

## LIVER ISCHAEMIA/REPERFUSION INJURY

TURECKÝ L.

### ISCHEMICKO-REPERFÚZNE POŠKODENIE PEČENE

#### Abstract

**Turecky L:**  
**Liver Ischaemia/Reperfusion Injury**  
**Bratisl Lek Listy 1999; 100 (1): 36–40**

Reperfusion injury represents an accentuation of the hypoxic injury caused by the restoration of oxygenated blood flow to the liver after a period of anoxia or hypoxia. Reoxygenation injury may occur after any ischaemic episode, but the most dramatic form in clinical hepatology occurs during orthotopic liver transplantation and after unclamping of the portal vessels during liver resection. Reactive oxygen radicals appear to play an important role in the development of such injury, as has been demonstrated by direct measurements of their release and by the protective effects of antioxidants. The relative contribution of the various liver cell types to the release of reactive oxygen species and the differences in sensitivity to ischemic and reperfusion injury between liver cell subtypes are discussed. (*Fig. 3, Ref. 31.*)

**Key words:** liver ischemia, reperfusion injury, free radicals, Kupffer cells.

Ischemicko-reperfúzne poškodenie pečene sa v poslednom čase dostáva do pozornosti hepatológov hlavne v súvislosti s rozšírením ortotopickej transplantácie pečene. S týmto typom poškodenia pečeneňového parenchýmu sa však nestretávame len u pacientov po transplantácii pečene, ale aj u pacientov s rôznymi poruchami prietoku krvi pečenu, napr. akútna insuficiencia pravého srdca, šok, alebo prerušenie prítoku portálnej krvi pri resekcii pečene. Reoxygenačné, resp. reperfúzne poškodenie predstavuje zosilnenie a prehĺbenie hypoxického poškodenia ako následok obnovenia prietoku kyslíkom saturovanej krvi pečenu. K reperfúznemu poškodeniu môže dôjsť po akejkoľvek ischemickej epizóde, pričom s najťažšími formami tohto poškodenia sa v klinickej hepatológii stretávame u pacientov po ortotopickej transplantácii pečene a po znovuoobnovení prietoku krvi cez portálne cievy po resekcii pečene (Clavien a spol., 1992; Rosser a Gores, 1995).

The Institute of Medical Chemistry, Biochemistry and Clinical Biochemistry, Medical Faculty, Comenius University, Bratislava  
**Address for correspondence:** L. Turecký, MD, PhD, Ústav lekárskej chémie LFUK, Sasinkova 4, 811 08 Bratislava, Slovakia  
Phone: +421.7.59357 295, Fax: +421.7.59357 557,  
Internet: laco5@hotmail.com

#### Abstrakt

**Turecký L.:**  
**Ischemicko-reperfúzne poškodenie pečene**  
**Bratisl. lek. Listy, 100, 1999, č. 1, s. 36–40**

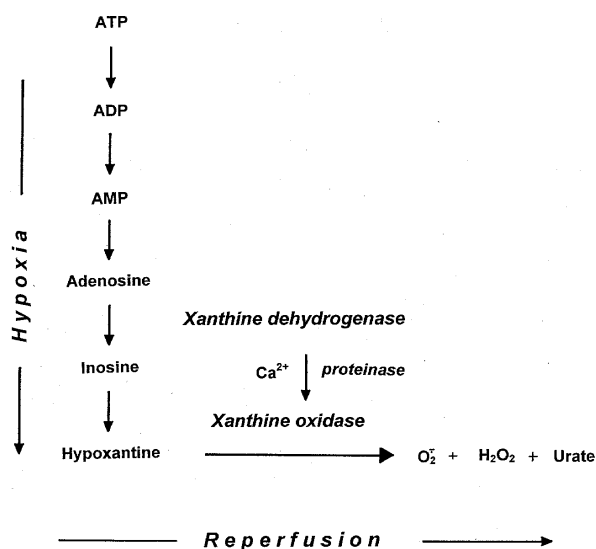
Reperfúzne poškodenie pečene predstavuje zosilnenie a prehĺbenie hypoxického poškodenia ako následok obnovenia prietoku kyslíkom saturovanej krvi pečenu. K reperfúznemu poškodeniu môže dôjsť po akejkoľvek ischemickej epizóde, pričom s najťažšími formami tohto poškodenia sa v klinickej hepatológii stretávame u pacientov po ortotopickej transplantácii pečene a po znovuoobnovení prietoku krvi cez portálne cievy po resekcii pečene. V súčasnosti sa akceptuje rozhodujúca úloha voľných radikálov kyslíka v patogenéze tohto poškodenia pečene. V práci diskutujeme o účasti jednotlivých typov buniek pečene na tvorbe reaktívnych foriem kyslíka v období reperfúzie, ako aj o rozdielnej citlivosti jednotlivých buniek pečene na reperfúzne poškodenie. (*Obr. 3, lit. 31.*)

