock S., Xu M., Spiegelman B.M.: PPAR γ induces cell cycle withdrawal: inhibition of E2F/DP DNA-binding activity via down-regulation of PP2A. *Genes Dev.*, 1997; 11: 1987–1998
- [3] Annicotte J.S., Iankova I., Miard S., Fritz V., Sarruf D., Abella A., Berthe M.-L., Noël D., Pillon A., Iborra F., Dubus P., Maudelonde T., Culine S., Fajas L.: Peroxisome proliferator-activated receptor γ regulates E-cadherin expression and inhibits growth and invasion of prostate cancer. *Mol. Cell. Biol.*, 2006; 26: 7561–7574
- [4] Auboeuf D., Rieusset J., Fajas L., Vallier P., Frering V., Riou J.P., Staels B., Auwerx J., Laville M., Vidal H.: Tissue distribution and quantification of the expression of mRNAs of peroxisome proliferator-activated receptors and liver X receptor-alpha in humans: no alteration in adipose tissue of obese and NIDDM patients. *Diabetes*, 1997; 46: 1319–1327
- [5] Avis I., Martínez A., Tauler J., Zudaire E., Mayburd A., Abu-Ghazaleh R., Ondrey F., Mulshine J.L.: Inhibitors of the arachidonic acid pathway and peroxisome proliferator-activated receptor ligands have super-additive effects on lung cancer growth inhibition. *Cancer Res.*, 2005; 65: 4181–4190
- [6] Barak Y., Liao D., He W., Ong E.S., Nelson M.C., Olefsky J.M., Boland R., Evans R.M.: Effects of peroxisome proliferator-activated receptor δ on placentation, adiposity, and colorectal cancer. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2002; 99: 303–308
- [7] Berger J., Moller D.E.: The mechanisms of action of PPARs. *Annu. Rev. Med.*, 2002; 53: 409–435
- [8] Bishop-Bailey D., Hla T.: Endothelial cell apoptosis induced by the peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR) ligand 15-deoxy- Δ 12, 14-prostaglandin J2. *J. Biol. Chem.*, 1999; 274: 17042–17048
- [9] Castellone M.D., Teramoto H., Gutkind J.S.: Cyclooxygenase-2 and colorectal cancer chemoprevention: the β -catenin connection. *Cancer Res.*, 2006; 66: 11085–11088
- [10] Cattle R.C., DeLuca J., Elcombe C., Fenner-Crisp P., Lake B.G., Marsman D.S., Pastoor T.A., Popp J.A., Robinson D.E., Schwetz B., Tugwood J., Wahli W.: Do peroxisome proliferating compounds pose a hepatocarcinogenic hazard to humans? *Regul. Toxicol. Pharmacol.*, 1998; 27: 47–60
- [11] Chandra V., Huang P., Hamuro Y., Raghuram S., Wang Y., Burris T.P., Rastinejad F.: Structure of the intact PPAR- γ -RXR- α nuclear receptor complex on DNA. *Nature*, 2008; 456: 350–356

- [12] Chawla A., Schwarz E.J., Dimaculangan D.D., Lazar M.A.: Peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR) gamma: adipose-predominant expression and induction early in adipocyte differentiation. *Endocrinology*, 1994; 135: 798–800
- [13] Desreumaux P., Dubuquoy L., Nutten S., Peuchmaur M., Englaro W., Schoonjans K., Derjard B., Desvergne B., Wahli W., Chambon P., Leibowitz M.D., Colomel J.F., Auwerx J.: Attenuation of colon inflammation through activators of the retinoid X receptor (RXR)/peroxisome proliferator-activated receptor γ (PPAR γ) heterodimer. A basis for new therapeutic strategies. *J. Exp. Med.*, 2001; 193: 827–838
- [14] Desvergne B., Wahli W.: Peroxisome proliferator-activated receptors: nuclear control of metabolism. *Endocr. Rev.*, 1999; 20: 649–688
- [15] Emmans V.C., Rodway H.A., Hunt A.N., Lillycrop K.A.: Regulation of cellular processes by PPAR γ ligands in neuroblastoma cells is modulated by the level of retinoblastoma protein expression. *Biochem. Soc. Trans.*, 2004; 32: 840–842
