

## WPLYW LAMBDA-CYHALOTHRIN - INSEKTYCYDU Z GRUPY SYNTETYCZNYCH PYRETHROIDÓW - NA STĘŻENIA NF-κB I VEGFR2 W WĄTROBIE MYSZY ALBINO SWISS JAKO MARKERÓW JEGO USZKODZENIA

Łukasz Świerszcz<sup>1)</sup>, Anna Roszkowska<sup>2)</sup>, Kinga Ruszel<sup>3)</sup>, Marta Wójciak-Czuła<sup>4)</sup>, Andrzej Borzęcki<sup>5)</sup>, Barbara Nieradko-Iwanicka<sup>5)</sup>, Piotr Siermontowski<sup>6)</sup>

<sup>1)</sup> Klinika Położnictwa i Perinatologii w Lublinie

<sup>2)</sup> III Katedra i Klinika Ginekologii w Lublinie

<sup>3)</sup> Studenckie Koło Naukowe przy Katedrze i Zakładzie Higieny Uniwersytetu Medycznego w Lublinie

<sup>4)</sup> Zespół Oddziałów Okulistyki, Mazowiecki Szpital Bródnowski w Warszawie

<sup>5)</sup> Katedra i Zakład Higieny i Epidemiologii, Uniwersytet Medyczny w Lublinie

<sup>6)</sup> Katedra Technologii Prac Podwodnych Akademii Marynarki Wojennej w Gdyni

### STRESZCZENIE

**Wstęp:** Lambda-cyhalotryna (LCH) jest jednym z syntetycznych pyretroidów typu II, szeroko stosowanym w weterynarii i rolnictwie do ochrony upraw przed owadami. We wcześniejszych badaniach niewiele jest doniesień o wpływie pyretroidów na wątrobę i jej uszkodzenia. Analizując liczne publikacje, czynnik jądrowy-κB (NF-κB) i czynnik wzrostu śródbłonka naczyniowego 2 (VEGFR2) wydają się być czułymi wskaźnikami mikrouszkodzeń występujących na poziomie komórkowym w wątrobie. Celem pracy było zbadanie wpływu podostrego zatrucia LCH na stężenie NFκB i VEGFR2 w wątrobie.

**Metody:** Doświadczenie przeprowadzono na 32 myszach Albino Swiss (16 samic i 16 samców). Zwierzęta podzielono na 4 grupy. Kontrolne grupy samic i samców otrzymywały olej rzepakowy, pozostałe otrzymywały LCH doustnie w oleju w dawce 2 mg/kg mc przez 7 dni. NF-κB i VEGFR2 były w wątrobach myszy były mierzone z użyciem zestawów ELISA.

**Wyniki:** Średnie stężenie NF-κB w wątrobach kontrolnych samic wynosiło 3,27 ng/ml, a po LCH 6,12 ng/ml ( $p < 0,05$ ). U samców kontrolnych wynosił on 5,49 ng/ml i nie różnił się istotnie po LCH, gdzie wynosił 5,27 ng/ml. Średnie stężenie VEGFR2 u samic z grupy kontrolnej wynosił 84,28 ng/ml, a narażonych na LCH 173,81 ng/ml ( $p < 0,05$ ). U samców z grupy kontrolnej wynosiło 170,61 ng/ml, a narażonych na LCH 170,06 ng/ml.

**Wniosek:** NF-κB i VEGFR2 można stosować jako markery uszkodzenia wątroby po podostрым zatruciu LCH u samic myszy. Samice są bardziej wrażliwe na LCH niż samce.

**Słowa kluczowe:** lambda-cyhalotryna; czynnik jądrowy-κB; czynnik wzrostu śródbłonka naczyniowego 2; uszkodzenie wątroby.

### ARTICLE INFO

PolHypRes 2021 Vol. 75 Issue 2 pp. 57 – 68

ISSN: 1734-7009 eISSN: 2084-0535

DOI: 10.2478/phr-2021-0011

Strony: 12, rysunki: 0, tabele: 1

page **www of the periodical:** www.phr.net.pl

#### Publisher

Polish Hyperbaric Medicine and Technology Society

**Typ artykułu:** oryginalny

**Termin nadesłania:** 23.10.2020 r.

**Termin zatwierdzenia do druku:** 18.02.2021 r.



## WSTĘP

Pyretryny są jednymi z najstarszych znanych człowiekowi naturalnych insektycydów pochodzenia roślinnego. Owadobójcze właściwości złożenia stały się szerzej znane w połowie XIX wieku, kiedy zauważono, że wiele plemion kaukaskich używało roślin bogatych w tę substancję do zwalczania wszy [1]. Pyretryny przygotowuje się z suszonych główek kwiatowych *Chrysanthemum cinerariaefolium* i/lub *Chrysanthemum cinereum* [2,3]. Ekstrakt z kwiatów jest niejednorodną mieszaniną pyretryn, z istotną różnicą w proporcjach składających się z pyretryny I i II, cyneryny I i II oraz jasmoliny I i II, które są wspólnie określane jako pyretryny [4]. Pyretryna I i II różnią się właściwościami owadobójczymi – pyretryna I wykazuje efekt letalny, a pyretryna II powoduje silniejszy efekt porażenny u organizmów docelowych [5].

Ze względu na to, że uprawa złożenia nie była łatwa, rozpoczęto poszukiwania syntetycznych pochodnych pyretryny. Efektem pracy naukowców była synteza pyretroidów [6]. Większość pyretroidów otrzymano poprzez modyfikację ugrupowania kwasu chryzantemowego pyretryny I oraz estryfikację alkoholi. Ich działanie potęguje dodatek synergetyku, jakim jest butanolan piperonylu, który hamuje rozkład metaboliczny składnika aktywnego. Ich powszechne stosowanie rozpoczęło się w latach siedemdziesiątych XX wieku po opracowaniu form fotostabilnych, takich jak permetryna i fenwalerat. Jednocześnie syntetyczne pyretroidy zachowują niską toksyczność wobec kręgowców lądowych [7]. Są około 2250 razy bardziej toksyczne dla owadów niż dla ssaków [8].

Obecnie szacuje się, że 23% insektycydów dostępnych na rynku światowym to pyretryny i pyretroidy. Ponad 3500 zarejestrowanych preparatów tych związków jest szeroko stosowanych w służbie zdrowia, rolnictwie, przetwórstwie żywności i zwalczaniu owadów na osiedlach mieszkaniowych i na obszarach miejskich. W medycynie stosuje się je w leczeniu u świerzbu i wszawicy [9].