**Kľúčové slová:** ischemia pečene, reperfúzne poškodenie, voľné radikály, Kupfferove bunky.

Histopatologicky je tento typ poškodenia pečene charakteristický centrilobulárnymi nekrozami s intenzívnou infiltráciou polymorfonukleárnymi leukocytmi (tzv. ischemická hepatitída). Pri biochemickom vyšetrení nachádzame výrazné, no reverzibilné zvýšenie sérových aktivít aminotransferáz (ALT, AST), glutamátdehydrogenázy a laktátdehydrogenázy. Tento obraz nachádzame u pacientov s ischemickou hepatitídou pri cirkulačnom zlyhaní, ako aj u zvierat v experimente po obnovení prietoku krvi pečenu po predchádzajúcej ischemii (Biasi a spol., 1994).

Patogenetické mechanizmy uplatňujúce sa pri vývoji tohto poškodenia pečene nie sú nateraz dostatočne objasnené. Jedným z faktorov, ktorý sťažuje vysvetlenie tohto procesu, je aj heterogenita pečeneňového parenchýmu (hepatocyty, Kupfferove bunky, endotelové bunky, epitelové bunky žľčovodov), pretože ako sa ukazuje, jednotlivé typy buniek pečene môžu rôznou mierou prispie-

Ústav lekárskej chémie, biochémie a klinickej biochémie Lekárskej fakulty UK v Bratislave

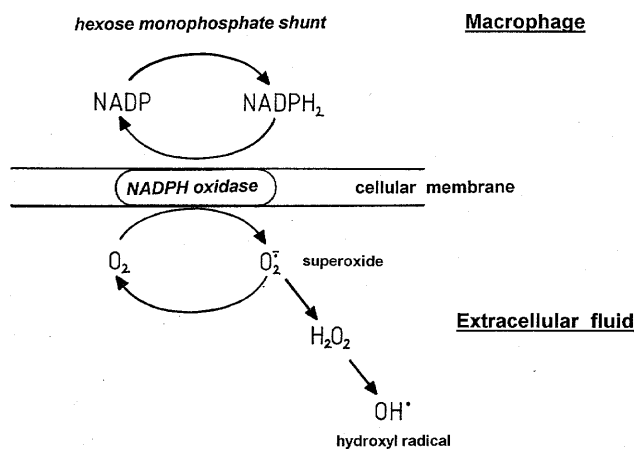


Obr. 1. Predpokladaný mechanizmus tvorby reaktívnych radikálov kyslíka xantinoxidázou.  
Fig. 1. Proposed mechanism for reactive oxygen radicals production in xanthine oxidase catalyzed reaction.

vať k tomuto poškodeniu a preukazujú aj rozdielnu senzitivitu voči hypoxicko-reperfúznemu poškodeniu.

