

Marek Bąk<sup>1</sup>

Magdalena Kicińska-Krogulska<sup>1</sup>

Paweł Czerniak<sup>1</sup>

Aleksandra Michowicz<sup>2</sup>

Anna Krakowiak<sup>1</sup>

## TOKSYCZNE USZKODZENIE WĄTROBY — WSPÓŁCZESNY POGLĄD NA ETIOPATOGENEZĘ. CZĘŚĆ II

TOXIC LIVER INJURIES — A CURRENT VIEW ON PATHOGENESIS. PART II

<sup>1</sup> Instytut Medycyny Pracy im. prof. J. Nofera, Łódź

Oddział Toksykologii, Klinika Chorób Zawodowych i Toksykologii

<sup>2</sup> Uniwersytet Medyczny, Łódź

Oddział Obserwacyjno-Zakaźny, Katedra i Klinika Chorób Zakaźnych

### STRESZCZENIE

Wątroba odgrywa kluczową rolę w procesie detoksykacji ksenobiotyków. Proces detoksykacji odpowiada za inaktywację i skuteczną eliminację endogennych i egzogennych metabolitów i substancji toksycznych. Reakcje metaboliczne odpowiedzialne za detoksykację składają się z reakcji fazy I i II. Reakcje fazy I powodują wzrost polarności ksenobiotyków poprzez umieszczenie nowych grup funkcjonalnych w molekułach ksenobiotyków. Z kolei w reakcjach fazy II w wyniku połączeń ksenobiotyków z endogennymi hydrofilowymi molekułami zwiększa się w znacznym stopniu ich polarność i rozpuszczalność w wodzie, co sprzyja eliminacji tych substancji. Faza III opisuje proces transportu zachodzący za pomocą przez błonowych białek transportujących, które odpowiadają za transport dużej liczby ksenobiotyków z krwi do wątroby. Wykazano, że stres oksydacyjny, jak i peroksydacja lipidów są ważnymi procesami mogącymi wywołać martwicę komórek wątrobowych. Istotną rolę w produkcji reaktywnych form tlenu przypisuje się mitochondriom. Uszkodzenie funkcjonalne tych organeli jest związane z wyczerpaniem energii i intensywną produkcją reaktywnych form tlenu, co prowadzi do błędnego koła stresu komórkowego. Uszkodzenie mitochondrialnego metabolizmu ostatecznie może prowadzić do martwicy komórki wątrobowej i jej apoptozy. Med. Pr. 2011;62(2):203–210

Słowa kluczowe: wątroba, enzymy, detoksykacja ksenobiotyków, stres oksydacyjny, peroksydacja lipidów

### ABSTRACT

Liver plays an important role in biological detoxication of xenobiotics. During this process, one can observe the inactivation and successful elimination of metabolites and toxic substances. The metabolic reactions responsible for detoxications include phases I and II. The phase I reactions increase polarity of xenobiotics through inserting new functional groups to xenobiotic molecules, while during phase II conjugation to endogenous hydrophilic molecules results in potent increase in polarity and water solubility. Phase III involves the transport process mediated by transmembranous transporter proteins, which remove a large number of xenobiotics from blood into liver. Oxidative stress and oxidation of lipids may lead to liver injury. Functional impairment of mitochondrial metabolism is associated with intensive production of reactive oxygen species. The underlying mechanisms during mitochondrial dysfunction may lead to cellular necrosis and apoptosis. Med Pr 2011;62(2):203–210

Key words: liver, enzymes, xenobiotics detoxications, cellular stress, oxidations of lipid

Adres autora: Oddział Toksykologii, Klinika Chorób Zawodowych i Toksykologii,

Instytut Medycyny Pracy im. prof. J. Nofera, ul. św. Teresy 8, 91-348 Łódź, e-mail: bm@imp.lodz.pl

Nadesłano: 19 października 2010

Zatwierdzono: 17 lutego 2011

## ROLA RECEPTORÓW JĄDROWYCH W ODPOWIEDZI NA KSENOBIOTYKI

### Receptory jądrowe, przegląd ligandów i odpowiedzi na ksenobiotyki

Odkryta została grupa receptorów jądrowych, które pełnią ważną rolę w rozpoznawaniu leków i sub-

stancji toksycznych oraz regulują ekspresję enzymów CYP P-450-zależnych monooksygenaz.

- Receptor dla grupy arylowej (rodnik aromatyczny) węglowodorów (aryl hydrocarbon receptor — AHR) — jest czynnikiem transkrypcyjnym, który aktywuje ekspresję ludzkich genów dla CYP1A1, CYP1A2 i CYP1B1. Ligandy dla AHR

stanowią toksyny środowiskowe zarówno z wielopierścieniowymi węglowodorami aromatycznymi, wielochlorowymi dwufenylami i dioksynami, jak i kancerogennymi 2,3,7,8-czterochloro-dwubenzop-dioksynami (1).