Pyretryny i pyretroidy należą do grupy związków neurotoksycznych i mają podobny mechanizm działania, który odróżnia je od innych insektycydów. Istnieje kilka sposobów na dostanie się pyretryny i pyretroidu do organizmu docelowego. Pierwsza to szybka penetracja przez naskórek, następnie wychwyt przez krew i białka nośnikowe hemolimfy, a następnie dystrybucja w organizmie owada. Dyfuzja pyretroidu wzdłuż komórek naskórka jest główną drogą dystrybucji do ośrodkowego układu nerwowego (OUN) po penetracji [10].

Pyretroidy mogą również wnikać do OUN bezpośrednio poprzez kontakt z receptorami w obwodowym układzie nerwowym [11]. Pyretroid w aerozolu może również przedostać się do organizmu przez drogi oddechowe, ale penetracja jest niewielka ze względu na niską prężność par tych związków [12,13]. Ważną drogą penetracji pyretroidów jest przewód pokarmowy - z pożywieniem i wodą [14].

Ze względu na budowę chemiczną oraz działanie na układ nerwowy pyretroidy dzieli się na: typ I (powodują zespół T z drżeniem) i typ II (powodują zespół CS – choreoatetozę ze ślinotokiem) [15,16]. Agresywna ataksja, konwulsje, drżenie i skrajne wyczerpanie to cechy charakterystyczne zespołu T. Ponadto w wyniku drżenia mięśni zaliczane do pyretroidów typu I podwyższają temperaturę ciała. Z kolei na zespół CS składa się obfite ślinienie, choreoatetozę, zwiększona reakcja lękowa i napady drgawek oporne na leczenie. W przeciwieństwie do pyretroidów typu I, pyretroidy typu II obniżają temperaturę ciała w wyniku nadmiernego ślinienia i zwilżania powierzchni ciała [15,17,18]. W piśmiennictwie opisano również kombinacje objawów zespołów T i CS, np. zespołu TS (drżenie i ślinotok) [16]. Szczegółowe badania elektrofizjologiczne wyjaśniły, że zależne od napięcia kanały sodowe w błonie nerwowej są głównymi miejscami docelowymi pyretroidów zarówno u owadów, jak i ssaków, w tym ludzi [18,19].

Pyretroidy działają bardzo szybko, powodując objawy utraty koordynacji mięśniowo-szkieletowej i porażenia, znane jako efekt „knock-down”, któremu często towarzyszą skurcze i drżenie, wywołujące intensywną, powtarzającą się aktywację w narządach czuciowych i zmielinizowanych włóknach nerwowych. Czasami skurcze są tak gwałtowne, że u owadów mogą prowadzić do utraty odnoży i skrzydeł [6].

Lambda-cyhalotryna (LCH) jest syntetycznym pyretroidem typu II. Jest to jeden z nowych insektycydów pyretroidowych typu II o wysokiej skuteczności i przeciwko szerokiej gamie stawonogów, szkodliwych zarówno dla zdrowia ludzi i zwierząt, jak i dla hodowli roślin. LCH jest szeroko stosowana w medycynie weterynaryjnej do zwalczania wszy, much i kleszczy u bydła, owiec i świń, a także w preparatach rolniczych do zwalczania licznych szkodników na owocach, warzywach w celu zwiększenia plonów. Wykorzystywany jest do namaczania moskitier stosowanych w strefach zagrożenia malarią, a także w wielu produktach wykorzystywanych do opryskiwania skóry lub rozpylania w gospodarstwach domowych dla ochrony przed niepożądanymi owadami. Jeśli chodzi o skuteczność, syntetyczne pyretroidy wydają się być bardzo dobrym środkiem owadobójczym, ponieważ są skuteczne przeciwko szerokiemu spektrum szkodników. Ze względu na swój charakter lipofilowy, insektycydy pyretroidowe są dobrze wchłaniane przez przewód pokarmowy i drogi oddechowe. Dobra rozpuszczalność w tłuszczach sprzyja dystrybucji do bogatych w tłuszcze tkanek wewnętrznych, w tym tkanki tłuszczowej, skóry, wątroby, nerek, jajników oraz ośrodkowego i obwodowego układu nerwowego. Wątroba jest jednym z największych organów w organizmie. Pełni wiele ważnych funkcji metabolicznych. Przekształca składniki odżywcze w naszej diecie, przechowuje je, aby w razie potrzeby dostarczyć komórkom niezbędnych substancji. Co równie ważne, pełni główną funkcję detoksykacji poprzez transformację, neutralizację i eliminację toksyn przy udziale wątrobowych układów enzymatycznych [7,20,21].

Biorąc pod uwagę szerokie i powszechne stosowanie pyretroidów, zasadna wydaje się analiza wpływu tej grupy pestycydów na organizmy niebędące przedmiotem zwalczania, w tym ludzi. Pyretroidy są metabolizowane w wątrobie, a ich metabolity wydalane są z moczem. Kwas 3-fenoksybenzoesowy (3-PBA) jest najczęściej wykrywanym w moczu metabolitem pyretroidów [22].

Metabolity pyretroidu są często wykrywane w moczu dzieci i dorosłych z obszarów wiejskich i miejskich, co potwierdza powszechne narażenie populacji ludzkiej na te związki. Narażenie pozazawodowe następuje poprzez spożycie pokarmu i wody lub kontakt ze skażonym kurzem domowym po użyciu moskitier, świec odstraszających owady, mat nasączonych pyretroidem, elektrowaporyzatorów i aerozoli [23,24]. We wcześniejszych badaniach niewiele jest doniesień o wpływie pyretroidów na wątrobę [25-27].

Jądrowy czynnik transkrypcyjny NF- $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B) jest plejotropowym czynnikiem transkrypcyjnym regulującym ekspresję ponad 200 genów zaangażowanych w regulację różnych funkcji komórki [28]. W normalnych komórkach bez działania czynnika aktywującego dimery NF- $\kappa$ B są nieaktywne, sekwestrowane w cytoplazmie przez białka hamujące: inhibitor  $\kappa$ B (I $\kappa$ B $\alpha$ ,  $\beta$  lub  $\lambda$ ) oraz nieaktywne prekursory: p100 i p105. W odpowiedzi na liczne bodźce, w tym cytokiny, wirusy, bakterie i inne czynniki stresowe na poziomie komórkowym, NF- $\kappa$ B jest szybko aktywowany przez fosforylację [29,30]. Zidentyfikowano szereg genów docelowych regulowanych przez NF- $\kappa$ B, w tym cytokiny, chemokiny, czynniki wzrostu, białka ostrej fazy, immunomodulatory, czynniki adhezji komórek, czynniki odpowiedzi na stres komórkowy, białka odpowiedzi apoptotycznej i enzymy [31]. Dobrze poznaną funkcją NF- $\kappa$ B jest regulacja odpowiedzi zapalnych [32]. Aktywacja NF- $\kappa$ B jest kluczowym czynnikiem transkrypcyjnym makrofagów M1 i jest wymagana do indukcji dużej liczby genów zapalnych, w tym kodujących TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-12p40 i cyklooksygenazę-2 [33]. NF- $\kappa$ B są obecne w komórkach w stanie nieaktywnym i nie wymagają syntezy nowych białek do aktywacji. Dzięki temu NF- $\kappa$ B może być pierwszą odpowiedzią na szkodliwą stymulację komórkową [34]. NF- $\kappa$ B mogą hamować apoptozę i indukować ekspresję protoonkogenów, a także regulować ekspresję różnych cząsteczek sprzyjających inwazji komórek nowotworowych i angiogenezie [35,36].