### Hypoxická fáza

K najvýraznejším zmenám počas hypoxickej fázy dochádza v mitochondriách. Chýbanie dostatočného množstva kyslíka, ako koncového akceptora elektrónov v terminálnom dýchacom reťazci, spôsobuje narušenie tohto metabolického procesu. Prenášače elektrónov ostávajú v redukovanom stave, na rozdiel od aeróbných podmienok, keď sú hlavne v oxidovanej forme (Gonzalez-Flecha, 1993). Redukované oxidačno-redukčné koenzýmy vznikajúce v priebehu oxidačných dejov (napr. v Krebsovom cykle, pri betaoxidácii) prestávajú byť v mitochondriách regenerované na oxidované formy, čo má za následok narušenie týchto oxidačných metabolických ciest a zvyšovanie intracelulárneho pomeru  $NAD^+/NADH_2$  (Lemasters a spol., 1987). V dôsledku narušenia procesu terminálnej oxidácie dochádza k inhibícii s ním spriahnutej oxidačnej fosforylácie, a teda aj syntézy ATP. Inhibícia ATP-syntázy, ku ktorej dochádza už vo včasnej fáze anoxie, umožňuje aspoň čiastočné zachovanie protónového gradientu na vnútornej mitochondriovej membráne (Andersson a spol., 1987; Aw a spol., 1987). Inhibícia ATP-syntázy predstavuje akúsi adaptačnú reakciu na hypoxiu umožňujúcu zachovanie integrity mitochondrie a umožňujúcu vysvetliť čiastočné zachovanie membránového potenciálu i protónového gradientu v tejto situácii (Rosser a Gores, 1995). Ak dôjde k prerušeniu hypoxie ešte krátko po jej vzniku, keď ešte nedošlo k zániku membránového potenciálu mitochondrií, dochádza k obnoveniu mitochondriových funkcií a zániku bunky možno predísť (Aw a spol., 1987). V prípade, že hypoxia trvá dlhšie, dochádza k ireverzibilnému zániku membránového potenciálu mitochondrií s nemožnosťou obnovenia ich funkcie a nakoniec k zániku bunky (Andersson a spol., 1987). Kým v mi-

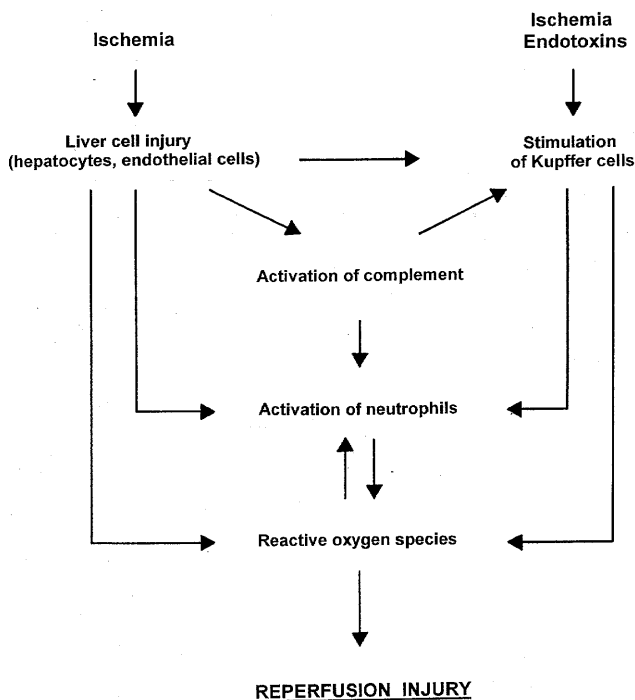


Obr. 2. Tvorba reaktívnych radikálov kyslíka v reakcii katalyzovanej NADPH oxidázou.  
Fig. 2. Production of reactive oxygen radicals in reaction catalyzed by NADPH oxidase.

nulosti sa za kritický faktor vo vývoji hypoxického poškodenia hepatocytu považovala inhibícia oxidačnej fosforylácie a deplécia ATP s následným rozvratom bunkovej homeostázy, v súčasnosti sa ukazuje, že kľúčovú úlohu má zánik membránového potenciálu a zmeny permeability mitochondriovej membrány, nezávislé od deplécie ATP (Pastorino a spol., 1993; Rosser a Gores, 1995).

