

Niedotlenienie wątroby

Hypoxic liver injury

Danuta Dudzik¹, Małgorzata Knaś¹, Róża Wiśniewska²,
Małgorzata Borzym-Kluczyk¹, Krzysztof Raczkowski²,
Marek Niczyporuk³, Alina Kępka⁴, Ewa Dutkiewicz⁵,
Katarzyna Knaś-Karaszewska⁶, Sławomir Szajda¹,
Maciej Sadowski⁷, Joanna Jakimowicz-Rudy¹, Krzysztof Zwierz^{1,3}

¹ Zakład Biochemii Farmaceutycznej, Uniwersytet Medyczny w Białymstoku

² Zakład Farmakologii Uniwersytet Medyczny w Białymstoku

³ Wyższa Szkoła Kosmetologii i Ochrony Zdrowia, Białystok

⁴ Zakład Diagnostyki Laboratoryjnej Instytutu „Pomnik-Centrum Zdrowia Dziecka” w Warszawie

⁵ Wojewódzki Szpital Zespolony, Oddział Obserwacyjno Zakaźny, Akademia Świętokrzyska, Wydział Nauk o Zdrowiu, Kielce

⁶ NZOZ Stomatologia dr Knaś, Białystok

⁷ Oddział Chirurgii Ogólnej i Naczyniowej, Wojewódzki Szpital Specjalistyczny w Olsztynie

Summary: Hypoxic liver injury (HLI), also known as hypoxic hepatitis, is due to inadequate oxygen uptake by the centrilobular hepatocytes, resulting in apoptosis or necrosis. The pathophysiology of hepatic ischemia includes a decrease in ATP production and increase in activity of intra- and extracellular proteases. Hypoxia inducible factor (HIF-1) adapts liver cells to hypoxia by increase in expression of glycolytic enzymes, glucose transporters and proteins responsible for long life span of the liver cells. HIF-1 also increases expression of factors stimulating maturation of erythrocytes and angiogenesis. Hypoxia influence on many organs, including heart muscle and skin.

Słowa kluczowe: wątroba • niedotlenienie wątroby • hipoksja

Key words: liver • hypoxic liver injury • hypoxia

Adres do korespondencji: Danuta Dudzik, Zakład Biochemii Farmaceutycznej, Uniwersytet Medyczny w Białymstoku, ul. Mickiewicza 2a, 15-089 Białystok, Polska, e-mail: danutadu@umwb.edu.pl

Etiologia niedokrwienne uszkodzenia wątroby

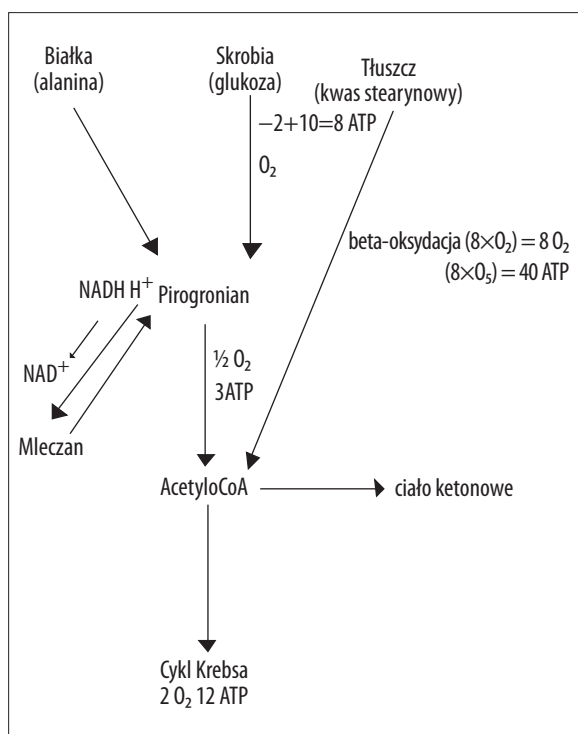
Niedotlenienie powoduje uszkodzenie wątroby określane jako hypoxic liver injury (HLI), ischemic liver, lub shock liver [1]. Brak tlenu w hepatocytach może być spowodowany: niedokrwieniem, przekrwieniem (zwolnieniem szybkości przepływu krwi wskutek utrudnionego odpływu krwi z wątroby), zmniejszeniem ilości tlenu w przepływającej krwi, zmniejszonym wychwytem lub zwiększonym zużyciem tlenu przez hepatocyty [2]. Niedokrwienie wątroby może być spowodowane zmniejszeniem podaży krwi z krążenia ogólnego, z tętnicy wątrobowej lub żyły wrotnej. Niewydolność krążenia ogólnego towarzyszy zawałom mięśnia sercowego i udarom cieplnym [3]. Zator tętnicy wątrobowej jest rzadki [4], częściej występuje zator żyły wrotnej, czyli zespół Budd-Chiari [5]. Zwolnienie szybkości krwi przepływającej przez wątrobę następuje podczas zastoju krwi w czasie przekrwienia wątroby, wskutek utrudnionego odpływu [1]. Niedotlenienie