Ważną rolę w rozwoju naczyń krwionośnych odgrywa czynnik wzrostu śródbłonna naczyniowego (VEGF). Ma on decydujący wpływ zarówno na tworzenie naczyń włosowatych z komórek progenitorowych podczas embriogenezy – waskulogenezy, jak i na tworzenie naczyń krwionośnych u dorosłych – angiogenezę [37-39]. Etapy angiogenezy są inicjowane przez stymulację komórek śródbłonna (EC) przez angiogenne czynniki wzrostu [40].

Obecnie do rodziny VEGF można zaliczyć następujące czynniki: VEGF-A, VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D, VEGF-E, VEGF-F, łożyskowy czynnik wzrostu (PIGF) oraz niedawno zakwalifikowane do tej grupy endokrynologiczne czynniki wzrostu śródbłonna naczyniowego pochodzenia gruczołowego (EG-VEGF) [41-43]. VEGF jest wydzielany nie tylko przez komórki śródbłonna, ale również w odpowiedzi na niedobór tlenu przez: komórki nowotworowe, makrofagi, płytki krwi, keratynocyty, komórki mezangialne nerek, aktywowane limfocyty T, leukocyty, komórki dendrytyczne, komórki nabłonka barwnikowego siatkówki, komórki siatkówki, astrocyty, osteoblasty, komórki nabłonka oskrzeli i pęcherzyków płucnych, pericyty, komórki mięśni gładkich naczyń [41,44].

Analizując powyższe publikacje, NF- $\kappa$ B i VEGFR wydają się być kandydatami na dobre i czułe wskaźniki mikrouszkodzeń wątroby występujących na poziomie komórkowym w wyniku podostrego zatrucia ksenobiotykami.

## CEL

Celem pracy było zbadanie wpływu podostrego zatrucia LCH na stężenie NF- $\kappa$ B i VEGFR2 w wątrobie.

## MATERIAŁY I METODY

Projekt badania został zaakceptowany przez Lokalną Komisję Etyczną w Lublinie (pozwolenie Nr 69/2015 z dnia 11.12.2015). Autorzy posiadali certyfikaty potwierdzające przeszkolenie do przeprowadzania eksperymentów na zwierzętach. Eksperyment przeprowadzono zgodnie z przepisami prawa europejskiego w Ośrodku Medycyny Doświadczalnej (OMD) Uniwersytetu Medycznego w Lublinie. Panowały tam standardowe warunki laboratoryjne.

Łącznie 32 (16 nieciężarnych samic i 16 samców) myszy Albino Swiss wyhodowanych w OMD Uniwersytetu Medycznego w Lublinie w wieku 6 tygodni na początku eksperymentu podzielono losowo na 4 grupy po 8 zwierząt:

- samice-kontrolne-otrzymywały 0,9% NaCl dziennie przez zgłębnik przez 7 kolejnych dni,
- samce – grupa kontrolna – otrzymywały 0,9% NaCl codziennie przez zgłębnik przez 7 kolejnych dni,
- samice – otrzymywały 2 mg/kg LCH dziennie przez zgłębnik przez 7 kolejnych dni,
- samce -otrzymywały 2 mg/kg LCH dziennie przez zgłębnik przez 7 kolejnych dni.

LCH zakupiono w Instytucie Chemii Organicznej (Annopol 6, 03-236 Warszawa, Polska). LCH została rozpuszczona w oleju rzepakowym i była podawana codziennie przez zgłębnik dożołądkowy. Do wykonania zawieszenia użyto oleju rzepakowego "Kujawski" produkowanego przez ZT "Kruszwica" S.A. Dostna dawka LD<sub>50</sub> dla myszy wynosi 19,9 mg/kg [45]. Zwierzętom podawano doustnie 0,1LD<sub>50</sub> przez 7 kolejnych dni. Użyto 0,9% soli fizjologicznej firmy B. Braun (Melsungen AG, Hessen, Niemcy). Zwierzęta miały swobodny dostęp do sterylnej wody (sterylizowanej UV) i paszy dla gryzoni zakupionych od Altromin International (Lage, Niemcy). Zwierzęta hodowano w OMD, a pierwotnym źródłem stada był Charles River Laboratories (Kolonja, Niemcy).

W ósmym dniu eksperymentu myszy zważono, a następnie zdekapitowano. Nie stosowano środków znieczulających, ponieważ chcieliśmy wyeliminować ryzyko, że wpłyną one na wyniki pomiaru VEGFR2 i NF- $\kappa$ B. Wątroby pobrano i zważono. Wątroby homogenizowano w roztworze soli buforowanym fosforanami (Phosphate Buffered Saline -PBS) pozbawionym jonów wapnia i magnezu (PAA Laboratories GmbH, Pasching, Austria) w proporcji 200 mg homogenizowanej tkanki wątroby na 0,5 ml buforu przy użyciu homogenizatora mechanicznego typu Omni Th (Omni International, Kennesaw, GA, USA). Homogenaty odwirowano w wirówce (wirówka Sigma1-6P, Polygen, Engelwood, NY, USA) 700 x g przez 10 minut w temperaturze pokojowej. Następnie, po odwirowaniu, oddzielono supernatant. Otrzymane w ten sposób supernatanty podzielono 200  $\mu$ l w probówkach Eppendorfa (0,5 ml) (Medlab Products, Karlsruhe, Niemcy) i przechowywano w temperaturze -75°C (Platinum Angelantoni 500, Massa Martana, Włochy) do czasu wykonania oznaczeń enzymatycznych. Stężenia VEGFR2 i NF- $\kappa$ B badano w otrzymanych probówkach z supernatantem.