Jednotlivé typy buniek pečene majú rôznu citlivosť na anoxiu. Pri teplote  $37^\circ C$  sú najcitlivejšie hepatocyty, kým Kupfferove bunky, endotelové bunky a bunky žľčovodov sa javia rezistentnejšie proti anoxii (Rosser a Gores, 1995). Rozdielnu citlivosť buniek pečene na anoxiu nemožno vysvetliť zmenami v deplécii ATP, lebo po 30 minút trvajúcej anoxii majú prakticky všetky bunky znížený obsah ATP o viac ako 90 % (Noack a spol., 1993). Zdá sa, že vysvetlením rozdielnej citlivosti buniek pečene na ischémiu je rozdielna aktivita intracelulárnych proteináz. Aktivita nelyzozómových proteináz hepatocytov pri anoxii je omnoho vyššia ako pri ostatných typoch buniek pečene (Noack a spol., 1993). O určitej heterogenite v citlivosti hepatocytov na ischemické poškodenie by svedčil histologický obraz s maximom nekroz v perivenóznej zóne pečeneňového lalôčika. Pokusy na modeloch s perfúziou izolovanej pečene však ukázali, že anoxia vyvolaná perfúziou pečene krvou sytenou dusíkom postihovala rovnakou mierou hepatocyty vo všetkých troch zónach pečeneňového lalôčika (Marotto a spol., 1988). Na základe týchto výsledkov sa ukazuje, že výraznejšie poškodenie perivenóznej oblasti pečeneňového lalôčika pri ischémiu nie je spôsobené výraznejšou citlivosťou perivenóznych hepatocytov na ischémiu, ale pravdepodobne následkom rozdielneho prísunu kyslíka, ktorý je najnižší v perivenóznej oblasti.

Vo väčšine prípadov v klinickej praxi však nejde o absolútne zastavenie prísunu kyslíka do pečene, ale o zníženie perfúzie a o relatívny nedostatok kyslíka. Relatívna hypoxia spôsobuje narušenie terminálnej oxidácie a oxidačnej fosforylácie s dep-



Obr. 3. Zjednodušená schéma patogenézy reperfúzneho poškodenia pečene (podľa Rauena a spol., 1994).

Fig. 3. Simplified scheme of pathogenesis of reperfusion liver injury (after Rauen et al., 1994).

léciiou ATP (Gores a spol., 1988; Gonzalez-Flecha a spol., 1993). Narušenie terminálnej oxidácie so zníženou možnosťou oxidácie redukovaných koenzýmov má za následok ich hromadenie a narastanie pomeru NADH/NAD<sup>+</sup>. Časť elektrónov uniká na kyslík za vzniku superoxidového aniónu. Z uvedeného vyplýva, že hypoxia vystavuje hepatocyty dvojakému nebezpečenstvu: na jednej strane dochádza k deplécii ATP so všetkými jej následkami a na druhej strane zvýšený obsah redukovaných ekvivalentov vystavuje bunku paradoxne „oxidačnému stresu“ v dôsledku tvorby reaktívnych foriem kyslíka. Túto hypotézu potvrdzujú aj pokusy na experimentálnych modeloch so zníženou perfúziou pečene, kde hepatocyty v hraničnej zóne 2 pečeneového lalôčika, nachádzajúcej sa medzi normoxickou periportálnou a anoxickou perivenóznou zónou sa poškodzovali najrýchlejšie (Marotto a spol., 1988).

### Reperfúzna fáza

Ako reperfúzne poškodenie označujeme poškodenie buniek v dôsledku obnovenia normálneho prívodu kyslíka, keď boli predtým vystavené pôsobeniu hypoxie. Reperfúzne poškodenie predstavuje zložitý patologický proces, v patogenéze ktorého sa uplatňuje ischemická zložka, ako aj oxidačný stres. Tento typ poškodenia je dobre známy v kardiológii, do pozornosti hepatológov sa však dostal až so širším zavedením transplantácie pečene do terapie hepatálnych ochorení (Clavien a spol., 1992; Chazouilleres a spol., 1992).

V súčasnosti sa už nepochybuje o rozhodujúcej úlohe reaktívnych radikálov kyslíka v patogenéze reperfúzneho poškodenia

(Rauen a spol., 1994; Rosser a Gores, 1995; Colantoni a spol., 1996; LeMoine a spol., 1996). Zdrojom reaktívnych radikálov kyslíka v reperfúzne fáze môžu byť hepatocyty, Kupfferove bunky aj neutrofilné granulocyty.