wątroby może być spowodowane zmniejszeniem ilości tlenu w przepływającej krwi wskutek: niewydolności oddechowej [6], bezdechów sennych [7], anemii [8], zatrucia tlenkiem węgla [9] lub ksenobiotykami [10]. W czasie sepsy zwiększa się zapotrzebowanie wątroby na tlen [11], przy zmniejszeniu pobierania tlenu z krwi wskutek tworzenia się mikrozakrzepów [12].

Tlen w wątrobie

Tlen jest potrzebny w wątrobie głównie do spalania pokarmów, hydroksylacji pierścieni węglowodorowych substancji endogennych i ksenobiotyków, syntezy prostaglandyn i tromboksanów, oraz produkcji wolnych rodników.

Cukry, tłuszcze, białka i inne składniki pokarmu (np. etanol) wchłonięte w przewodzie pokarmowym, dostają się do wątroby z krwią żyłą wrotną. Wątroba częściowo rozkłada i wstępnie przetwarza składniki pokarmowe do prost-



Rycina 1. Rola tlenu w spalaniu pokarmu.

szych związków. Cukry proste (głównie glukoza) są rozkładane w cytoplazmie hepatocyta do kwasu pirogronowego (Rycina 1). Kwas pirogronowy przechodzi do mitochondrium gdzie jest dekarboksylowany, utleniany do acetylokoenzymu A i spalany w cyklu kwasów trikarboksylowych do ditlenku węgla i wody. Do spalania 1 mola glukozy w wątrobie, potrzeba 6 moli tlenu [1 mol O_2 (glikoliza) + $2 \times \frac{1}{2}$ mola O_2 (oksydacyjna dekarboksylacja dwu moli kwasu pirogronowego) + 2×2 mole O_2 (utlenienie dwu moli acetylokoenzymu A w cyklu Krebsa)]. W czasie spalania 1 mola glukozy powstaje 36 moli ATP [6 moli ATP (glikoliza) + 2×3 moli ATP (oksydacyjna dekarboksylacja dwu moli kwasu pirogronowego) + 12×2 moli ATP (utlenienie dwu moli acetylokoenzymu A w cyklu Krebsa)]. Spalenie 1 mola kwasu stearynowego (Rycina 1) wymaga 26 moli tlenu [8 moli O_2 (8 powtórzeń β -oksydacji) + 9×2 moli O_2 (utlenienie 9 moli acetylokoenzymu A w cyklu Krebsa)] i dostarcza 146 moli ATP [-2 mole ATP (aktywacja = tworzenie stearylokoenzymu A) + 8×5 moli ATP (8 powtórzeń β -oksydacji) + 9×12 moli ATP (utlenienie 9 moli acetylokoenzymu A w cyklu Krebsa)]. Tlen jest niezbędny do hy-

droksylacji: pierścieni węglowodorowych cholesterolu (np. podczas syntezy kwasów żółciowych [13]) (Tabela 1) i hormonów sterydowych, ksenobiotyków (węglowodory aromatyczne, leki np. kofeina, ibuprofen, po hydroksylacji łączą się z kwasem glukuronowym i są łatwiej rozpuszczalne w wodzie oraz usuwane z organizmu). Synteza prostaglandyn [14] także wymaga dostarczenia tlenu (Tabela 1). Synteza wolnych rodników, potrzebnych do zabijania przez fagocyty wchłoniętych bakterii, zużywa 3–10% dostarczonego tlenu do wątroby [15]. Głównymi procesami zużywającymi tlen w wątrobie są: synteza mocznika (35%), bezwartościowe krążenie substratów (22%), glukoneogeneza (19%) [16], synteza białka (11%), Na^+/K^+ ATP-aza (6%) i ketogeneza (4%) [17].