- [16] Forman B.M., Chen J., Evans R.M.: Hypolipidemic drugs, polyunsaturated fatty acids, and eicosanoids are ligands for peroxisome proliferator-activated receptors α and δ . *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1997; 94: 4312–4317
- [17] Freudspurger C., Thies A., Pfüller U., Schumacher U.: The proteasome inhibitor bortezomib augments anti-proliferative effects of mistletoe lectin-I and the PPAR-gamma agonist rosiglitazone in human melanoma cells. *Anticancer Res.*, 2007; 27: 207–213
- [18] Girnun G.D., Naseri E., Vafai S.B., Qu L., Szwaya J.D., Bronson R., Alberta J.A., Spiegelman B.M.: Synergy between PPAR γ ligands and platinum-based drugs in cancer. *Cancer Cell*, 2007; 11: 395–406
- [19] Guan Y.F., Zhang Y.H., Breyer R.M., Davis L., Breyer M.D.: Expression of peroxisome proliferator-activated receptor γ (PPAR γ) in human transitional bladder cancer and its role in inducing cell death. *Neoplasia*, 1999; 1: 330–339
- [20] Haydon R.C., Zhou L., Feng T., Breyer B., Cheng H., Jiang W., Ishikawa A., Peabody T., Montag A., Simon M.A., He T.C.: Nuclear receptor agonists as potential differentiation therapy agents for human osteosarcoma. *Clin. Cancer Res.*, 2002; 8: 1288–1294
- [21] He B.C., Chen L., Zuo G.W., Zhang W., Bi Y., Huang J., Wang Y., Jiang W., Luo Q., Shi Q., Zhang B.Q., Liu B., Lei X., Luo J., Luo X., Wagner E.R., Kim S.H., He C.J., Hu Y., Shen J., Zhou Q., Rastegar F., Deng Z.L., Luu H.H., He T.C., Haydon R.C.: Synergistic antitumor effect of the activated PPAR γ and retinoid receptors on human osteosarcoma. *Clin. Cancer Res.*, 2010; 16: 2235–2245
- [22] Heyman R.A., Mangelsdorf D.J., Dyck J.A., Stein R.B., Eichele G., Evans R.M., Thaller C.: 9-*cis* retinoic acid is a high affinity ligand for the retinoid X receptor. *Cell*, 1992; 68: 397–406
- [23] Huang H., Wu D., Fu J., Chen G., Chang W., Chow H.C., Leung A.Y., Liang R.: All-trans retinoic acid can intensify the growth inhibition and differentiation induction effect of rosiglitazone on multiple myeloma cells. *Eur. J. Haematol.*, 2009; 83: 191–202
- [24] Jpenberg A., Jeannin E., Wahli W., Desvergne B.: Polarity and specific sequence requirements of peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR)/retinoid X receptor heterodimer binding to DNA. A functional analysis of the malic enzyme gene PPAR response element. *J. Biol. Chem.*, 1997; 272: 20108–20117
- [25] Issemann I., Green S.: Activation of a member of the steroid hormone receptor superfamily by peroxisome proliferators. *Nature*, 1990; 347: 645–650
- [26] Juge-Aubry C., Pernin A., Favez T., Burger A.G., Wahli W., Meier C.A., Desvergne B.: DNA binding properties of peroxisome proliferator-activated receptor subtypes on various natural peroxisome proliferator response elements. Importance of the 5'-flanking region. *J. Biol. Chem.*, 1997; 272: 25252–25259
- [27] Keshamouni V.G., Reddy R.C., Arenberg D.A., Joel B., Thannickal V.J., Kalemkerian G.P., Standiford T.J.: Peroxisome proliferator-activated receptor- γ activation inhibits tumor progression in non-small-cell lung cancer. *Oncogene*, 2004; 23: 100–108
- [28] Keshet Y., Seger R.: The MAP kinase signaling cascades: a system of hundreds of components regulates a diverse array of physiological functions. *Methods Mol. Biol.*, 2010; 661: 3–38