### Hepatocyty

Hlavným zdrojom kyslíkových radikálov v hepatocytoch sú mitochondrie (Littauer a deGroot, 1992), v ktorých nedostatok kyslíka vyvolal poškodenie dýchacieho reťazca a nahromadenie redukovaných koenzýmov, ktoré môžu byť zdrojom elektrónov pre tvorbu radikálov v reperfúzne fáze. Okrem dýchacieho reťazca môžu byť ďalším zdrojom reaktívnych radikálov kyslíka v hepatocytoch aj mikrozómový *monoxygenázový systém cytochrómu P-450* a enzým *xantinoxidáza*. Uplatnenie xantinoxidázy pri produkcii reaktívnych foriem kyslíka vysvetľuje nasledovná teória. Počas hypoxickej fázy dochádza k deplécii zásob ATP v hepatocytoch a v dôsledku toho k porušeniu normálnych iónových gradientov na bunkových membránach. V dôsledku zmenenej permeability membrán stúpa intracelulárna koncentrácia Ca<sup>2+</sup> s následnou aktiváciou Ca-dependentnej intracelulárnej proteínázy katalyzujúcej premenu cytosólovej xantindehydrogenázy (XAD) na xantinoxidázu (XAO) (McCord a spol., 1985). Znížená produkcia ATP v ischemickom tkanive má za následok výraznejšiu degradáciu adenínových nukleotidov, a tým zvýšenú tvorbu substrátu XAO — hypoxantínu. Po obnovení cirkulácie (zvýšenie prísunu kyslíka) XAO metabolizuje nahromadený hypoxantín, pričom priamym prenosom elektrónov na kyslík dochádza k tvorbe veľkého množstva superoxidového aniónu. Toto množstvo presahuje kapacitu bunkových antioxidačných mechanizmov a vyvoláva poškodenie buniek. Pečeň predstavuje tkanivo, ktoré je bohaté na XAD, a konverzia XAD na oxidázovú formu mechanizmom limitovanej proteolýzy bola v ischemizovanej pečeni jednoznačne dokázaná (Engersson a spol., 1987). Konverzia dehydrogenázy na oxidázu prebieha rýchlo (približne 50 % enzýmu sa premieňa na oxidázovú formu počas 3,5 h hepatálnej ischemie). Experimenty na zvieratách ukázali schopnosť alopurinolu (inhibitor XAO) a enzýmov SOD a katalázy redukovať závažnosť ischemicko-reperfúzneho poškodenia pečene (Adkison a spol., 1986). Ešte donedávna sa XAO považovala za jeden z rozhodujúcich zdrojov reaktívnych foriem kyslíka pri reperfúznom poškodení (Arthur, 1988). Neskôr sa ukázalo, že XAO predstavuje len prechodný zdroj kyslíkových radikálov uplatňujúci sa hlavne v počiatočných fázach reperfúzie, zatiaľ čo poškodené mitochondrie sú kontinuálnym a kvantitatívne dominujúcim zdrojom kyslíkových radikálov v hepatocytoch pri reperfúznom poškodení pečene (Jaeschke a Mitchell, 1989).

Zvýšená produkcia kyslíkových radikálov v hepatocytoch počas reperfúzie vyžaduje predtým určitý čas hypoxie, ktorý je okolo 4 hodín pri hepatocytoch v bunkových kultúrach, je však omnoho kratší v intaktnom orgáne (Rauen a spol., 1994).

### Kupfferove bunky

Tento typ buniek je vybavený dvoma enzýmami schopnými produkovať reaktívne radikály — *NADPH-oxidáza* a *NO-syntáza* (Decker, 1990). NADPH-oxidáza katalyzuje tvorbu superoxidového aniónu, ktorý môže dizmutovať za vzniku H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. NO-syntáza katalyzuje tvorbu NO radikálu z guanidínovej skupiny L-arginínu. Akým spôsobom dochádza k aktivácii produkcie radikálov

v Kupfferových bunkách? Predpokladá sa, že to môže byť zvýšenie koncentrácie  $\text{Ca}^{2+}$  v cytosóle v reperfúznej fáze (Rymson a spol., 1991). K aktivácii Kupfferových buniek môže dôjsť aj sekundárne po poškodení hepatocytov alebo endotelových buniek (Jaeschke a spol., 1993). Intracelulárne proteíny uvoľnené z poškodených buniek aktivujú komplementovú kaskádu. Aktivované zložky komplementu, ako napr. C5a, môžu aktivovať produkciu kyslíkových radikálov v Kupfferových bunkách. Aktivácia tvorby kyslíkových radikálov v Kupfferových bunkách môže byť aj dôsledkom fagocytózy rozpadnutých pečeneých buniek týmito makrofágmi.