Przez zdrową wątrobę, która stanowi ok. 4% wagi ciała przepływa ok. 30% krwi wyrzucanej z serca, z której wątroba pobiera ok. 20% tlenu zużywanego przez cały organizm [18]. Prawdopodobnie około 90% pobieranego przez wątrobę tlenu używają mitochondria, a resztę siateczka plazmatyczna i peroksyzomy [19,20]. Mitochondria wątroby zużywają tlen głównie do β -oksydacji kwasów tłuszczowych, a znacznie mniej do utleniania pirogronianu, gdyż glukoza, aminokwasy (i ciała ketonowe) są utleniane głównie poza wątrobą [21,22]. Do wątroby człowieka 35% krwi i ok. 50% tlenu dostarcza tętnica wątrobową, a pozostałe 65% krwi i 50% tlenu, żyła wrotna [23]. Krew i tlen dostarczane przez tętnicę wątrobową w pierwszym rzędzie utrzymują na stałym poziomie stężenie we krwi składników pokarmowych i hormonów, a w drugiej kolejności zapewniają potrzeby energetyczne komórek wątrobowych. Ilość krwi przepływającej przez tętnicę wątrobową wzrasta w marskości (w zależności od stopnia utrudnienia przepływu krwi przez żyłę wrotną) oraz przy spadku ogólnego ciśnienia krwi [24].

Patogeneza uszkodzenia wątroby wskutek niedotlenienia

Pomimo przeprowadzenia licznych doświadczeń, mechanizmy zachodzące w niedotlenionej wątrobie nie zostały w pełni poznane. Wiadomo, że niedobór tlenu w hepatocycie zmniejsza ilość ATP produkowanego w mitochondrium w wyniku oksydacyjnej fosforylacji. Niedobór ATP osłabia procesy zużywające energię, np. utrudnia pracę pompy sodowo/potasowej [25], co powoduje zmniejszenie stężenia Na^+ poza komórką, a zwiększenie w komórce [26,27]. Niedobór ATP utrudnia wypompowywanie Ca^{++} z cytoplazmy do siateczki endoplazmatycznej i mitochondriów i powoduje zwiększenie stężenia Ca^{++} w cytoplazmie [28]. Zwiększenie stężenia Ca^{++}

Tabela 1. Tlen w metabolizmie wątroby.

- a) cholesterol $\xrightarrow{7 O_2}$ kwas cholowy
- b) $RH + O_2 + NADPH + H^+ \xrightarrow{O_2} ROH + H_2O + NADP^+$
- R-barbitan, wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne, kofeina, ibuprofen
- c) fenyloalanina $\xrightarrow{O_2}$ tyrozyna $\xrightarrow{2 O_2}$ acetocetan + fumaran
- d) kwas arachidonowy $\xrightarrow{2 O_2}$ prostaglandyna G_2 (PGG_2), tromboksan (TXA_2)

w cytoplazmie aktywuje pozakomórkowe metaloproteinazy [29], szczególnie żelatynazy [25,30,31], oraz pozalizosomalne wewnątrzkomórkowe proteinazy [32]. Zwiększone aktywności pozakomórkowych metaloproteinaz powodują uwolnienie sinusoidalnych komórek śródbłonkowych z połączeń z substancją pozakomórkową [30]. Uwolnienie komórek śródbłonka jest krytycznym (zasadniczym) powodem uszkodzenia wątroby w czasie hipoksji i częściowo określa żywotność całego narządu [33]. Zwiększenie aktywności wewnątrzkomórkowych pozalizosomalnych proteaz cysteinowych zwiększa degradację białek cytoszkieletu (np. spektryny) [34] i białek biorących udział w przenoszeniu sygnału (np. kinazy białkowej C) [35]. Uszkodzenie komórek wątrobowych powoduje wyrzut transaminaz [36] do surowicy krwi.