W eksperymencie wykorzystano „kanapkową” wersję metody ELISA (*enzyme-linked immunosorbent assay*). Przed rozpoczęciem oznaczania stężeń substancji testowych odpowiednio przygotowano próbki i zestawy ELISA. Oznaczenia przeprowadzono przy długości fali  $\lambda = 450$  nm przy użyciu czytnika mikroplątek BIO-RAD typu ELISA (Microplate Leader, Wuxi, Chiny). Program komputerowy podłączony do czytnika, na podstawie uzyskanej absorbancji światła z dołków o ustalonych stężeniach wzorców, automatycznie wyznaczył krzywe wzorcowe, na podstawie których obliczył stężenia oznaczanych białek w badanych próbkach. Otrzymane wyniki zostały automatycznie pomnożone przez odpowiedni

współczynnik rozcieńczenia. Użyto komercyjnych zestawów ELISA: ELISA dla NF- $\kappa$ B i ELISA dla VEGFR2 (Cloud-Clone Corp. Katy, TX, USA).

Analizę statystyczną przeprowadzono przy użyciu programu Statistica v.13.0 (StatSoft, Kraków, Polska). Wyniki przedstawiono jako średnią  $\pm$  SD. Za istotną statystycznie uznano wartość  $p < 0,05$ .

## WYNIKI

Wyniki przedstawiono w Tabeli 1. Masa ciała samic myszy w ostatnim dniu eksperymentu była znacząco niższa ( $22,53 \pm 1,1$ ) w porównaniu z samicami kontrolnymi ( $25,63 \pm 1,0$ ) ( $p < 0,05$ ). Nie zaobserwowano takiej różnicy u samców. Nie było statystycznie istotnych różnic między masą wątroby samic z grupy kontrolnej a samicami narażonymi na LCH, podobnie między samcami z grupy kontrolnej i samcami narażonymi na LCH. Wystąpił statystycznie istotny wzrost stężenia NF $\kappa$ B w wątrobach samic myszy narażonych na LCH w porównaniu z samicami kontrolnymi ( $6,12$  ng/ml vs  $3,27$  ng/ml;  $p < 0,05$ ). Nie było takiej różnicy u samców. Zaobserwowano również istotny wzrost stężenia VEGFR2 w wątrobie samic narażonych na LCH w porównaniu do kontroli ( $173,81$  ng/ml vs  $83,28$  ng/ml;  $p < 0,05$ ).

Tab. 1

Wpływ podostrego zatrucia LCH na masę ciała, masę wątroby, NF- $\kappa$ B w wątrobie i stężenie VEGFR2 w wątrobie myszy.

Grupa	Masa ciała [g] średnia $\pm$ SD	Masa wątroby [g] średnia $\pm$ SD	stężenieNF- $\kappa$ B [ng/mL] średnia $\pm$ SD	Stężenie VEGFR2 [ng/mL] średnia $\pm$ SD
♀ kontrola	25,63 $\pm$ 1,0	1,28 $\pm$ 0,1	3,27 $\pm$ 0,7	84,28 $\pm$ 16
♂ kontrola	27,84 $\pm$ 1,5	2,02 $\pm$ 0,1	5,49 $\pm$ 0,35	170,61 $\pm$ 25
♀- LCH	22,53 $\pm$ 1,1*	1,33 $\pm$ 0,1	6,12 $\pm$ 1,5*	173,81 $\pm$ 31*
♂- LCH	27,21 $\pm$ 1,6	2,04 $\pm$ 0,1	5,27 $\pm$ 0,3	170,06 $\pm$ 21

\* $p < 0,05$  vs samice z grupy kontrolnej

## DYSKUSJA

LCH jest przykładem środka owadobójczego, który charakteryzuje się tym, że jest skuteczny wobec owadów i uznawany za bezpieczny dla ludzi [7]. Jest pyretroidem typu II o wysokiej aktywności przeciwko szerokiej gamie owadów z rzędu *Lepidoptera*, *Diptera*, *Hemiptera* i *Coleoptera*. LCH znalazła szerokie zastosowanie w miejscach publicznych, a także w zastosowaniach związanych ze zdrowiem zwierząt domowych i hodowlanych, gdzie skutecznie zwalcza szerokie spektrum owadów i pasożytów zewnętrznych, w tym karaluchy, muchy, kleszcze i wszy [46,47].

LCH jest stabilna przy pH poniżej 8, natomiast w warunkach zasadowych hydroлізуje pod działaniem jonu hydroksylogowego, w wyniku czego powstaje cyjanohydryna, która następnie rozpada się na aldehyd i cyjanowodor [50]. W badaniach laboratoryjnych degradacja LCH w glebie wynika głównie z biodegradacji, na co wskazuje szybka utrata LCH w glebie niesterylnej w porównaniu z glebą sterylną [51]. W organizmach żywych LCH jest metabolizowana przez enzymy wątrobowego mikrosomalnego cytochromu P450 (CYP) i karboksyloesterazy (CES) oraz przez cytozolowe enzymy CES. Pyretroidy są również metabolizowane przez mikrosomy wątroby ludzkiej i cytozol [48]. Jednocześnie LCH może uszkodzić wątrobę.

Lipofilowość LCH ułatwia jej szybką penetrację do tkanek i potęguje jej szkodliwy wpływ na nie [49,50]. Oprócz swojego pierwotnego działania neurotoksycznego uszkadza również inne narządy. Zarówno eksperymenty *in vitro*, jak i *in vivo* z krwią obwodową szczurów wykazały, że LCH powoduje zaburzenia równowagi w relacji prooksydant-przeciwutleniacz w erytrocytach, a także zmienia płynność błony komórkowej oraz wpływa na hemolizę [51,52].

W tym badaniu skupiliśmy się na hepatotoksyczności LCH. Inni autorzy również badali ten aspekt szkodliwości LCH. Aouey i wsp. badali hepatotoksyczność tego pyretroidu w modelu szczurzym. W swoim badaniu dorosłym samcom szczurów podawali doustnie 6,2 i 31,1 mg/kg masy ciała LCH przez 7, 30, 45 i 60 dni, odpowiednio. Oceniono zmiany histopatologiczne oraz zmiany głównych parametrów związanych ze stresem oksydacyjnym, jak również z odpowiedzią zapalną w wątrobie. Ponadto w tkankach wątroby zidentyfikowano, a następnie oznaczono ilościowo metabolity LCH (CFMP, 4-OH-3 PBA i 3-PBA). Uzyskane wyniki wykazały, że ekspozycja na LCH znacząco zwiększyła wątrobowe markery stresu oksydacyjnego w sposób zależny od czasu narażenia i dawki LCH, czemu towarzyszyła akumulacja CFMP i 3-PBA w tkankach wątroby. Ponadto poziom ekspresji genu czynnika martwicy nowotworu  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) oraz ekspresja interleukin (IL-6 i IL-1 $\beta$ ) były istotnie podwyższone w wątrobie badanych szczurów w porównaniu z grupą kontrolną. Podsumowując, badanie to dostarczyło nowych dowodów na to, że uszkodzenie wątroby może być spowodowane zwiększonym stresem oksydacyjnym i stanem zapalnym w warunkach ostrej i podprzewlekłej ekspozycji na LCH [52].