#### *Neutrofilné granulocyty*

Neutrofilny produkujú podobne ako Kupfferove bunky kyslíkové radikály v reakcii katalyzovanej NADPH-oxidázou. Na rozdiel od Kupfferových buniek je v neutrofilných granulocytoch prítomná myeloperoxidáza využívajúca  $\text{H}_2\text{O}_2$  a  $\text{Cl}^-$  na tvorbu reaktívnej kyseliny chlórnej ( $\text{HClO}$ ) (Weiss, 1989). Hromadenie neutrofilov v pečeni sa pozorovalo už vo včasných fázach reperfúzie (Jaeschke a spol., 1990; Jaeschke a Farhood, 1991; Jaeschke a spol., 1993). Mechanizmus spomalenia prechodu a hromadenia neutrofilov v kapilárach pečene nie je celkom jasný, lebo sa pochybuje o tom, či dochádza k expresii P-selektínov a E-selektínov na endotelových bunkách sinusoidov pečene (Steinhoff a spol., 1993).

#### *Citlivosť buniek pečene voči reperfúznemu poškodeniu*

Aj tu sú podobne ako v prípade ischemického poškodenia jednotlivé bunky pečene rozdielne citlivé na reperfúzne poškodenie. Relatívne najmenej citlivé sú hepatocyty, pravdepodobne v dôsledku bohatej výbavy antioxidantnými mechanizmami (Gonzalez-Flecha a spol., 1993). Omnoho citlivejšie na reperfúzne poškodenie ako hepatocyty sú endotelové bunky sinusov pečene (Thurman a spol., 1993). Ich zvýšená citlivosť pri reoxygénácii je podmienená nedostatočnou kapacitou endogénnych antioxidantných mechanizmov v porovnaní s kapacitou produkovať reaktívne kyslíkové radikály. Závažnosť poškodenia endotelových buniek spočíva v narušení mikrocirkulácie, ktoré spôsobuje zhoršenie prietoku krvi tkanivom pečene a nakoniec vyúsťuje do ischemickej nekrózy ireverzibilne narušujúcej funkciu pečene. Prevencia poškodenia endotelových buniek pri transplantáciách, resp. pri resekcii pečene (podávanie antioxidantov pacientom alebo do prezervačných roztokov) môže zlepšiť prietok krvi pečenu a zabrániť vzniku ďalšieho ischemického poškodenia.

O ďalšom druhu hepatálnych buniek — epitelových bunkách žľčovodov — je len málo informácií o ich odolnosti voči ischemicko-reperfúznemu poškodeniu, i keď sú z praxe známe striktúry žľčovodov ako jedna z možných komplikácií hypoxicko-reperfúzneho poškodenia pečene (Rosser a Gores, 1995). V porovnaní s hepatocytmi sú bunky žľčovodov rezistentnejšie voči anoxickému poškodeniu a citlivejšie na reoxygénáciu (Noack a spol., 1993). Táto zvýšená citlivosť epitelových buniek žľčovodov voči reoxygénácii je pravdepodobne dôsledkom zvýšenej schopnosti tvorby reaktívnych radikálov kyslíka a zníženým obsahom redukovaného glutatiónu v porovnaní s hepatocytmi.

#### *Niektoré otázky patogenézy reperfúzneho poškodenia*

Úloha jednotlivých zdrojov kyslíkových radikálov v rôznych fázach reperfúzie môže byť odlišná a môže byť ovplyvnená viacerými faktormi. Vo včasných fázach reperfúzie sa prejavuje významná

úloha Kupfferových buniek, v neskoršom období (6—24 hodín po začatí reperfúzie) prispievajú k tvorbe kyslíkových radikálov čoraz väčšími infiltrujúce neutrofilny. Podiel jednotlivých typov pečeneých buniek na tvorbe kyslíkových radikálov ovplyvňujú aj ďalšie faktory, ako napr. dĺžka hypoxickej fázy alebo stav výživy (stav rezerv glykogénu a ATP v hepatocytoch). Ukazuje sa, že aj prítomnosť endotoxínu indukuje tvorbu reaktívnych radikálov v pečeni. Bolo dokázané, že endotoxémia sa zúčastňuje na vývoji poškodenia pečene po rozsiahlejších resekcii pečene (Mochida a spol., 1990).