- Receptor ciążyowy X (pregnane X receptor — PXR) — ma swój udział w patogenezie cholestatycznego uszkodzenia wątroby i rozwoju lekowo zależnej hepatomegalii, pełni funkcję białka regulatorowego w biosyntezie żółci, w reakcjach zachodzących podczas metabolizmu kwasów żółciowych, ksenobiotyków (CYP3A) i białek transportowych (organic anionic transporters — Oatp2) *in vivo* (2).
- Receptor dla androsteronu (constitutive androstane receptor — CAR) — jest aktywowany przez takie ksenobiotyki, jak fenobarbital i endogenne metabolity bilirubiny (3). Sugeruje się, że CAR bierze udział w toksyczności indukowanej przez paracetamol (4).
- Wewnątrzwątrobowy receptor X dla farnesolu (farnesoid X receptor — FXR) — zlokalizowany jest w wątrobie, nerkach, gruczołach nadnerczowych i jelicie. Jest receptorem odgrywającym kluczową rolę w rozwoju cholestazy (5).
- Receptory aktywowane przez proliferatory peroksysomów (peroxisome proliferator-activated receptors — PPARs) — zostały tak nazwane ze względu na swoją zdolność indukowania proliferacji wątrobowych peroksysomów w odpowiedzi na działanie ksenobiotyków. Przyjmuje się, że trzy ludzkie izoformy PPAR (PPAR $\alpha$ , PPAR $\delta$  i PPAR $\gamma$ ) odgrywają kluczową rolę w regulowaniu gospodarki węglowodanowej i metabolizmie lipidów (6). Ksenobiotyki, kwasy tłuszczowe, eikozanoidy są ligandami dla tej rodziny receptorów jądrowych (7).
- Rodzina białek LETF (liver-enriched transcription factors) — jest odpowiedzialna za utrzymywanie specyficznego tkankowo fenotypu, różnicowanie się komórek wątrobowych i ich regenerację. Dotychczas scharakteryzowano sześć rodzin LETF, wliczając w to wątrobowe czynniki jądrowe (hepatocyte nuclear factor — HNF): HNF-1, HNF-3, HNF-4, HNF-6, suwak leucynowy (basic leucine zipper — bZIP) — przedstawiciela białek wiążących się z sekwencją CCAAT (C/EBP $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\delta$ ,  $\gamma$ ) i białko wiążące D. Zaburzenia funkcji jądrowych czynników transkrypcyjnych stanowią ważny mechanizm w uszkodzeniu wątroby wywołanym przez substancje toksyczne, np. po ekspozycji na tetrachlorek węgla (carbon tetrachloride — CCL $_4$ ) obserwowano

zmniejszoną ekspresję wątrobowego czynnika jądrowego — HNF-3 $\gamma$  (8).

- Receptor witaminy D (vitamine D receptor — VDR) — odgrywa ważną rolę w metabolizmie kwasów żółciowych (9).

## ZNACZENIE ENZYMÓW UCZESTNICZĄCYCH W PROCESIE DETOKSYKACJI KSENOBIOTYKÓW

Proces detoksykacji jest zlokalizowany w wątrobie i odpowiada za inaktywację i skuteczną eliminację endogennych i egzogennych metabolitów i substancji toksycznych. Reakcje metaboliczne odpowiedzialne za detoksykację składają się z reakcji fazy I i II. Reakcje fazy I powodują wzrost polarności ksenobiotyków poprzez umieszczanie nowych grup funkcjonalnych w molekułach leków. Głównymi enzymami reakcji fazy I są: hydrolazy i oksyreduktazy, takie jak P450-zależna monooksygenaza (CYPs) lub cyklooksygenazy. Odmiana endogennych hydrofilowych molekuł w reakcjach fazy II w znacznym stopniu zwiększa polarność i rozpuszczalność w wodzie ksenobiotyków, co powoduje zwiększenie ich eliminacji. Do enzymów uczestniczących w II fazie biotransformacji należą: UDP-dehydrogenaza glukozowa (UDP-glucose dehydrogenase — UGDH) i członkowie rodziny transferaz glukuronylowych (glucuronyl transferase — UGT). Faza III opisuje proces transportu zachodzący za pomocą przezłonowych białek transportujących, które odpowiadają za transport dużej liczby ksenobiotyków z krwi do wątroby (10).

Interakcje zachodzące między lekami uczestniczącymi w I fazie procesu biotransformacji mogą prowadzić do zmiany aktywności enzymów je metabolizujących. Toksyczność wynikająca z tych interakcji może wzrastać wraz ze wzrostem stężenia leków lub ich aktywnych metabolitów.

U człowieka spośród mikrosomalnych monooksygenaz zależnych od cytochromu P450 (CYP) występują głównie izoformy reprezentujące rodziny CYP1, CYP2, CYP3 i CYP4. W zależności od rodzaju ksenobiotyku indukującego monooksygenazy CYP wyróżnia się następujące typy reakcji:

- typ fenobarbitalu indukujący CYP2B1, CYP2Cs i CYP3As,
- typ deksametazonowo-rifampicynowy (CYP3As, CYP2Cs, CYP2B1),
- typ etanolu i izoniazydu (CYP2E1),
- typ clofibratu (CYP4As),

■ typ policyklicznych węglowodorów aromatycznych (CYP1A1, CYP1A2, CYP1B1) (11).

W modulowaniu aktywności różnych izoform monoooksygenaz cytochromowych ważną rolę pełnią receptory węglowodorów arylowych (12), jądrowy receptor ciężowy X (PXR) (13), CYP3A7 (14), receptor androgenowy (15), CYP3A4 (16), CYP2C8 (17), 2C9 (18) i receptor glukokortykoidowy (19).