Na niedotlenienie w temperaturze ciała najbardziej wrażliwe są hepatocyty, natomiast „zimne” niedotlenienie (np. podczas transplantacji) powoduje większe uszkodzenie komórek śródbłonka naczyń i dróg żółciowych, aniżeli hepatocytów [32]. „Zimne” niedotlenienie poważnie uszkadza komórki śródbłonka, ale pozostają one żywe, i zabija je dopiero reperfuzja [37,38].

Mechanizmy obronne organizmu przed niedotlenieniem

Na obniżoną podaż tlenu organizm reaguje aktywacją dróg metabolicznych, które nie wymagają tlenu cząsteczkowego, zwiększeniem ilości erytrocytów i angiogenezą. Dostosowanie organizmu i poszczególnych komórek do obniżonej podaży tlenu następuje na poziomie transkrypcji i jest regulowane przez czynnik indukowany przez niedotlenienie (hypoxia-inducible factor, HIF-1) [39]. HIF-1 w pierwszym rzędzie indukuje transkrypcję enzymów glikolitycznych: heksokinazy, aldolazy, fosfofruktokinazy, aldolazy, kinazy pirogronianowej, enolazy [40,41], dehydrogenazy aldehydu 3 fosfoglicerynowego [41,42] i transporterów glukozy [43,44], oraz zwiększa produkcję białek odpowiedzialnych za opóźnienie śmierci i wydłużenie przeżycia komórek takich jak: p21 (które zatrzymują cykl komórkowy) [45], białko Bcl2/E1B interacting protein 3 (hamujące apoptozę poprzez blokowanie uwalniania cytochromu C z mitochondrów i hamowanie aktywacji kaspaz) [46], czy insulinopodobnych czynników wzrostu [47]. W drugim rzędzie HIF-1 indukuje produkcję białek zwiększających podaż tlenu do tkanek takich jak erytropoetyna (przyspieszająca dojrzewanie erytrocytów) [48], transferyna [49] i jej receptor [50] oraz ceruloplazmina [51] (zwiększające podaż żelaza i miedzi potrzebnych do dojrzewania erytrocytów). HIF-1 indukuje produkcję czynników stymulujących angiogenezę takich jak czynnik wzrostowy śródbłonka (vascular endothelial growth factor – VEGF) [52] oraz jego receptor [53] i czynnik transformujący wzrostu (TGF- β) [54]. HIF-1 stymuluje także produkcję anhidrazy węglanowej, która bierze udział w regulacji pH wewnątrz komórek wątrobowych [55].

Piśmiennictwo:

1. Ebert EC: Hypoxic liver injury. *Mayo Clin Proc*, 2006; 81: 1232–36
2. Gibson PR, Dudley FJ: Ischemic hepatitis: clinical features, diagnosis and prognosis. *Aust NZ J Med*, 1984; 14: 822–25
3. Kew M, Bersohn I, Seftel H, Kent G: Liver damage in heatstroke. *Am J Med*, 1970; 49: 192–202
4. Sherlock S, Dooley J: Diseases of the liver and biliary system. Wyd. X, Blackwell Science, Oxford, 1997; 182

Objawy kliniczne i diagnostyka

Zmniejszenie perfuzji tlenu nie jest jedynym czynnikiem na podstawie, którego diagnozowane jest HLI. Powszechnie akceptowane kryterium rozpoznania HLI jest trójstopniowe: 1° występowanie typowych klinicznych objawów niedotlenienia mięśnia sercowego, 2° masywny, ale szybko ustępujący wzrost aktywności aminotransferaz w surowicy krwi oraz 3°, wykluczenie innych przyczyn uszkodzenia wątroby. Aktywność transaminaz wzrasta ponad 20-krotnie w stosunku do wartości prawidłowych. W odniesieniu do innych przyczyn uszkodzenia wątroby, należy stwierdzić, że wielu pacjentów ma uszkodzenie wątroby o nieznanej etiologii, przez co można podejrzewać istniejące HLI [1]. Henrion i wsp. uważają, że w przypadku pacjentów z niskim poziomem aminotransferaz, HLI może zostać zdiagnozowane wyłącznie przez wykonanie biopsji, co w przypadku pacjentów będących w stanie krytycznym, może okazać się zbyt ryzykowne [56].