W badaniu Martinez i wsp. badano hepatotoksyczność LCH. LCH w dawkach 1, 2, 4 i 8 mg/kg mc podawano szczurom doustnie przez 6 dni. Zwiększała ona w sposób zależny od dawki aktywność wątrobową O-deetyloazy etoksyresorufiny, O-demetylasy metoksyresorufiny, O-depentylasy pentoksyresorufiny, 7 $\alpha$ -testosteronu (CYP2A1) oraz 11- i 12-hydroksylazy kwasu laurynowego. Podobnie LCH w wyższych dawkach istotnie zwiększała wątrobowy poziom CYP1A1, 1A2, 2A1, 2B1, 2B2, 2E1, 3A1, 3A2 i 4A1 mRNA oraz ekspresję genów IL-1 $\beta$ , NF $\kappa$ B [53].

Znaczenie markerów zatrucia LCH zostało wyraźnie pokazane w licznych publikacjach [54-58]. Wszystkie z nich potwierdzają powszechną ekspozycję populacji ludzkiej na pyretroidy bez znaczących różnic w wieku i płci. Klimowska

i Wilegomias opisali nową metodę wykrywania metabolitów pyretroidów w moczu [59]. Co ciekawe, wykazano, że poziomy metabolitów pyretroidów były wyższe u mieszkańców miast niż u osób zamieszkujących tereny wiejskie [60]. Rodzaj i wsp. sugerują, że powszechna ekspozycja polskiej populacji na pyretroidy pochodzi ze źródeł nieżywnościowych [61]. Jurewicz i wsp. dostarczyli dowodów, że powszechne stosowanie pyretroidów wpływa na płodność mężczyzn [62]. Wszystkie te publikacje wskazują, że istnieje zapotrzebowanie na dobre markery toksyczności pyretroidów u ssaków. W naszych eksperymentach zwierzęta miały być wzorem w poszukiwaniu takiego markera u ludzi.

Wyniki badania Fetoui i wsp. wskazują, że podanie LCH prowadzi do powstania stresu oksydacyjnego w erytrocytach szczura, co zwiększa poziom reaktywnych form tlenu (ROS), karbonylku białka (PCO), aldehydu malonaldehydowego (MDA) i tlenku azotu (NO) [63]. Ponadto badano działanie mutagenne LCH za pomocą testu mikrojądrowego wykonanego z krwi obwodowej szczura. Odnotowano, że pyretroidy mogą indukować powstawanie mikrojąder w dzielących się komórkach [63–65].

Podjęty przez nas problem badawczy ma na celu pogłębienie szczegółowej wiedzy na temat wpływu zatrucia LCH na wątrobę. W naszym badaniu wykazaliśmy, że po zatruciu samic myszy LCH nastąpił statystycznie istotny spadek masy ciała zwierząt oraz wzrost stężenia NF- $\kappa$ B i VEGFR2.

Rolę VEGF w utrzymaniu mikrokrążenia w narządach wewnętrznych badano na wielu modelach zwierzęcych. W modelu niedokrwienno-reperfuzyjnego uszkodzenia nerek wytwarzanie czynnika VEGF w nerkach nie jest zwiększone, ale następuje redystrybucja już wytworzonego czynnika VEGF do nerek i zwiększona ekspresja mRNA VEGFR-2 [66,67]. Niedokrwienie i reperfuzja prowadzą do stresu oksydacyjnego [68], podobnie jak zatrucie pyretroidami [25]. Istnieją doniesienia sugerujące, że mezenchymalne komórki macierzyste działają w celu ochrony przed uszkodzeniem narządów w modelu niedokrwienno-reperfuzyjnym nie poprzez regenerację komórek, ale poprzez mechanizmy parakrynne. VEGF jest jednym z najważniejszych czynników w tych mechanizmach [69]. Badania na szczurach wykazały przewlekłą dysfunkcję nerek oraz zmniejszenie liczby naczyń włosowatych w kłębuszkach nerkowych i przestrzeni okołocewkowej związane ze zmniejszeniem ekspresji nerkowej VEGF [70]. Podawanie VEGF w tym modelu miało działanie ochronne na śródbłonek naczyń i pozwoliło na zahamowanie postępu dysfunkcji nerek, a także bliznowacenie uszkodzeń tkanek niezależnie od ciśnienia krwi, białkomoczu czy nacieku makrofagów [71].

Wykazano, że transkrypcja VEGF jest regulowana przez estrogeny, których wydzielanie odbywa się poprzez stymulację receptora estrogenowego [72]. Może to wyjaśniać, dlaczego w grupie kontrolnej poziom VEGFR2 jest niższy niż u kontrolnych samców. Zatrucie LCH powoduje stres oksydacyjny i zaburza mechanizm ochronny u kobiet.

NF- $\kappa$ B może być aktywowany przez wiele czynników. Warto zauważyć, że procesy, w których jest zaangażowany, mogą również wpływać na metabolizm ksenobiotyków i aktywność enzymów wątrobowych [73,74]. Miejsca wiązania NF- $\kappa$ B zidentyfikowano w promotorach genów niektórych enzymów metabolizujących ksenobiotyki [75]. LCH w dawce 4 mg/kg masy ciała zwiększyła ekspresję mRNA specyficznego dla NF $\kappa$ B 1,37-krotnie [53]. W naszym badaniu LCH również zwiększa poziom NF- $\kappa$ B, ale tylko u samic, co jest prawdopodobnie związane z ich wrażliwością na tę substancję.

NF- $\kappa$ B jest kluczowym regulatorem procesów zapalnych w wątrobie. Jest niezbędny do przeżycia hepatocytów i homeostazy wątroby. Funkcje komórek wątrobowych aktywnych w fibrogenezie i miofibroblastów są również regulowane przez NF- $\kappa$ B. Kluczowa rola NF- $\kappa$ B w regulacji śmierci komórek, stanów zapalnych i gojenia się ran sprawia, że jest to ważny modulator postępu choroby wątroby NF- $\kappa$ B i potencjalny związek między przewlekłym uszkodzeniem wątroby, zwłóknieniem i rakiem wątrobowokomórkowym, co może być ważne w planowaniu terapii tych stanów i ukierunkowania na ten czynnik transkrypcyjny. W modelach mysich genetyczna abłacja regulatorów NF- $\kappa$ B prowadzi do samoistnego uszkodzenia wątroby, zwłóknienia i raka wątrobowokomórkowego [76,77].