Niedawno odkryto receptor jądrowy PPAR $\alpha$ , który jest zaangażowany w ujemną regulację ekspresji genów rifampicynowo zależnych od UDP-glukozowej dehydrogenazy (UDP-glucose-dehydrogenase) (20).

### Rola toksycznych metabolitów

#### w rozwoju toksycznego uszkodzenia wątroby

Ważnym przykładem obrazującym hepatotoksyczność w wyniku działania aktywnych metabolitów są procesy biotransformacji paracetamolu. Paracetamol jest dość powszechnie stosowanym lekiem przeciwbólowym i przeciwgorączkowym. Jego przedawkowanie prowadzi do uszkodzenia wątroby, w trakcie którego dochodzi do martwicy centralnozrazikowej hepatocyta (21). Aktywnym metabolitem paracetamolu jest N-acetylo-para-benzochinoimina (N-acetyl-p-benzoquinone — NAPQI) powstająca w fazie I procesu biotransformacji przy udziale CYP2E1, CYP1A2 i CYP3A (22).

Obecność NAPQI oddziałuje hamująco na aktywność niektórych enzymów komórkowych, wśród których do najważniejszych należą: dehydrogenaza aldehydu 3-fosfoglicerynowego (glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase — GAPDH) (23) i syntetaza  $\gamma$ -glutamylu-cysteinowa (24). Pierwszy ze wspomnianych enzymów w obecności NAD<sup>+</sup> fosforyluje aldehyd 3-fosfoglicerynowy do 1,3-dwufosfoglicerolu w procesie glikolizy, z kolei drugi enzym ogranicza szybkość reakcji enzymatycznej syntezy glutationu (glutathione — GSH), który jest kluczowym elementem w procesach detoksykacyjnych rodników tlenowych i niektórych toksyn (24). Co więcej, NAPQI wykazuje właściwości indukcyjne enzymów cytochromalnych, np. CYP2E1, którego działanie powoduje wzrost produkcji wolnych rodników tlenowych (reactive oxygen species — ROS), takich jak rodniki ponadtlenkowe i H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (25).

Powstające wolne rodniki mogą aktywować kaspazy poprzez bezpośrednią stymulację receptorów śmierci zlokalizowanych na błonie komórkowej lub poprzez zmiany przepuszczalności błony mitochondrialnej i uwolnienie cytochromu c, a także poprzez oddzia-

lywanie na stabilność p53, który pełni kluczową rolę w integracji komórki (26). Ponadto, stres oksydacyjny jest związany z degradacją włókien aktyny i dysregulacją homeostazy Ca<sup>2+</sup> — tego typu reakcje zachodzą w początkowym etapie uszkodzenia komórki wątrobowej wywołanej przez paracetamol (27). Dostępne są dowody, że następujące po sobie uwolnienie cytokin prozapalnych, takich jak TNF- $\alpha$  i IL-1 $\alpha$ , jest przyczyną hepatotoksyczności wywołanej przez paracetamol (28,29).

Lek tuberkulostatyczny Isoniazyd (isonicotinic acid hydrazide — INH) może powodować szerokie spektrum uszkodzeń wątroby od niecharakterystycznych zwyzek aminotransferaz do zapalenia wątroby lub rozległej martwicy związanej z niewydolnością wątroby (30). Zaobserwowano także, że Isoniazyd znacząco hamuje CYP2C19 i CYP3A (31), aktywuje zaś CYP2E1. Zaangażowanie CYP2E1 i zwiększanie produkcji stresu oksydacyjnego podczas terapii Isoniazydem może stanowić istotny element wyjaśniający patogenezę uszkodzeń wątroby wywołanych przez ten czynnik (32).

Z kolei Tamoksyfen jest używany jako lek drugiej linii w terapii raka piersi. Podczas procesu biotransformacji podlega on  $\alpha$ -hydroksylacji i siarkowaniu. W rezultacie powstający ester siarczanu jest niestabilny i przekształca się do genotoksycznego metabolitu, reaktywnego jonu węgla. Powstające wtedy w wątrobie addukty DNA są związane ze wzrostem ryzyka rozwoju raka tego narządu (33).

### ZNACZENIE DYSFUNKCJI MITOCHONDRIÓW W ROZWOJU TOKSYCZNEGO USZKODZENIA WĄTROBY

Wykazano, że zmienność mitochondrialnego metabolizmu pełni kluczową rolę w różnych rodzajach toksycznego uszkodzenia wątroby. Dysfunkcja mitochondriów jest obserwowana m.in. w hepatotoksyczności wywołanej paracetamolem, alkoholem etylowym oraz inhibitorami oksydacji kwasów tłuszczowych (34). Uszkodzenie funkcjonalne mitochondriów jest związane z wyczerpaniem energii i intensywną produkcją ROS, co prowadzi do błędnego koła stresu komórkowego. Substancje toksyczne mogą powodować zaburzenia funkcji mitochondriów poprzez rozprężenie oksydatywnej fosforylacji, aktywację kaskady kaspaz, która prowadzi do apoptozy komórki, oraz poprzez zakłócenie homeostazy Ca<sup>2+</sup>. Wyżej wymienione zaburzenia homeostazy odpowiedzialne są za dysfunkcję metabolizmu komórkowego pod postacią ro-

zerwania prawidłowo ułożonych włókien aktynowych, co z kolei może prowadzić do zaburzeń integralności błony komórkowej — tego typu zaburzenia obserwowane są przy działaniu toksyn muchomorów sromotnikowych (35).