HLI dotyczy przeważnie pacjentów starszych (>60 lat) z licznymi schorzeniami współistniejącymi. W ponad 80% przypadków obserwujemy dodatkowo chorobę serca, u większości niewydolność prawą komorową oraz nadciśnienie tętnicze [56].

Objawami klinicznymi HLI jest osłabienie, płytki oddech, prawostronny ból brzucha z powiększoną niewydolną wątrobą [1].

W badaniach laboratoryjnych, obok zwiększonych aktywności aminotransferaz w surowicy, można zaobserwować zwiększone stężenie dehydrogenazy mlekowej (LDH) i kwasu mlekowego w surowicy krwi, spowodowane niewystarczającym usuwaniem krążącego mleczanu przez uszkodzoną i źle ukrwioną wątrobę.

Może dochodzić do wydłużenia czasu protrombinowego (INR), prawdopodobnie wskutek zmniejszonej produkcji protrombiny. Poziom kreatyniny jest często podwyższony. Bilirubina może być nieco podwyższona [56], chociaż zażółcenie skóry zazwyczaj nie występuje [1].

Podsumowanie

Mechanizm zmian zachodzących w niedokrwionej wątrobie nie jest w pełni poznany. Zastosowanie przeciwciał monoklonalnych, antagonistów receptora adenozyнового, egzogennej bądź endogennej adenozyyny, bosentanu, zwiększenie dostępności tlenu azotu poprzez zastosowanie donorów (L-arginina), i prekursorów (Fk409) tlenu azotu może korzystnie wpływać na stopień ukrwienia wątroby. Istnieją również próby farmakologicznej ochrony przed niedokrwieniem wątroby z wykorzystaniem doksyrubicyny [57] oraz natriuretycznego peptydu przedślonkowego (ANP) [58]. Niedotlenienie działa szkodliwie na wszystkie narządy ze skórą włącznie. Zejście niedotlenienia wątroby zależy głównie od choroby podstawowej, która je wywołała.