## WNIOSEK

NF- $\kappa$ B i VEGFR2 można stosować jako markery uszkodzenia wątroby po podostrym zatruciu LCH u samic myszy. Samice są bardziej wrażliwe na LCH niż samce.

## LITERATURA

- Glynn-Jones, A. Pyrethrum. *Pest Outlook*,12(5),195–8.2001;
- Prakash, A.; Rao, J. Botanical Pesticides in Agriculture. Boca Raton, FL, USA: CRC Press Inc; pp.480. 1997;
- Bhat, B.K.; Pyrethrum flowers: production, chemistry, toxicology, and uses. New York: Oxford University Press; 1995;
- Staudinger, H.; Ruzicka, L. Insektentötende Stoffe III. Konstitution des Pyrethrolons. *Helvetica Chimica Acta*,7(1),212–35. 1924;
- Farnham, A.W. Genetics of resistance of pyrethroid-selected houseflies, *Musca domestica* L. *Pesticide Science*,4(4),513–20. 1973;
- Lopez, O.; Fernandez-Bolanos, J. *Green Trends in Insect Control*. Cambridge, UK: Royal Society of Chemistry; 2011;
- Bradberry, S.; Cage S.A.; Proudfoot, A.T.; Vale, J.A. Poisoning due to pyrethroids. *Toxicological Reviews*,24. 93–106. 2005;
- Selim, S.; Preiss, F.J.; Gabriel, K.L.; Jonkman, J.H.; Osimitz, T.G. Absorption and mass balance of piperonyl butoxide following an 8-h dermal exposure in human volunteers. *Toxicol. Lett*,107(1–3),207–217.1999;
- Casida, J.E.; Quistad, G.B. Golden age of insecticide research: past, present, or future? *Annu Rev Entomol*,3:1–16.1998;
- Naumann, K. Synthetic Pyrethroid Insecticides: Structures and Properties. Berlin Heidelberg: Springer-Verlag; 1990;
- Soderlund, D.M.; Bloomquist, J.R. Neurotoxic actions of pyrethroid insecticides. *Annu Rev Entomol*,34,77–96.1989;
- Laskowski, D.A. Physical and chemical properties of pyrethroids. *Rev Environ Contam Toxicol*,174,49–170.2002;
- Vasquez, M.E.; Gunasekara A.S.; Cahill, T.M.; Tjeerdema, R.S. Partitioning of etofenprox under simulated California rice-growing conditions. *Pest Management Science*,66(1),28–34.2010;
- Wielgomias, B.; Piskunowicz, M. Biomonitoring of pyrethroid exposure among rural and urban populations in northern Poland. *Chemosphere*. ,93(10):2547–53.2013;
- Verschoye, R.D.; Aldridge, W.N. Structure-activity relationships of some pyrethroids in rats. *Arch. Toxicol*,45(4),325–329.1980;
- Lawrence, L.J.; Casida, J.E. Pyrethroid toxicology: Mouse intracerebral structure-toxicity relationships. *Pestic. Biochem. Physiol*,18(1),9–14.1982;
- Gray, A.J. Pyrethroid structure-toxicity relationships in mammals. *Neurotoxicology*.6(2),127–37.1985;
- Vijverberg, H.P., van den Bercken, J. Neurotoxicological effects and the mode of action of pyrethroid insecticides. *Crit Rev Toxicol*,21(2),105–26.1990;