Rozprężenie łańcucha oddechowego może być spowodowane zakłóceniem aktywności enzymów mitochondrialnych lub ich dysfunkcją spowodowaną mutacją mitochondrialnego DNA (mtDNA). Oba mechanizmy są obserwowane podczas zatrucia żelazem (36,37). Dysfunkcja mitochondriów powoduje śmierć komórki w mechanizmie apoptozy i pośredniczy w tym c-zależny cytochrom aktywowany wskutek zmiany przepuszczalności błon poprzez sygnały  $Ca^{2+}$  lub zmiany reaktywnych form tlenu. Mechanizm ten jest postulowany w hepatotoksycznych efektach oddziaływania niesteroidowych leków przeciwzapalnych (38), kwasu walproinowego (39) i kwasu p-hydroksybenzoesowego (40).

Do dysfunkcji mitochondriów dochodzi także w przypadku zatrucia parakwatem. Herbicyd ten powoduje reakcje toksyczne w płucach, nerkach i wątrobie. W izolowanych hepatocytach poddanych działaniu parakwatu odnotowano obecność ultrastrukturalnych zmian w mitochondriach, prowadzących w konsekwencji do śmierci komórki (41). Tego typu zaburzenia są związane ze znaczącym spadkiem ATP i NADPH, obniżonym stężeniem glutationu i wzrostem jego postaci utlenionej (oxidised glutathione — GSSG) (42). W mechanizmie toksycznego działania parakwatu wiodącą rolę odgrywają wolne rodniki tlenowe. Badania nad ROS obecnymi w zatruciu parakwatem wykazały, że oksyreduktaza chinonu NADH umieszczona na zewnętrznej błonie hepatocyta jest odpowiedzialna za zwiększenie produkcji anionów nadtlenkowych (43). Wniosek ten nie jest zaskakujący, jeśli weźmie się pod uwagę, że izolowane hepatocyty poddane działaniu parakwatu wykazują znaczący wzrost liczby peroksydowanych lipidów, które są bezpośrednio tworzone w reakcji wolnych rodników tlenowych z wewnątrzkomórkowymi i błonowymi lipidami (44). Łącząc te spostrzeżenia, należy stwierdzić, że metaboliczne zaburzenia wywołane przez peroksydację lipidów mogą prowadzić do alternatywnego lub dodatkowego mechanizmu toksyczności parakwatu.

Co więcej, wykazano, że zmienność mitochondrialnego oddychania może być indukowana poprzez zwiększoną ekspozycję na takie metale, jak żelazo czy miedź, co powoduje wzrost produkcji ROS, a następnie peroksydację lipidów (45).

U pacjentów nadużywających alkoholu wzrost formacji ROS może wynikać z połączonych modyfikacji i oksydacji mitochondrialnych protein i lipidów (46). Z kolei uszkodzenie integralności błony mitochondrialnej jest częściowym rezultatem działania toksycznego aflatoksyny B. Główny metabolit tego związku wykazuje działanie uszkodzające błonę mitochondrialną, z kolei konsekwencją takiego uszkodzenia są zaburzenia prowadzące do wyczerpania się mechanizmów oddychania mitochondrialnego (47).

## **ROLA STRESU OKSYDACYJNEGO W USZKODZENIU KOMÓRKI WĄTROBOWEJ**

Stres oksydacyjny jest definiowany jako zakłócenie równowagi między produkcją a eliminacją ROS lub reaktywnych form azotu (reactive nitrogen species — RNS) (48). Nagromadzenie oksydacyjnych uszkodzeń leży u podłoża procesu starzenia się *per se*. Reaktywne formy tlenowe mogą być prezentowane przez jon nadtlenowy  $O_2^-$ , nadtlenek wodoru ( $H_2O_2$ ), rodnik hydroksylowy  $OH^{\cdot}$ , nadtlenki organiczne (48). Rodniki ponadtlenkowe są produkowane w reakcji z tlenem podczas przejścia elektronu z NADH i  $FADH_2$  do pierwszego kompleksu łańcucha oddechowego. Następnie mitochondrialna manganowa dysmutaza nadtlenkowa (manganese superoxide dismutase — MnSOD) przekształca ponadtlenki do  $H_2O_2$  (49). Drugą grupą związków charakteryzujących się dużą reaktywnością chemiczną są wspomniane powyżej RNS. Jej przedstawicielami grupy są: tlenek azotu (NO) oraz powstające z niego w wyniku przemian metabolicznych: kation nitrozonowy ( $NO^+$ ), anion nitroksylowy ( $NO^-$ ) i nadtlenoazotyn ( $ONOO^-$ ) (48). Synteza tlenku azotu następuje przy udziale specyficznej rodziny enzymów — syntaz tlenku azotu. Obecność ROS i RNS potwierdzono w uszkodzeniu wątroby wywołanym przez paracetamol (50,51).