- [29] Kim B.M., Maeng K., Lee K.H., Hong S.H.: Combined treatment with the Cox-2 inhibitor niflumic acid and PPAR γ ligand ciglitazone induces ER stress/caspase-8-mediated apoptosis in human lung cancer cells. *Cancer Lett.*, 2011; 300: 134–144
- [30] Kliewer S.A., Lenhard J.M., Willson T.M., Patel I., Morris D.C., Lehmann J.M.: A prostaglandin J2 metabolite binds peroxisome proliferator-activated receptor gamma and promotes adipocyte differentiation. *Cell*, 1995; 83: 813–819
- [31] Koga H., Sakisaka S., Harada M., Takagi T., Hanada S., Taniguchi E., Kawaguchi T., Sasatomi K., Kimura R., Hashimoto O., Ueno T., Yano H., Kojiro M., Sata M.: Involvement of p21(WAF1/Cip1), p27(Kip1), and p18(INK4c) in troglitazone-induced cell-cycle arrest in human hepatoma cell lines. *Hepatology*, 2001; 33: 1087–1097
- [32] Konopleva M., Elstner E., McQueen T.J., Tsao T., Sudarikov A., Hu W., Schober W.D., Wang R.Y., Chism D., Kornblau S.M., Younes A., Collins S.J., Koeffler H.P., Andreeff M.: Peroxisome proliferator-activated receptor gamma and retinoid X receptor ligands are potent inducers of differentiation and apoptosis in leukemias. *Mol. Cancer Ther.*, 2004; 3: 1249–1262
- [33] Kopij M., Rapak A.: Rola receptorów jądrowych w procesie śmierci komórek. *Postępy Hig. Med. Dośw.*, 2008; 62: 571–581
- [34] Krey G., Braissant O., L'Horsset F., Kalkhoven E., Perroud M., Parker M.G., Wahli W.: Fatty acids, eicosanoids, and hypolipidemic agents identified as ligands of peroxisome proliferator-activated receptors by coactivator-dependent receptor ligand assay. *Mol. Endocrinol.*, 1997; 11: 779–791
- [35] Kubota T., Koshizuka K., Williamson E.A., Asou H., Said J.W., Holden S., Miyoshi I., Koeffler H.P.: Ligand for peroxisome proliferator-activated receptor γ (troglitazone) has potent antitumor effect against human prostate cancer both *in vitro* and *in vivo*. *Cancer Res.*, 1998; 58: 3344–3352
- [36] Lee S.Y., Hur G.Y., Jung K.H., Jung H.C., Lee S.Y., Kim J.H., Shin C., Shim J.J., In K.H., Kang K.H., Yoo S.H.: PPAR-gamma agonist increase gefitinib's antitumor activity through PTEN expression. *Lung Cancer*, 2006; 51: 297–301
- [37] Lee Y.R., Yu H.N., Noh E.M., Kim J.S., Song E.K., Han M.K., Kim B.S., Lee S.H., Park J.: Peroxisome proliferator-activated receptor gamma and retinoic acid receptor synergistically up-regulate the tumor suppressor PTEN in human promyeloid leukemia cells. *Int. J. Hematol.*, 2007; 85: 231–237
- [38] Lehmann J.M., Lenhard J.M., Oliver B.B., Ringold G.M., Kliewer S.A.: Peroxisome proliferator-activated receptors alpha and gamma are activated by indomethacin and other non-steroidal anti-inflammatory drugs. *J. Biol. Chem.*, 1997; 272: 3406–3410
- [39] Lehmann J.M., Moore L.B., Smith-Oliver T.A., Wilkison W.O., Willson T.M., Kliewer S.A.: An antidiabetic thiazolidinedione is a high affinity ligand for peroxisome proliferator-activated receptor gamma (PPAR gamma). *J. Biol. Chem.*, 1995; 270: 12953–12956
- [40] Lemberger T., Desvergne B., Wahli W.: Peroxisome proliferator-activated receptors: a nuclear receptor signaling pathway in lipid physiology. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.*, 1996; 12: 335–363
- [41] Liu H., Zang C., Fenner M.H., Liu D., Possinger K., Koeffler H.P., Elstner E.: Growth inhibition and apoptosis in human Philadelphia chromosome-positive lymphoblastic leukemia cell lines by treatment with the dual PPAR α /gamma ligand TZD18. *Blood*, 2006; 107: 3683–3692