19. Chinn, K.; Narahashi, T. Stabilization of sodium channel states by deltamethrin in mouse neuroblastoma cells. *J. Physiol*,380,191–207.1986;
20. Davies, T.G.E.; Field, L.M.; Usherwood, P.N.R.; Williamson, M.S.DDT, pyrethrins, pyrethroids and insect sodium channels. *IUBMB Life*, 9 (3), 151–62. 2007;
21. Soderlund, D.M. Molecular mechanisms of pyrethroid insecticide neurotoxicity: recent advances. *Arch Toxicol*, 86(2),165-81.2012;
22. Morgan, M.K. Children's exposures to pyrethroid insecticides at home: a review of data collected in published exposure measurement studies conducted in the United States. *Int J Environ Res Public Health*, 9(8):2964-85.2012;
23. Saillenfait, A.M.; Ndiaye, D.; Sabate, J.P. Pyrethroids: exposure and health effects--an update. *Int J Hyg Environ Health*, 218(3):281-92.2015;
24. Al-Omar, M.; Naz, M.; Mohammed, S.A.A.; Mansha, M.; Ansari, M.N.; Rehman, N.U.; Kamal, M.; Mohammed, H.A.; Yusuf, M.; Hamad, A.M.; Akhtar, N.; Khan, R.A. Pyrethroid-Induced Organ Toxicity and Anti-Oxidant-Supplemented Amelioration of Toxicity and Organ Damage: The Protective Roles of Ascorbic Acid and  $\alpha$ -Tocopherol. *Int J Environ Res Public Health*, 17(17):6177.2020;
25. Nieradko-Iwanicka, B.; Borzęcki, A. Subacute poisoning of mice with deltamethrin produces memory impairment, reduced locomotor activity, liver damage and changes in blood morphology in the mechanism of oxidative stress. *Pharmacol Rep*, 67 (3): 535-541.2015;
26. Han, B.; Lv, Z.; Zhang, X.; Lv, Y.; Li, S.; Wu, P.; Yang, Q.; Li, J.; Qu, B.; Zhang Z. Deltamethrin induces liver fibrosis in quails via activation of the TGF- $\beta$ 1/Smad signaling pathway. *Environ Pollut*, 259:113870. 2020;
27. Aouey, B.; Derball, M.; Chtourou, Y.; Bouchard, M.; Khabir, A.; Fetoui, H. Pyrethroid insecticide lambda-cyhalothrin and its metabolites induce liver injury through the activation of oxidative stress and proinflammatory gene expression in rats following acute and subchronic exposure. *Environ Sci Pollut Res Int*, 24(6):5841-5856. 2017;
28. Li, Q.; Verma, I.M. NF-kappaB regulation in the immune system. *Nat Rev Immunol*,2(10):725–34.2002;
29. Hayden, M.S.; Ghosh, S. Signaling to NF-kappaB. *Genes Dev*,18(18),2195–224.2004;
30. Perkins, N.D. Integrating cell-signalling pathways with NF-kappaB and IKK function. *Nat Rev Mol Cell Biol*,8(1),49–62.2007;
31. Kumar, A.; Takada, Y.; Boriek, A.M.; Aggarwal, B.B. Nuclear factor-kappaB: its role in health and disease. *J Mol Med (Berl)*,82(7),434–48.2004;
32. Liu, T.; Zhang, L.; Joo, D.; Sun, S-C. NF-kB signaling in inflammation. *Signal Transduct. Target. Ther*,2,17023.2017;
33. Wang, N.; Liang, H.; Zen, K. Molecular mechanisms that influence the macrophage m1-m2 polarization balance. *Front Immunol*,5,614.2004;
34. Lawrence, T. The Nuclear Factor NF-kB Pathway in Inflammation. *Cold Spring Harb. Perspect. Biol*,1(6). Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2882124/>. (cited on April1,2021). 2009;
35. Pahl, H.L. Activators and target genes of Rel/NF-kappaB transcription factors. *Oncogen*,18(49),6853–66.1999;
36. Bharti, A.C.; Aggarwal, B.B. Nuclear factor-kappa B and cancer: its role in prevention and therapy. *Biochem Pharmacol*,64(5–6),883–8.2002;
37. Schwabe, R.F.; Seki, E.; Brenner, D.A. Toll-like receptor signaling in the liver. *Gastroenterology*,130(6),1886–900.2006;
38. Olsson, A-K; Dimberg, A.; Kreuger, J.; Claesson-Welsh, L. VEGF receptor signalling - in control of vascular function. *Nat Rev Mol Cell Biol*,7(5),359–71.2006;
39. Semenza, G.L. Vasculogenesis, angiogenesis, and arteriogenesis: mechanisms of blood vessel formation and remodeling. *J Cell Biochem*,102(4),840–7.2007;
40. Moreira, I.S.; Fernandes, P.A.; Ramos, M.J. Vascular endothelial growth factor (VEGF) inhibition--a critical review. *Anticancer Agents Med. Chem*,7(2),223–245.2007;
41. Duffy, A.M.; Bouchier-Hayes, D.J.; Harney, J.H. Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) and Its Role in Non-Endothelial Cells: Autocrine Signalling by VEGF [Internet]. Landes Bioscience; [cited on 13 Feb 2021]. Available online: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK6482/>2013;
42. Tjwa, M.; Luttmann, A.; Autiero, M.; Carmeliet, P. VEGF and PlGF: two pleiotropic growth factors with distinct roles in development and homeostasis. *Cell Tissue Res*,314(1),5–14.2003;
43. Yamazaki, Y.; Morita, T. Molecular and functional diversity of vascular endothelial growth factors. *Mol Divers*,10(4),515–27.2006;
44. Melincovici, C.S.; Boşca, A.B.; Şuşman, S.; Mărginean, M.; Mişu, C.; Istrate, M. Vascular endothelial growth factor (VEGF) - key factor in normal and pathological angiogenesis. *Rom J Morphol Embryol*,59(2),455–67.2018;
45. Elhalwagy, M.E.; Abd-Alrahman, S.H.; Nahas, A.A.; Ziada, R.M.; Mohamady, A.H. Hepatopancreatic intoxication of lambda cyhalothrin insecticide on albino rats. *Int J Clin Exp Med*, 8(5),7297-305. 2015;
46. Kroeger, A.; Villegas, E.; Ordoñez-González, J.; Pabon, E.; Scorza, J.V. Prevention of the transmission of Chagas' disease with pyrethroid-impregnated materials. *Am J Trop Med Hyg*,68(3),307–11.2003;
47. Anadón, A.; Martínez, M.A.; Martínez, M.; Castellano, V.; Ares, I.; Romero, A. Differential induction of cytochrome P450 isoforms and peroxisomal proliferation by cyfluthrin in male Wistar rats. *Toxicol Lett*,220(2),135–42.2013;
48. Hedges, L.; Brown, S.; MacLeod, A.K.; Moreau, M.; Yoon, M.; Creek, M.R.; Osimitz, T.G.; Lake, B.G. Metabolism of bifenthrin,  $\beta$ -cyfluthrin,  $\lambda$ -cyhalothrin, cyphenothrin and esfenvalerate by rat and human cytochrome P450 and carboxylesterase enzymes. *Xenobiotica*,50(12),1434-1442.2020;
49. Fetoui, H.; Garoui, E.M.; Zeghal, N. Lambda-cyhalothrin-induced biochemical and histopathological changes in the liver of rats: ameliorative effect of ascorbic acid. *Exp Toxicol Pathol*,61(3),189–96.2009.;
50. Fetoui, H.; Makni, M.; Garoui, E.M.; Zeghal, N. Toxic effects of lambda-cyhalothrin, a synthetic pyrethroid pesticide, on the rat kidney: Involvement of oxidative stress and protective role of ascorbic acid. *Exp Toxicol Pathol*,62(6),593–9.2010;
51. Fetoui, H.; Garoui, E.M.; Makni-Ayadi, F.; Zeghal, N. Oxidative stress induced by lambda-cyhalothrin (LTC) in rat erythrocytes and brain: Attenuation by vitamin C. *Environ Toxicol Pharmacol*, 26(2),225–31.2008;
52. Abdallah, F.B.; Fetoui, H.; Fakhfakh, F.; Keskes, L. Caffeic acid and quercetin protect erythrocytes against the oxidative stress and the genotoxic effects of lambda-cyhalothrin in vitro. *Hum Exp Toxicol*,31(1),92–100.2012;
53. Aouey, B.; Derball, M.; Chtourou, Y.; Bouchard, M.; Khabir, A.; Fetoui, H. Pyrethroid insecticide lambda-cyhalothrin and its metabolites induce liver injury through the activation of oxidative stress and proinflammatory gene expression in rats following acute and subchronic exposure. *Environ Sci Pollut Res Int*, 24(6),5841–56.2017;
54. Martínez, M.A.; Ares, I.; Rodríguez, J.L.; Martínez, M.; Roura-Martínez, D.; Castellano, V.; Lopez-Torres, B.; Martínez-Larrañaga, M.R.; Anadón, A. Pyrethroid insecticide lambda-cyhalothrin induces hepatic cytochrome P450 enzymes, oxidative stress and apoptosis in rats. *Sci Total Environ*, 631: 1371–1382.2018;
55. Klimowska, A.; Amenda, K.; Rodzaj, W.; Wileńska, M.; Jurewicz, J.; Wielgomas, B. Evaluation of 1-year urinary excretion of eight metabolites of synthetic pyrethroids, chlorpyrifos, and neonicotinoids. *Environ Int*,145:106119. 2020;
56. Radwan, M.; Jurewicz, J.; Wielgomas, B.; Piskunowicz, M.; Sobala, W.; Radwan, P.; Jakubowski, L.; Hawul, a W.; Hankme W. The association between environmental exposure to pyrethroids and sperm aneuploidy. *Chemosphere*,128:42-8. 2015;
57. Dziejirska, E.; Radwan M.; Wielgomas, B.; Klimowska, A.; Radwan, P.; Kałużny, P.; Hanke, W.; Słodki, M.; Jurewicz, J. Human Semen Quality, Sperm DNA Damage, and the Level of Urinary Concentrations of 1N and TCPY, the Biomarkers of Nonpersistent Insecticides. *Am J Mens Health*,13(1):1557988318816598. 2019;
58. Radwan, M.; Jurewicz, J.; Wielgomas, B.; Sobala, W.; Piskunowicz, M.; Radwan, P.; Hanke, W. Semen quality and the level of reproductive hormones after environmental exposure to pyrethroids. *J Occup Environ Med*,56(11):1113-9. 2014;
59. Wielgomas, B.; Nahorski, W.; Czarnowski, W. Urinary concentrations of pyrethroid metabolites in the convenience sample of an urban population of Northern Poland. *Int J Hyg Environ Health*, 216(3):295-300. 2013;
60. Klimowska, A.; Wielgomas, B. Off-line microextraction by packed sorbent combined with on solid support derivatization and GC-MS: Application for the analysis of five pyrethroid metabolites in urine samples. *Talanta*,176:165-171.2018;
61. Wielgomas, B.; Piskunowicz, M. Biomonitoring of pyrethroid exposure among rural and urban populations in northern Poland. *Chemosphere*,93(10):2547-53.2013;
62. Rodzaj, W.; Wileńska, M.; Klimowska, A.; Dziejirska, E.; Jurewicz, J.; Walczak-Jędrzejowska, R.; Słowikowska-Hilczler, J.; Hanke, W.; Wielgomas, B. Concentrations of urinary biomarkers and predictors of exposure to pyrethroid insecticides in young, Polish, urban-dwelling men. *Sci Total Environ*,773:145666.2021;
63. Jurewicz, J.; Radwan, M.; Wielgomas, B.; Sobala, W.; Piskunowicz, M.; Radwan, P.; Bochenek, M.; Hanke, W. The effect of environmental exposure to pyrethroids and DNA damage in human sperm. *Syst Biol Reprod Med*,61(1):37-43.2015;
64. Fetoui, H.; Feki, A.; Salah, G.B.; Kamoun, H.; Fakhfakh, F.; Gdoura, R. Exposure to lambda-cyhalothrin, a synthetic pyrethroid, increases reactive oxygen species production and induces genotoxicity in rat peripheral blood. *Toxicol Ind Health*, 31(5),433–41.2015;
65. Al-Sabti, K.; Metcalfe, C.D. Fish micronuclei for assessing genotoxicity in water. *Mutat. Res*,343(2–3),121–135.1995;
66. Kirsch-Volders, M.; Vanhauwaert, A.; De Boeck, M.; Decordier, I. Importance of detecting numerical versus structural chromosome aberrations. *Mutat. Res*,504(1–2),137–148.2002;