Obecność antyoksydantów stanowi istotny element niezbędny do istnienia w komórce równowagi między procesami pro- i antyoksydacyjnymi. Obrona antyoksydacyjna jest prowadzona przez antyoksydanty nieenzymatyczne, takie jak GSH, witaminy E i C, oraz enzymatyczne, do których zaliczyć można dysmutazę ponadtlenkową (superoxide dismutase — SOD), peroksydazę i reduktazę glutationu, katalazę i peroksydazę hemoprotein (52). Ponadto, enzymy fazy II procesu biotransformacji, takie jak transferaza S glutationu, glukuronilo-transferaza i reduktaza chinonu NAD(P)H, zabezpieczają bezpośrednio i pośrednio komórkę przed stresem oksydacyjnym (53).

Glutation jest ważnym wewnątrzkomórkowym antyoksydantem, który usuwa wolne rodniki i inne gatunki rodników, np. rodnik hydroksylowy, rodniki peroksyłowe lipidów, poprzez pośrednie i bezpośrednie reakcje enzymatyczne (54). Zabezpiecza też komórki przed stresem oksydacyjnym dwutorowo — po pierwsze, chroni białka tiolowe przed ROS/RNS, po drugie, może odwrócić modyfikacje wywołane na drodze utlenienia, np. poprzez usuwanie wiązań dwusiarczkowych i nitrolioli (55). Ponadto, GSH jest zaangażowany w fazę II reakcji biotransformacji, czego skutkiem jest połączenie antyoksydacyjnej obrony z systemem detoksykacyjnym. Możliwe jest, że zakłócenie między tymi systemami jest przyczyną hepatotoksyczności indukowanej paracetamolem. Detoksykacja aktywnego metabolitu paracetamolu NAPQI jest osiągana poprzez reakcję z GSH, dlatego w zatruciach paracetamolem obserwuje się spadek zapasu glutationu, co może także oddziaływać na komórkowy system antyoksydacyjny i powodować dramatyczne przesunięcie w układzie redoks komórki (56). Spadek cytoplazmatycznego GSH powoduje większą wrażliwość białek na apoptozę indukowaną przez TNF poprzez zahamowanie NF- $\kappa$ B-zależnej ekspresji genów (57). Prowadzi to do wzrostu potencjału stresu oksydacyjnego i związanego z nim uszkodzenia komórki. Regulacja transkrypcji genów kodujących enzymy biorące udział w obronie antyoksydacyjnej pełni kluczową rolę w odpowiedzi komórkowej na stres oksydacyjny, np. element odpowiedzi antyoksydacyjnej (antioxidant response element — ARE) jest ważnym fragmentem DNA, istotnym dla podstawowej ekspresji i indukcji enzymów metabolizujących niektóre leki (58). Kompleks ARE składa się z Nrf-1/2 i białek Maf i jest aktywowany poprzez spadek GSH, który jest z kolei ujemnie sprzężony z aktywacją kinazy P13 i P38 MAP oraz aktywacją czynników transkrypcyjnych AP-1 i NF $\kappa$ B (59).

Innym interesującym związkiem obserwowanym we wczesnej fazie hepatotoksyczności indukowanej paracetamolem jest współistnienie stresu oksydacyjnego z degradacją filamentów aktyny (60). Utrata wewnątrzkomórkowych włókien naprężeniowych zawierających F-aktynę jest także obserwowana w uszkodzeniu wątroby i nerek w przebiegu zatrucia związkami chromu (61).

## **OKSYDACJA LIPIDÓW I ICH HEPATOTOKSYCZNOŚĆ**

Oksydacja lipidów w wątrobie pełni ważną rolę w przypadku jej toksycznego uszkodzenia przez takie kse-

nobiotyki, jak: CCl<sub>4</sub>, etanol, żelazo i miedź. Wzrost produkcji wolnych rodników tlenowych jest odpowiedzialny za peroksydację biomembran i wielonienasyconych kwasów tłuszczowych (62). Wykazano też, że peroksydacja lipidów destabilizuje organelle komórkowe. Indukowana przez żelazo peroksydacja lipidów jest związana ze zwiększoną wrażliwością lizosomalną i inaktywacją enzymów mikrosomalnych (63). Co więcej, dysfunkcja mitochondriów jest związana z peroksydacją lipidów w hepatotoksyczności indukowanej przez żelazo i miedź (64). Peroksydacja lipidów może być także głównym patogennym czynnikiem wywołującym martwicę komórek wątrobowych i rozwój procesu zapalnego w stłuszczeniowym zapaleniu wątroby (65).

Reasumując: wykazano, że zarówno stres oksydacyjny, jak i peroksydacja lipidów są ważnymi procesami, które mogą wywołać martwicę komórek wątrobowych. Istotną rolę w produkcji reaktywnych form tlenu przypisuje się mitochondriom. Uszkodzenie funkcjonalne tych organeli jest związane z wyczerpaniem energii i intensywną produkcją reaktywnych form tlenu, co prowadzi do błędnego koła stresu komórkowego. Uszkodzenie mitochondrialnego metabolizmu ostatecznie może prowadzić do martwicy komórki wątrobowej i jej apoptozy.