8. Okas A, Kowalczyk J, Stein R i wsp: Hypoxic hepatitis related to profound anemia: how low can you go? *Am J Gastroenterol*, 2001; 96(12): 3445–47
9. Watson A, Williams R: Anoxic hepatic and intestinal injury from carbon monoxide poisoning. *Br Med J (Clin Res Ed)*, 1984; 289(6452): 1113
10. Selim K, Kaplowitz N: Hepatotoxicity of psychotropic drugs. *Hepatology*, 1999; 29(5): 1347–51
11. Dahn MS, Wilson RF, Lange P i wsp: Hepatic parenchymal oxygen tension following injury and sepsis. *Arch Surg*, 1990; 125(4): 441–43
12. Asaka S, Shibayama Y, Nakata K: Pathogenesis of focal and random hepatocellular necrosis in endotoxemia: microscopic observation *in vivo*. *Liver*, 1996; 16(3): 183–87
13. Zwierz K, Knaś M: Biosynteza i transport kwasów żółciowych. *Hepatol*, 2002; 5–18
14. Dobryniewski J, Szajda SD, Waszkiewicz N, Zwierz K: Biologia niezbędnych nienasyconych kwasów tłuszczowych (NNKT). *Przegl Lek*, 2007; 64(2): 91–99
15. Chance B, Sies H, Boveris A: Hydroperoxide metabolism in mammalian organs. *Physiol Rev*, 1979; 59(3): 527–605
16. Kępka A, Szajda SD, Zwierz K: Fruktozo-1,6-bisfosfataza – marker uszkodzenia cewek nerkowych bliźszych. *Pol Merk Lek*, 2008; 24: 125–30
17. Müller MJ: Energy metabolism in patients with liver cirrhosis – implications for nutritional and metabolic support. *Med Sci Monit*, 2000; 6(1): 26–32
18. Jéquier E, Acheson K, Schutz Y: Assessment of energy expenditure and fuel utilization in man. *Annu Rev Nutr*, 1987; 7: 187–208
19. Seifer S, England S: Energy metabolism w. *The Liver Biology and Pathobiology* Wyd.3. Wyd. Arias IM, Boyer JL, Rausto N i wsp: (red.), 323–64
20. Tolbert NE: Metabolic pathways in peroxisomes and glyoxysomes. *Annu Rev Biochem*, 1981; 50: 133–57
21. Lebensztejn DM, Borzym-Kluczyk M, Zwierz K: Biochemical consequences of malnutrition in liver diseases. *Med Sci Monit*, 2000; 6(1): 37–40
22. Massip-Salcedo M, Roselló-Catafau J, Prieto J i wsp: The response of the hepatocyte to ischemia. *Liver Int*, 2007; 27(1): 6–16
23. Tygstrup N, Winkler K, Møllemaard K, Andreassen M: Determination of the hepatic arterial blood flow and oxygen supply in man by clamping the hepatic artery during surgery. *J Clin Invest*, 1962; 41: 447–54
24. Lauth WW, Greenway CV: Conceptual review of the hepatic vascular bed. *Hepatology*, 1987; 7(5): 952–63
25. Zwierz K, Wielgat P, Borzym-Kluczyk M: Molekularne mechanizmy regulacji transportu substancji drobnocząsteczkowych w obrębie hepatocyta. *Post Hig Med Dośw*, 2003; 57: 91–116
26. Takei Y, Marzi I, Kauffman FC i wsp: Increase in survival time of liver transplants by protease inhibitors and a calcium channel blocker, nisoldipine. *Transplantation*, 1990; 50(1): 14–20
27. Clavien PA, Harvey PR, Strasberg SM: Preservation and reperfusion injuries in liver allografts. An overview and synthesis of current studies. *Transplantation*, 1992; 53(5): 957–78
28. Alberts B, Johnson A, Lewis J i wsp: *Molecular Biology of the Cell* Wyd.4. Garland Science, NY, 2002; 1313–62; 862
29. Alberts B, Johnson A, Lewis J i wsp: *Molecular Biology of the Cell* Garland Science, NY, 2002; 1313–62; 1111
30. Upadhyaya GA, Harvey PRC, Howard TK i wsp: Evidence for a role of matrix metalloproteinases (MMPs) in cold preservation injury of the liver in humans and rat. *Hepatology*, 1997; 26: 922–26
31. Calmus Y, Cynober L, Dousset B i wsp: Evidence for detrimental role of proteolysis during liver preservation in humans. *Gastroenterology*, 1995; 108(5): 1594–96
32. Noack K, Bronk SF, Kato A, Gores GJ: The greater vulnerability of bile duct cells to reoxygenation injury than to anoxia. Implications for the pathogenesis of biliary strictures after liver transplantation. *Transplantation*, 1993; 56(3): 495–500
33. McKeown CM, Edwards V, Phillips MJ i wsp: Sinusoidal lining cell damage: the critical injury in cold preservation of liver allografts in the rat. *Transplantation*, 1988; 46(2): 178–91
34. Nichols JC, Bronk SF, Mellgren RL, Gores GJ: Inhibition of nonlysosomal calcium-dependent proteolysis by glycine during anoxic injury of rat hepatocytes. *Gastroenterology*, 1994; 106(1): 168–76
35. Saido TC, Sorimachi H, Suzuki K: Calpain: new perspectives in molecular diversity and physiological-pathological involvement. *FASEB J*, 1994; 8(11): 814–22