- [42] Mangelsdorf D.J., Borgmeyer U., Heyman R.A., Zhou J.Y., Ong E.S., Oro A.E., Kalkzuka A., Evans R.M.: Characterization of three RXR genes that mediate the action of 9-*cis* retinoic acid. *Genes Dev.*, 1992; 6: 329–344
- [43] Matsushima-Nishiwaki R., Okuno M., Adachi S., Sano T., Akita K., Moriwaki H., Friedman S.L., Kojima S.: Phosphorylation of retinoid X receptor alpha at serine 260 impairs its metabolism and function in human hepatocellular carcinoma. *Cancer Res.*, 2001; 61: 7675–7682
- [44] Michalik L., Auwerx J., Berger J.P., Chatterjee V.K., Glass C.K., Gonzalez F.J., Grimaldi P.A., Kadowaki T., Lazar M.A., O'Rahilly S., Palmer C.N., Plutzky J., Reddy J.K., Spiegelman B.M., Staels B., Wahli W.: International Union of Pharmacology. LXI. Peroxisome proliferator-activated receptors. *Pharmacol. Rev.*, 2006; 58: 726–741
- [45] Motomura W., Okumura T., Takahashi N., Obara T., Kohgo Y.: Activation of peroxisome proliferator-activated receptor gamma by troglitazone inhibits cell growth through the increase of p27Kip1 in human pancreatic carcinoma cells. *Cancer Res.*, 2000; 60: 5558–5564
- [46] Mueller E., Sarraf P., Tontonoz P., Evans R.M., Martin K.J., Zhang M., Fletcher C., Singer S., Spiegelman B.M.: Terminal differentiation of human breast cancer through PPAR gamma. *Mol. Cell*, 1998; 1: 465–470
- [47] Mueller E., Smith M., Sarraf P., Kroll T., Aiyer A., Kaufman D.S., Oh W., Demetri G., Figg W.D., Zhou X.P., Eng C., Spiegelman B.M., Kantoff P.W.: Effects of ligand activation of peroxisome proliferator-activated receptor γ in human prostate cancer. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2000; 97: 10990–10995



- [48] Mukherjee R., Jow L., Croston G.E., Paterniti J.R.Jr.: Identification, characterization, and tissue distribution of human peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR) isoforms PPAR γ 2 versus PPAR γ 1 and activation with retinoid X receptor agonists and antagonists. *J. Biol. Chem.*, 1997; 272: 8071–8076
- [49] Nagy L., Tontonoz P., Alvarez J.G., Chen H., Evans R.M.: Oxidized LDL regulates macrophage gene expression through ligand activation of PPAR γ . *Cell*, 1998; 93: 229–240
- [50] Nixon J.B., Kamitani H., Baek S.J., Eling T.E.: Evaluation of eicosanoids and NSAIDs as PPAR γ ligands in colorectal carcinoma cells. *Prostaglandins Leukot. Essent. Fatty Acids*, 2003; 68: 323–330
- [51] Owen G.I., Zelen A.: Origins and evolutionary diversification of the nuclear receptor superfamily. *Cell. Mol. Life Sci.*, 2000; 57: 809–827
- [52] Panigrahy D., Singer S., Shen L.Q., Butterfield C.E., Freedman D.A., Chen E.J., Moses M.A., Kilroy S., Duensing S., Fletcher C., Fletcher J.A., Hlatky L., Hahnfeldt P., Folkman J., Kaipainen A.: PPAR γ ligands inhibit primary tumor growth and metastasis by inhibiting angiogenesis. *J. Clin. Invest.*, 2002; 110: 923–932
- [53] Qian H., Hausman G.J., Compton M.M., Azain M.J., Hartzell D.L., Baile C.A.: Leptin regulation of peroxisome proliferator-activated receptor- γ , tumor necrosis factor, and uncoupling protein-2 expression in adipose tissues. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1998; 246: 660–667
- [54] Rastinejad F.: Retinoid X receptor and its partners in the nuclear receptor family. *Curr. Opin. Struct. Biol.*, 2001; 11: 33–38
- [55] Rau O., Wurglics M., Dingermann T., Abdel-Tawab M., Schubert-Zsilavecz M.: Screening of herbal extracts for activation of the human peroxisome proliferator-activated receptor. *Pharmazie*, 2006; 61: 952–956