## **PIŚMIENNICTWO**

1. Whitlock J.P. Jr: Induction of cytochrome P4501A1. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 1999;39:103–125
2. Staudinger J.L., Goodwin B., Jones S.A., Hawkins-Brown D., MacKenzie K., LaTour A. i wsp.: The nuclear receptor PXR is a lithocholic acid sensor that protects against liver toxicity. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2001;98:3369–3374
3. Tzamei I., Pissios P., Schuetz E.G., Moore D.D.: The xenobiotic compound 1,4-bis[2-(3,5-dichloropyridyloxy)] benzene is an agonist ligand for the nuclear receptor CAR. *Mol. Cell. Biol.* 2000;20:2951–2958
4. Sinclair J., Jeffery E., Wrighton S., Kostrubsky V., Szacacs J., Wood S. i wsp.: Alcohol-mediated increases in acetaminophen hepatotoxicity: Role of CYP2E and CYP3A. *Biochem. Pharmacol.* 1998;55:1557–1565
5. Forman B.M., Goode E., Chen J., Oro A.E., Bradley D.J., Perlmann T. i wsp.: Identification of a nuclear receptor that is activated by farnesol metabolites. *Cell* 1995;81:687–693
6. Kostadinova R., Wahli W., Michalik L.: PPARs in diseases: Control mechanisms of inflammation. *Curr. Med. Chem.* 2005;12:2995–3009

7. Mehendale H.M.: PPAR-alpha: A key to the mechanism of hepatoprotection by clofibrate. *Toxicol. Sci.* 2000;57:187–190
8. Nakamura T., Akiyoshi H., Shiota G., Isono M., Nakamura K., Moriyama M. i wsp.: Hepatoprotective action of adenovirus-transferred HNF-3gamma gene in acute liver injury caused by CCL4. *FEBS Lett.* 1999;459:1–4
9. Makishima M., Lu T.T., Xie W., Whitfield G.K., Domoito H., Evans R.M. i wsp.: Vitamin D receptor as an intestinal bile acid sensor. *Science* 2002;296:1313–1316
10. Wakabayashi K., Tamura A., Saito H., Onishi Y., Ishikawa T.: Human ABC transporter ABCG2 in xenobiotic protection and redox biology. *Drug Metab. Rev.* 2006;38:371–391
11. Handschin C., Meyer U.A.: Induction of drug metabolism: The role of nuclear receptors. *Pharmacol. Rev.* 2003;55:649–673
12. Tang Y.M., Chen G.F., Thompson P.A., Lin D.X., Lang N.P., Kadlubar F.F.: Development of an antipeptide antibody that binds to the C-terminal region of human CYP1B1. *Drug Metab. Dispos.* 1999;27:274–280
13. Blumberg B., Sabbagh W. Jr, Juguilon H., Bolado J. Jr, van Meter C.M., Ong E.S. i wsp.: SXR, a novel steroid and xenobiotic-sensing nuclear receptor. *Genes. Dev.* 1998;12:3195–3205
14. Pascucci J.M., Jounaidi Y., Drocourt L., Domergue J., Balabaud C., Maurel P. i wsp.: Evidence for the presence of a functional pregnane X receptor response element in the CYP3A7 promoter gene. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1999;260:377–381
15. Sueyoshi T., Kawamoto T., Zelko I., Honkakoski P., Negishi M.: The repressed nuclear receptor CAR responds to phenobarbital in activating the human CYP2B6 gene. *J. Biol. Chem.* 1999;274:6043–6046
16. Savkur R.S., Wu Y., Bramlett K.S., Wang M., Yao S., Perkins D. i wsp.: Alternative splicing within the ligand binding domain of the human constitutive androstane receptor. *Mol. Genet. Metab.* 2003;80:216–226
17. Ferguson S.S., Chen Y., LeCluyse E.L., Negishi M., Goldstein J.A.: Human CYP2C8 is transcriptionally regulated by the nuclear receptors constitutive androstane receptor, pregnane X receptor, glucocorticoid receptor, and hepatic nuclear factor 4 alpha. *Mol. Pharmacol.* 2005;68:747–757
18. Al Dosari M.S., Knapp J.E., Liu D.: Activation of human CYP2C9 promoter and regulation by CAR and PXR in mouse liver. *Mol. Pharmacol.* 2006;3:322–328
19. Schuetz J.D., Schuetz E.G., Thottassery J.V., Guzelian P.S., Strom S., Sun D.: Identification of a novel dexamethasone responsive enhancer in the human CYP3A5 gene and its activation in human and rat liver cells. *Mol. Pharmacol.* 1996;49:63–72
20. Vatsyayan J., Lee S.J., Chang H.Y.: Effects of xenobiotics and peroxisome proliferator-activated receptor-alpha on the human UDP glucose dehydrogenase gene expression. *J. Biochem. Mol. Toxicol.* 2005;19:279–288
21. James L.P., Mayeux P.R., Hinson J.A.: Acetaminophen-induced hepatotoxicity. *Drug Metab. Dispos.* 2003;31:1499–1506
22. Thummel K.E., Lee C.A., Kunze K.L., Nelson S.D., Slatery J.T.: Oxidation of acetaminophen to N-acetyl-p-aminobenzoquinone imine by human CYP3A4. *Biochem. Pharmacol.* 1993;45:1563–1569
23. Burcham P.C., Harman A.W.: Acetaminophen toxicity results in site-specific mitochondrial damage in isolated mouse hepatocytes. *J. Biol. Chem.* 1991;266:5049–5054
24. Kitteringham N.R., Powell H., Clement Y.N., Dodd C.C., Tettey J.N.A., Pirmohamed M. i wsp.: Hepatocellular response to chemical stress in CD-1 mice: Induction of early genes and gamma-glutamylcysteine synthetase. *Hepatology* 2000;32:321–333
25. Wu D., Cederbaum A.I.: Characterization of pyrazole and 4-methylpyrazole induction of cytochrome P450E1 in rat kidney. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 1994;270:407–413
26. Jaeschke H., Knight T.R., Bajt M.L.: The role of oxidant stress and reactive nitrogen species in acetaminophen hepatotoxicity. *Toxicol. Lett.* 2003;144:279–288
27. Tsokos-Kuhn J.O., Hughes H., Smith C.V., Mitchell J.R.: Alkylation of the liver plasma membrane and inhibition of the Ca<sup>2+</sup> ATPase by acetaminophen. *Biochem. Pharmacol.* 1988;37:2125–2131
28. Chiu H., Gardner C.R., Dambach D.M., Brittingham J.A., Durham S.K., Laskin J.D. i wsp.: Role of p55 tumor necrosis factor receptor 1 in acetaminophen-induced antioxidant defense. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* 2003;285:G959–G966
29. Chiu H., Gardner C.R., Dambach D.M., Brittingham J.A., Durham S.K., Laskin J.D. i wsp.: Role of tumor necrosis factor receptor 1 (p55) in hepatocyte proliferation during acetaminophen-induced toxicity in mice. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 2003;193:218–227
30. Mitchell J.R., Zimmerman H.J., Ishak K.G., Thorgeirsson U.P., Timbrell J.A., Shodgrass W.R. i wsp.: Isoniazid liver injury: Clinical spectrum, pathology and probable pathogenesis. *Ann. Intern. Med.* 1976;84:181–192
31. Desta Z., Soukhova N.V., Flockhart D.A.: Inhibition of cytochrome P450 (CYP450) isoforms by isoniazid: potent inhibition of CYP2C19 and CYP3A. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2001;45:382–392