Otvorenou ostáva aj otázka, akými patomechanizmami sa uplatňujú reaktívne kyslíkové radikály pri poškodzovaní buniek pečene, či ide o priamy účinok (interakcia s proteínmi, DNA, proces lipoperoxidácie), alebo či slúžia len ako signál pre uvoľnenie ďalších toxických mediátorov. Štúdia LeMoina a spol. (1996) ukázala, že peroxid vodíka tvoriaci sa počas reperfúzie stimuloval sekreciu TNF (tumor necrotizing factor) a interleukínu IL-10. Kyslíkové radikály sa môžu uplatniť aj pri indukcii proinflamačných génov aktiváciou transkripčného faktora NF- $\kappa$ B (Jaeschke a spol., 1996), čo sa prejaví zvýšenou syntézou adhezívnych molekúl a chemokínov, čo prispieva k hromadeniu neutrofilov v tkanive pečene.

#### **Záver**

Lepšie poznanie patomechanizmov uplatňujúcich sa pri vývoji ischemicko-reperfúzneho poškodenia pečene umožňuje efektívnejšie využitie preventívnych prostriedkov, a tým zlepšuje prognózu pacientov s ischemickou hepatitídou alebo po rozsiahlych chirurgických výkonoch na pečeni (resekcie, transplantácie).

#### **Literatúra**

- Adkison D., Hollwarth M.E., Benoit J.N., Parks D.A., McCord J.M., Granger D.N.:** Role of free radicals in ischemia-reperfusion injury to the liver. *Acta Physiol. Scand.*, 548, 1986, Suppl., s. 101—107.
- Andersson B.S., Aw T.Y., Jones D.P.:** Mitochondrial transmembrane potential and pH gradient during anoxia. *Amer. J. Physiol.*, 252, 1987, s. C349—C355.
- Arthur M.J.P.:** Reactive oxygen intermediates and liver injury. *J. Hepatol.*, 6, 1988, s. 125—131.
- Aw T.Y., Andersson B.S., Jones D.P.:** Suppression of mitochondrial respiratory function after short term anoxia. *Amer. J. Physiol.*, 252, 1987, s. C362—C368.
- Biasi F., Chiarpotto E., Lanfranco G., Capra A., Zummo U., Chiappino I., Scavazza A., Albano E., Poli G.:** Oxidative stress in the development of human ischemic hepatitis during circulatory shock. *Free Rad. Biol. Med.*, 17, 1994, s. 225—233.
- Clavien P.A., Harvey R.C., Strasberg S.M.:** Preservation and reperfusion injuries in liver allografts. *Transplantation*, 53, 1992, s. 957—978.
- Colantoni A., DeMarin N., Gasbarrini A., Gasbarrini G., Floyd R.A., VanThiel D.H.:** Prevention of hypoxia/reoxygenation injury in rat liver by sodium salicylate. *Hepatology*, 24, 1996, s. 238A.
- Decker K.:** Biologically active products of stimulated liver macrophages (Kupffer cells). *Europ. J. Biochem.*, 192, 1990, s. 245—261.
- Engersson T.D., McKelvey T.G., Rhyne D.B., Boggio E.B., Snyder, S.J., Jones H.P.:** Conversion of xanthine dehydrogenase to oxidase in ischemic rat tissues. *J. Clin. Invest.*, 79, 1987, s. 1564—1570.