- [56] Reichle A., Bross K., Vogt T., Bataille F., Wild P., Berand A., Krause S.W., Andreesen R.: Pioglitazone and rofecoxib combined with anti-gestically scheduled trofosamide in the treatment of far-advanced melanoma and soft tissue sarcoma. *Cancer*, 2004; 101: 2247–2256
- [57] Renaud J.P., Moras D.: Structural studies on nuclear receptors. *Cell. Mol. Life Sci.*, 2000; 57: 1748–1769
- [58] Rubin G.L., Duong J.H., Clyne C.D., Speed C.J., Murata Y., Gong C., Simpson E.R.: Ligands for the peroxisomal proliferator-activated receptor γ and the retinoid X receptor inhibit aromatase cytochrome P450 (CYP19) expression mediated by promoter II in human breast adipose. *Endocrinology*, 2002; 143: 2863–2871
- [59] Safe S., Papineni S., Chintharlapalli S.: Cancer chemotherapy with indole-3-carbinol, bis(3'-indolyl)methane and synthetic analogs. *Cancer Lett.*, 2008; 269: 326–338
- [60] Schafer K.A.: The cell cycle: a review. *Vet. Pathol.*, 1998; 35: 461–478
- [61] Sepmeyer J.A., Greer J.P., Koyama T., Zic J.A.: Open-label pilot study of combination therapy with rosiglitazone and bexarotene in the treatment of cutaneous T-cell lymphoma. *J. Am. Acad. Dermatol.*, 2007; 56: 584–587
- [62] Sertznig P., Seifert M., Tilgen W., Reichrath J.: Present concepts and future outlook: function of peroxisome proliferator-activated receptors (PPARs) for pathogenesis, progression, and therapy of cancer. *J. Cell. Physiol.*, 2007; 212: 1–12
- [63] Shao D., Rangwala S.M., Bailey S.T., Krakow S.L., Reginato M.J., Lazar M.A.: Interdomain communication regulating ligand binding by PPAR- γ . *Nature*, 1998; 396: 377–380
- [64] Sheng X., Zhang Y., Gong Z., Huang C., Zang Y.Q.: Improved insulin resistance and lipid metabolism by cinnamon extract through activation of peroxisome proliferator-activated receptors. *PPAR Res.*, 2008; 2008: 581348
- [65] Sierra-Honigmann M.R., Nath A.K., Murakami C., García-Cardeña G., Papapetropoulos A., Sessa W.C., Madge L.A., Schechner J.S., Schwabb M.B., Polverini P.J., Flores-Riveros J.R.: Biological action of leptin as an angiogenic factor. *Science*, 1998; 281: 1683–1686
- [66] Staels B., Fruchart J.C.: Therapeutic roles of peroxisome proliferator-activated receptor agonists. *Diabetes*, 2005; 54: 2460–2470
- [67] Sundvold H., Lien S.: Identification of a novel peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR) gamma promoter in man and transactivation by the nuclear receptor ROR α 1. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2001; 287: 383–390
- [68] Tontonoz P., Graves R.A., Budavari A.I., Erdjument-Bromage H., Lui M., Hu E., Tempst P., Spiegelman B.M.: Adipocyte-specific transcription factor ARF6 is a heterodimeric complex of two nuclear hormone receptors, PPAR γ and RXR α . *Nucleic Acids Res.*, 1994; 22: 5628–5634
- [69] Tontonoz P., Singer S., Forman B.M., Sarraf P., Fletcher J.A., Fletcher C.D., Brun R.P., Mueller E., Altiock S., Oppenheim H., Evans R.M., Spiegelman B.M.: Terminal differentiation of human liposarcoma cells induced by ligands for peroxisome proliferator-activated receptor γ and the retinoid X receptor. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1997; 94: 237–241
- [70] Toyota M., Miyazaki Y., Kitamura S., Nagasawa Y., Kiyohara T., Shinomura Y., Matsuzawa Y.: Peroxisome proliferator-activated receptor gamma reduces the growth rate of pancreatic cancer cells through the reduction of cyclin D1. *Life Sci.*, 2002; 70: 1565–1575