32. Attri S., Rana S.V., Vaiphei K., Sodhi C.P., Katyal R., Goel R.C. i wsp.: Isoniazid- and rifampicin-induced oxidative hepatic injury — protection by N-acetylcysteine. *Hum. Exp. Toxicol.* 2000;19:517–522
33. Park B.K., Kitteringham N.R., Maggs J.L., Pirmohamed M., Williams D.P.: The role of metabolic activation in drug-induced hepatotoxicity. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 2005;45:177–202
34. Vickers A.E., Bentley P., Fisher R.L.: Consequences of mitochondrial injury induced by pharmaceutical fatty acid oxidation inhibitors is characterized in human and rat liver slices. *Toxicol. Vitro* 2006;20:1173–1182
35. Watanabe S., Phillips M.J.: Acute phalloidin toxicity in living hepatocytes. Evidence for a possible disturbance in membrane flow and for multiple functions for actin in the liver cell. *Am. J. Pathol.* 1986;122:101–111
36. Ramm G.A., Ruddell R.G.: Hepatotoxicity of iron overload: mechanisms of iron-induced hepatic fibrogenesis. *Semin. Liver Dis.* 2005;25:433–449
37. Rauen U., Petrat F., Sustmann R., de Groot H.: Iron-induced mitochondrial permeability transition in cultured hepatocytes. *J. Hepatol.* 2004;40:607–615
38. Reid A.B., Kurten R.C., McCullough S.S., Brock R.W., Hinson J.A.: Mechanisms of acetaminophen-induced hepatotoxicity: Role of oxidative stress and mitochondrial permeability transition in freshly isolated mouse hepatocytes. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 2005;312:509–516
39. Rolo A.P., Palmeira C.M., Wallace K.B.: Mitochondrially mediated synergistic cell killing by bile acids. *Biochim. Biophys. Acta* 2003;1637:127–132
40. Nakagawa Y., Moore G.: Role of mitochondrial membrane permeability transition in phydroxybenzoate ester-induced cytotoxicity in rat hepatocytes. *Biochem. Pharmacol.* 1999;58:811–816
41. Palmeira C.M., Moreno A.J., Madeira V.M.: Metabolic alterations in hepatocytes promoted by the herbicides paraquat, dinoseb and 2,4-D. *Arch. Toxicol.* 1994;1(68): 24–31
42. Palmeira C.M., Moreno A.J., Madeira V.M.: Interactions of herbicides 2,4-D and dinoseb with liver mitochondrial bioenergetics. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 1994;127:50–57
43. Hirai K., Ikeda K., Wang G.Y.: Paraquat damage of rat liver mitochondria by superoxide production depends on extramitochondrial NADH. *Toxicology* 1992;72:1–16
44. Palmeira C.M., Moreno A.J., Madeira V.M.: Thiols metabolism is altered by the herbicides paraquat, dinoseb and 2,4-D: A study in isolated hepatocytes. *Toxicol. Lett.* 1995;81:115–123
45. Chen J., Schenker S., Frosto T.A., Henderson G.I.: Inhibition of cytochrome c oxidase activity by 4-hydroxynone-nal (HNE). Role of HNE adduct formation with the enzyme subunits. *Biochim. Biophys. Acta* 1998;1380:336–344
46. Pascussi J.M., Drocourt L., Gerbal-Chaloin S., Fabre J.M., Maurel P., Vilarem M.J.: Dual effect of dexamethasone on CYP3A4 gene expression in human hepatocytes. Sequential role of glucocorticoid receptor and pregnane X receptor. *Eur. J. Biochem.* 2001;268:6346–6358
47. Sajan M.P., Satav J.G., Bhattacharya R.K.: Effect of aflatoxin B *in vitro* on rat liver mitochondrial respiratory functions. *Ind. J. Exp. Biol.* 1997;35:1187–1190
48. Sies H.: Role of reactive oxygen species in biological processes. *Klin. Wochenschr.* 1991;69:965–968
49. Pohl L.R.: Drug-induced allergic hepatitis. *Semin. Liver Dis.* 1990;10:305–315
50. Beckman J.S.: Oxidative damage and tyrosine nitration from peroxynitrite. *Chem. Res. Toxicol.* 1996;9:836–844
51. Hinson J.A., Pike S.L., Pumford N.R., Mayeux P.R.: Nitrotyrosine-protein adducts in hepatic centrilobular areas following toxic doses of acetaminophen in mice. *Chem. Res. Toxicol.* 1998;11:604–607
52. Scandalios J.G.: Oxidative stress: Molecular perception and transduction of signals triggering antioxidant gene defenses. *Braz. J. Med. Biol. Res.* 2005;38:995–1014
53. Rutkowski R., Pancewicz S.A., Rutkowski K., Rutkowski J.: Znaczenie reaktywnych form tlenu i azotu w patomechanizmie procesu zapalnego. *Pol. Merk. Lek.* 2007;XXIII:131–136
54. Lei X.G.: *In vivo* antioxidant role of glutathione peroxidase: Evidence from knockout mice. *Methods Enzymol.* 2002;347:213–225
55. Han D., Hanawa N., Saberi B., Kaplowitz N.: Mechanisms of liver injury. III. Role of glutathione redox status in liver injury. *Am. J. Physiol. Gastrointest Liver Physiol.* 2006;291:G1–G7
56. Davis D.C., Potter W.Z., Jollow D.J., Mitchell J.R.: Species differences in hepatic glutathione depletion, covalent binding and hepatic necrosis after acetaminophen. *Life Sci.* 1974;14:2099–2109
57. Matsumaru K., Ji C., Kaplowitz N.: Mechanisms for sensitization to TNF-induced apoptosis by acute glutathione depletion in murine hepatocytes. *Hepatology* 2003;37:1425–1434
58. Kong A.N., Owuor E., Yu R., Hebbar V., Chen C., Hu R. i wsp.: Induction of xenobiotic enzymes by the MAP kinase pathway and the antioxidant or electrophile response element (ARE/EpRE). *Drug Metab. Rev.* 2001;33:255–271
59. Yang H., Magilnick N., Lee C., Kalmaz D., Ou X., Chan J.Y. i wsp.: Nrf1 and Nrf2 regulate rat glutamate-cysteine ligase catalytic subunit transcription indirectly via NF-kappaB and AP-1. *Mol. Cell Biol.* 2005;25:5933–5946