67. Kanellis, J.; Mudge, .S.J.; Fraser, S.; Katerelos, M.; Power, D.A. Redistribution of cytoplasmic VEGF to the basolateral aspect of renal tubular cells in ischemia-reperfusion injury. *Kidney Int* ,57, 2445–2456.2000;
68. Kanellis, J.; Paizis, K.; Cox, A.J.; Stacker, S.A.; Gilbert, R.E.; Cooper, M.E.; Power, D.A. Renal ischemia-reperfusion increases endothelial VEGFR-2 without increasing VEGF or VEGFR-1 expression. *Kidney Int* ,61, 1696–1706.2002;
69. Aboutaleb, N.; Jamali, H.; Abolhasani, M.; Pazoki,H.; Toroudi, H. Lavender oil (*Lavandula angustifolia*) attenuates renal ischemia/reperfusion injury in rats through suppression of inflammation, oxidative stress and apoptosis. *Biomed Pharmacother* ,110,9-19. 2019;
70. Tögel, F.; Weiss, K.; Yang, Y.; Hu, Z.; Zhang, P.; Westenfelder, C. Vasculotropic, paracrine actions of infused mesenchymal stem cells are important to the recovery from acute kidney injury. *Am J Physiol-Ren Physiol* ,292,F1626–1635.2007;
71. Kang, D.H.; Hughes, J.; Mazzali, M.; Schreiner, G.F.; Johnson, R.J. Impaired angiogenesis in the remnant kidney model: II. Vascular endothelial growth factor administration reduces renal fibrosis and stabilizes renal function. *J Am Soc Nephrol JASN* ,12, 1448–1457.2001;
72. Kang, D.H.; Joly, A.H.; Oh, S.W.; Hugo, C.; Kerjaschki, D.; Gordon, K.L.; Mazzali, M.; Jefferson, J.A.; Hughes, J.; Madsen, K.M.; Schreiner, G.F.; Johnson, R.J. Impaired angiogenesis in the remnant kidney model: I. Potential role of vascular endothelial growth factor and thrombospondin-1. *J Am Soc Nephrol JASN* ,12, 1434–1447.2001;
73. Hyder, S.M.; Nawaz, Z.; Chiappetta, C.; Stancel, G.M. Identification of functional estrogen response elements in the gene coding for the potent angiogenic factor vascular endothelial growth factor. *Cancer Res* ,60, 3183–3190.2000;
74. Aitken, A.E.; Richardson, T.A.; Morgan, E.T. Regulation of drug-metabolizing enzymes and transporters in inflammation. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* ,46, 123–149.2006;
75. Morgan, E.T. Regulation of cytochrome p450 by inflammatory mediators: why and how? *Drug Metab Dispos Biol Fate Chem* ,29, 207–212.2001;
76. Morgan, E.T.; Li-Masters, T.; Cheng, P.Y. Mechanisms of cytochrome P450 regulation by inflammatory mediators. *Toxicology* ,181–182, 207–210.2002;
77. Luedde, T.; Schwabe, R.F. NF- $\kappa$ B in the liver--linking injury, fibrosis and hepatocellular carcinoma. *Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol*,8(2),108–118. 2011;

prof. dr hab. n. med. Barbara Nieradko-Iwanicka  
Katedra i Zakład Higieny i Epidemiologii, Uniwersytet Medyczny w Lublinie  
ul. Chodźki 7, 20-093 Lublin  
e-mail:barbara.nieradko-iwanicka@umlub.pl