- [71] Tugwood J.D., Issemann I., Anderson R.G., Bundell K.R., McPheat W.L., Green S.: The mouse peroxisome proliferator activated receptor recognizes a response element in the 5' flanking sequence of the rat acyl CoA oxidase gene. *EMBO J.*, 1992; 11: 433–439
- [72] Werman A., Hollenberg A., Solanes G., Bjorbaek C., Vidal-Puig A.J., Flier J.S.: Ligand-independent activation domain in the N terminus of peroxisome proliferator-activated receptor γ (PPAR γ). Differential activity of PPAR γ 1 and -2 isoforms and influence of insulin. *J. Biol. Chem.*, 1997; 272: 20230–20235
- [73] Willson T.M., Wahli W.: Peroxisome proliferator-activated receptor agonists. *Curr. Opin. Chem. Biol.*, 1997; 1: 235–241
- [74] Xin B., Yokoyama Y., Shiget T., Futagami M., Mizunuma H.: Inhibitory effect of meloxicam, a selective cyclooxygenase-2 inhibitor, and ciglitazone, a peroxisome proliferator-activated receptor gamma ligand, on the growth of human ovarian cancers. *Cancer*, 2007; 110: 791–800
- [75] Xin X., Yang S., Kowalski J., Gerritsen M.E.: Peroxisome proliferator-activated receptor γ ligands are potent inhibitors of angiogenesis *in vitro* and *in vivo*. *J. Biol. Chem.*, 1999; 274: 9116–9121
- [76] Xu H.E., Lambert M.H., Montana V.G., Plunket K.D., Moore L.B., Collins J.L., Oplinger J.A., Kliewer S.A., Gampe R.T.Jr., McKee D.D., Moore J.T., Willson T.M.: Structural determinants of ligand binding selectivity between the peroxisome proliferator-activated receptors. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2001; 98: 13919–13924
- [77] Yamazaki K., Shimizu M., Okuno M., Matsushima-Nishiwaki R., Kanemura N., Araki H., Tsurumi H., Kojima S., Weinstein I.B., Moriwaki H.: Synergistic effects of RXR alpha and PPAR gamma ligands to inhibit growth in human colon cancer cells – phosphorylated RXR alpha is a critical target for colon cancer management. *Gut*, 2007; 56: 1557–1563
- [78] Yan K.H., Yao C.J., Chang H.Y., Lai G.M., Cheng A.L., Chuang S.E.: The synergistic anticancer effect of troglitazone combined with aspirin causes cell cycle arrest and apoptosis in human lung cancer cells. *Mol. Carcinog.*, 2010; 49: 235–246
- [79] Yang W.L., Frucht H.: Activation of the PPAR pathway induces apoptosis and COX-2 inhibition in HT-29 human colon cancer cells. *Carcinogenesis*, 2001; 22: 1379–1383
- [80] Yessoufou A., Wahli W.: Multifaceted roles of peroxisome proliferator-activated receptors (PPARs) at the cellular and whole organism levels. *Swiss Med. Wkly.*, 2010; 140: w13071
- [81] Yin F., Wakino S., Liu Z., Kim S., Shueh W.A., Collins A.R., Van Herle A.J., Law R.E.: Troglitazone inhibits growth of MCF-7 breast carcinoma cells by targeting G1 cell cycle regulators. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2001; 286: 916–922
- [82] Zamir I., Dawson J., Lavinsky R.M., Glass C.K., Rosenfeld M.G., Lazar M.A.: Cloning and characterization of a corepressor and potential component of the nuclear hormone receptor repression complex. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1997; 94: 14400–14405
- [83] Zoete V., Grosdidier A., Michielin O.: Peroxisome proliferator-activated receptor structures: ligand specificity, molecular switch and interactions with regulators. *Biochim. Biophys. Acta*, 2007; 1771: 915–925

Autorzy deklarują brak potencjalnych konfliktów interesów.