- 
60. Tsokos-Kuhn J.O., Hughes H., Smith C.V., Mitchell J.R.: Alkylation of the liver plasma membrane and inhibition of the Ca<sup>2+</sup> ATPase by acetaminophen. *Biochem. Pharmacol.* 1988;37:2125–2131
61. Dartsch P.C., Hildenbrand S., Kimmel R., Schmahl F.W.: Investigations on the nephrotoxicity and hepatotoxicity of trivalent and hexavalent chromium compounds. *Int. Arch. Occup. Environ. Health* 1998;71 Supl.:S40–S45
62. Park J.E., Yang J.H., Yoon S.J., Lee J.H., Yang E.S., Park J.W.: Lipid peroxidation-mediated cytotoxicity and DNA damage in U937 cells. *Biochimie* 2000;84:1199–1205
63. Barreto R., Kawakita S., Tsuchiya J., Minelli E., Pavasuthipaisit K., Helmy A. i wsp.: Metal-induced oxidative damage in cultured hepatocytes and hepatic lysosomal fraction: Beneficial effect of a curcumin/absinthium compound. *Chin. J. Dig. Dis.* 2005;6:31–36
64. Sokol R.J., Devereaux M., Mierau G.W., Hambidge K.M., Shikes R.H.: Oxidant injury to hepatic mitochondrial lipids in rats with dietary copper overload. Modification by vitamin E deficiency. *Gastroenterology* 1990;99:1061–1071
65. Letteron P., Fromenty B., Terris B., Degott C., Pessayre D.: Acute and chronic hepatic steatosis lead to *in vivo* lipid peroxidation in mice. *J. Hepatol.* 1996;24:200–208