36. Zwierz K, Borzym-Kluczyk M: Badania biochemiczne stosowane w chorobach wątroby. *Hepatologia. Kompendium pod red. Jerzego A. Polańskiego*. Warszawa, Wydawca Medical Tribune, 2004; 47–49
37. Caldwell-Kenkel JC, Thurman RG, Lemasters JJ: Selective loss of non-parenchymal cell viability after cold ischemic storage of rat livers. *Transplantation*, 1988; 45(4): 834–37
38. Holloway CM, Harvey PR, Strasberg SM: Viability of sinusoidal lining cells in cold-preserved rat liver allografts. *Transplantation*, 1990; 49(1): 225–29
39. Zagorska A, Dulak J: HIF-1: the knowns and unknowns of hypoxia sensing. *Acta Biochem Pol*, 2004; 51(3): 563–85
40. Semenza GL, Roth PH, Fang HM, Wang GL: Transcriptional regulation of genes encoding glycolytic enzymes by hypoxia-inducible factor 1. *J Biol Chem*, 1994; 269(38): 23757–63
41. Iyer NV, Leung SW, Semenza GL: The human hypoxia-inducible factor 1 α gene: HIF1A structure and evolutionary conservation. *Genomics*, 1998; 52(2): 159–65
42. Lu S, Gu X, Hoestje S, Epner DE: Identification of an additional hypoxia responsive element in the glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase gene promoter. *Biochim Biophys Acta*, 2002; 1574(2): 152–56
43. Gleadle JM, Ratcliffe PJ: Induction of hypoxia-inducible factor-1, erythropoietin, vascular endothelial growth factor, and glucose transporter-1 by hypoxia: evidence against a regulatory role for Src kinase. *Blood*, 1997; 89(2): 503–9
44. O'Rourke JF, Pugh CW, Bartlett SM, Ratcliffe PJ: Identification of hypoxically inducible mRNAs in HeLa cells using differential-display PCR. Role of hypoxia-inducible factor-1. *Eur J Biochem*, 1996; 241(2): 403–10
45. Carmeliet P, Dor Y, Herbert JM i wsp: Role of HIF-1 α in hypoxia-mediated apoptosis, cell proliferation and tumour angiogenesis. *Nature*, 1998; 394(6692): 485–90, Erratum in: *Nature*, 1998; 395(6701): 525
46. Bruck RK: Expression of the gene encoding the proapoptotic Nip3 protein is induced by hypoxia. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2000; 97(16): 9082–87
47. Feldser D, Agani F, Iyer NV i wsp: Reciprocal positive regulation of hypoxia-inducible factor 1 α and insulin-like growth factor 2. *Cancer Res*, 1999; 59(16): 3915–18
48. Jiang BH, Semenza GL, Bauer C, Marti HH: Hypoxia-inducible factor 1 levels vary exponentially over a physiologically relevant range of O₂ tension. *Am J Physiol*, 1996; 271(4 Pt 1): C1172–80
49. Rofls A, Kvietikova I, Gassmann M, Wenger RH: Oxygen-regulated transferrin expression is mediated by hypoxia-inducible factor-1. *J Biol Chem*, 1997; 272(32): 20055–62
50. Lok CN, Ponka P: Identification of a hypoxia response element in the transferrin receptor gene. *J Biol Chem*, 1999; 274(34): 24147–52
51. Mukhopadhyay CK, Mazumder B, Fox PL: Role of hypoxia-inducible factor-1 in transcriptional activation of ceruloplasmin by iron deficiency. *J Biol Chem*, 2000; 275(28): 21048–54
52. Forsythe JA, Jiang BH, Iyer NV i wsp: Activation of vascular endothelial growth factor gene transcription by hypoxia-inducible factor 1. *Mol Cell Biol*, 1996; 16(9): 4604–13
53. Gerber HP, Condorelli F, Park J, Ferrara N: Differential transcriptional regulation of the two vascular endothelial growth factor receptor genes. Flt-1, but not Flk-1/KDR, is up-regulated by hypoxia. *J Biol Chem*, 1997; 272(38): 23659–67
54. Caniggia I, Mostachfi H, Winter J i wsp: Hypoxia-inducible factor-1 mediates the biological effects of oxygen on human trophoblast differentiation through TGF β (3). *J Clin Invest*, 2000; 105(5): 577–87
55. Wykoff CC, Beasley NJ, Watson PH i wsp: Hypoxia-inducible expression of tumor-associated carbonic anhydrases. *Cancer Res*, 2000; 60(24): 7075–83
56. Sherlock S, Dooley J: Diseases of the liver and biliary system. Wyd. X. Blackwell Science, Oxford, 1997; 194
57. Ito K, Ozasa H, Sanada K, Horikawa S: Doxorubicin preconditioning: a protection against rat hepatic ischemia-reperfusion injury. *Hepatology*, 2000; 31(2): 416–19
58. Gerbes AL, Vollmar AM, Kiemer AK, Bilzer M: The guanylate cyclase-coupled natriuretic peptide receptor: a new target for prevention of cold ischemia-reperfusion damage of the rat liver. *Hepatology*, 1998; 28(5): 1309–17