- Gonzalez-Flecha B., Cutrin J.C., Boveris A.:** Time course and mechanism of oxidative stress and tissue damage in rat liver subjected to in vivo ischemia-reperfusion. *J. Clin. Invest.*, 91, 1993, s. 456–464.
- Gores G.J., Nieminen A.L., Fleishman K.E., Dawson T.L., Herman B., Lemasters J.J.:** Swelling, reductive stress and cell death during chemical hypoxia in hepatocytes. *Amer. J. Physiol.*, 255, 1988, s. C347–C354.
- Chazouilleres O., Calmus Y., Vaubourdoille M., Ballet F.:** Preservation-induced liver injury: clinical aspects, mechanisms and therapeutic approaches. *J. Hepatol.*, 18, 1993, s. 123–134.
- Jaeschke H., Mitchell J.R.:** Mitochondria and xanthine oxidase both generate reactive oxygen species in isolated perfused rat liver after hypoxic injury. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 160, 1989, s. 140–147.
- Jaeschke H., Farhood A., Smith C.W.:** Neutrophils contribute to ischemia-reperfusion injury in rat liver in vivo. *FASEB J.*, 4, 1990, s. 3355–3359.
- Jaeschke H., Farhood A.:** Neutrophil and Kupffer cell-induced oxidant stress and ischemia-reperfusion injury in rat liver. *Amer. J. Physiol.*, 260, 1991, s. G355–G362.
- Jaeschke H., Farhood A., Bautista A.P., Spolarics Z., Spitzer J.J.:** Complement activates Kupffer cells and neutrophils during reperfusion after hepatic ischemia. *Amer. J. Physiol.*, 264, 1993, s. G801–G809.
- Jaeschke H., Wang Y., Essani N.A.:** reactive oxygen species activate the transcription factor NF-KB in the liver by induction of lipid peroxidation. *Hepatology*, 24, 1996, s. 238A.
- Lemasters J.J., DiGiuseppe J., Nieminen A.L., Herman B.:** Blebbing, free Ca<sup>2+</sup> and mitochondrial membrane potential preceding cell death in hepatocytes. *Nature*, 325, 1987, s. 78–81.
- LeMoine O., Stordeur P., Louis H., Goldman M., Deviere J.:** Involvement of reactive oxygen intermediates (ROI) in TNF and IL-10 production after liver cold ischemia and reperfusion. *Hepatology*, 24, 1996, s. 239A.
- Littauer A., deGroot H.:** Release of reactive oxygen by hepatocytes on reoxygenation: three phases and role of mitochondria. *Amer. J. Physiol.*, 262, 1992, s. G1015–G1020.
- Marotto M.E., Thurman R.G., Lemasters J.J.:** Early midzonal cell death during low-flow hypoxia in the isolated perfused rat liver: protection by allopurinol. *Hepatology*, 8, 1988, s. 585–590.
- McCord J.M.:** Oxygen-derived free radicals in postischemic tissue injury. *New Engl. J. Med.*, 312, 1985, s. 159–163.
- Mochida S., Ogata I., Hirata K., Ohta Y., Yamada S., Fujiwara K.:** Provocation of massive hepatic necrosis by endotoxins after partial hepatectomy in rats. *Gastroenterology*, 99, 1990, s. 771–777.
- Noack K., Bronk S.F., Kato A., Gores G.J.:** Bile duct cells are more vulnerable to reoxygenation injury than to anoxia. *Transplantation*, 56, 1993, s. 495–500.
- Pastorino J.G., Snyder J.W., Serroni A., Hoek J.B., Farber J.L.:** Cyclosporine and carnitine prevent anoxic death of culture hepatocytes by inhibiting the mitochondrial permeability transition. *J. Biol. Chem.*, 268, 1993, s. 13791–13798.
- Rauen U., Viebahn R., Lauchart W., deGroot H.:** The potential role of reactive oxygen species in liver ischemia/reperfusion injury following liver surgery. *Hepato-Gastroenterology*, 41, 1994, s. 333–336.
- Rosser B.G., Gores G.J.:** Liver cell necrosis: cellular mechanisms and clinical implications. *Gastroenterology*, 108, 1995, s. 252–275.
- Rymasa B., Wang J.F., deGroot H.:** O<sub>2</sub><sup>-</sup>-release by activated Kupffer cells upon hypoxia-reoxygenation. *Amer. J. Physiol.*, 261, 1991, s. 6602–6607.
- Steinhoff G., Behrend M., Schrader B., Duijvestijn A.M., Wonigeit K.:** Expression patterns of leukocyte adhesion ligand molecules on human liver endothelia. *Amer. J. Pathol.*, 142, 1993, s. 481–488.
- Thurman R.G., Bunsendahl H., Lemasters J.J.:** Role of sinusoidal-lining cells in hepatic reperfusion injury following cold storage and transplantation. *Semin. Liver Dis.*, 13, 1993, s. 93–100.
- Weiss S.J.:** Tissue destruction by neutrophils. *New Engl. J. Med.*, 320, 1989, s. 365–376.

Do redakcie došlo 14.5.1998.