

Étude de l'implication de la protéine High-Mobility Group Box 1 dans les lésions hépatiques induites par le paracétamol : dissection des voies de signalisation et ciblage thérapeutique potentiel

Involvement of High-Mobility Group Box 1 protein in acetaminophen induced liver injury: dissection of signaling pathways and potential therapeutic targeting

MINSART C. et GUSTOT T.

Service de Gastroentérologie, d'Hépatopancréatologie et d'Oncologie digestive, Hôpital Erasme et Laboratoire de Gastroentérologie, Université libre de Bruxelles (ULB)

RÉSUMÉ

L'overdose au paracétamol est l'une des intoxications médicamenteuses la plus fréquente au monde, caractérisée par une atteinte hépatique dont l'issue peut être fatale. En effet, en cas de surdosage sévère, les hépatocytes finissent par mourir entraînant des lésions hépatiques irréversibles. Les études réalisées dans ce domaine font état, pour la plupart, de l'intervention des cellules du système immunitaire inné pour justifier les lésions hépatiques. Cependant, certaines zones d'ombre persistent encore aujourd'hui dans la compréhension des mécanismes de toxicité hépatique du paracétamol.

Dans ce travail doctoral, nous mettons en évidence l'existence d'un mécanisme cellulaire dépendant de la protéine *High-Mobility Group Box 1* (HMGB1) qui amplifie et propage les lésions hépatiques initialement induites par le paracétamol et qui ne requiert pas l'intervention des cellules du système immunitaire inné. D'une part, nous démontrons *in vitro*, que la protéine HMGB1 est à l'origine d'une boucle de rétroaction positive toxique. Une fois libérée par les hépatocytes nécrotiques, elle est en effet capable de se lier aux hépatocytes voisins et d'induire leur mort par nécroptose en activant une voie de signalisation dépendante de l'axe TLR4/TRIF/RIPK3. D'autre part, nous démontrons, *in vivo* chez la souris, que l'association de la glycyrrhizine (inhibiteur d'HMGB1) à la N-acétylcystéine (Lysomucil®), traitement reconnu de l'hépatotoxicité au paracétamol, présente un bénéfice thérapeutique.

En conclusion, ce travail doctoral a permis de confirmer le rôle néfaste d'HMGB1 dans l'overdose au paracétamol, de mettre en évidence un nouveau mécanisme de toxicité hépatique et finalement d'ouvrir de nouvelles voies thérapeutiques potentielles.

Rev Med Brux 2022 ; 43 : 203-208
Doi : 10.30637/2022.21-083

ABSTRACT

Acetaminophen overdose is one of the most frequent drug intoxication in the world, characterized by hepatic damage whose outcome can be fatal. Indeed, in case of severe overdose, hepatocytes eventually die leading to irreversible liver damage. The studies carried out in this field, for the most part, point to the intervention of innate immune cells to justify the hepatic damage. However, some grey areas still remain in the understanding of these mechanisms of hepatic toxicity.

In this thesis work, we identify a cellular mechanism dependent on the High-Mobility Group Box 1 (HMGB1) protein, which amplifies and propagates the hepatic lesions initially induced by acetaminophen, and which does not require the intervention of innate immune cells. On the one hand, we demonstrate *in vitro*, that the HMGB1 protein is at the origin of a toxic positive feedback loop. Once released by necrotic hepatocytes, it is able to bind to neighboring hepatocytes and induce their death by necroptosis by activating a TLR4/TRIF/RIPK3 axis dependent signaling pathway. On the other hand, we demonstrate *in vivo* in mice, that the association of glycyrrhizin (HMGB1 inhibitor) with N-acetylcysteine (Lysomucil®), recognized treatment for acetaminophen overdose, have a therapeutic benefit.

In conclusion, this thesis work confirmed the harmful role of HMGB1 in paracetamol overdose, highlighted a new mechanism of liver toxicity and finally opened new potential therapeutic avenues.

Rev Med Brux 2022 ; 43 : 203-208
Doi : 10.30637/2022.21-083

Key words : acetaminophen, acute liver injury, high-mobility group box 1, hepatotoxicity, necrosis, signaling pathway

INTRODUCTION

En Belgique, comme dans d'autres pays, les composés contenant du paracétamol font partie des médicaments les plus largement commercialisés et peuvent, dans la majorité des cas, être délivrés sans prescription¹. De plus, le paracétamol est facilement disponible et se retrouve dans de nombreux produits, ce qui conduit à une sous-estimation de sa toxicité. Par ailleurs, un pourcentage important de patients ingèrent des quantités excessives de paracétamol soit par mauvaise compréhension des recommandations de dosage ou par méconnaissance de la possibilité de retrouver du paracétamol dans plus d'un médicament qu'ils utilisent². Pour toutes ces raisons, le paracétamol est fréquemment retrouvé dans les cas d'intoxications médicamenteuses, qu'elles soient volontaires ou accidentelles. Aujourd'hui, le surdosage au paracétamol est l'une des premières causes de lésions hépatiques aiguës dans le monde et représente donc un problème de santé majeur³⁻⁶.

Lorsqu'il est administré aux doses recommandées, 85 à 90 % du paracétamol est métabolisé par des réactions de glucuronidation et de sulfatation, puis excrété dans l'urine (2 % sont excrétés dans l'urine sous forme inchangée). Moins de 10 % est métabolisé par le cytochrome p450 en un métabolite toxique, le N-acétyl-p-benzoquinone imine (NAPQI). Dans des conditions normales, le NAPQI est rapidement converti en un métabolite non toxique par le glutathion (GSH)^{7,8}. Cette propriété a d'ailleurs permis de découvrir le seul antidote actuellement utilisé en clinique dans les cas de surdosage au paracétamol : le Lysomucil®⁹⁻¹². Ce dernier contient de la N-acétylcystéine (NAC) qui permet de restaurer les stocks de glutathion et donc d'augmenter la détoxification du NAPQI. Cependant, en cas d'ingestion massive de paracétamol, les réserves de glutathion ne sont plus suffisantes pour détoxifier le métabolite toxique. Le NAPQI s'accumule alors dans la cellule où il peut se lier à d'autres protéines, altérant ainsi leur structure et leur fonction¹³⁻¹⁶. Ces adduits de paracétamol se forment principalement avec des protéines mitochondriales essentielles à la respiration cellulaire et à la survie de la cellule^{17,18}. L'accumulation de ces adduits conduit finalement à la nécrose des hépatocytes et représente donc la principale cause de la toxicité du paracétamol.

Par ailleurs, lorsque les cellules du foie meurent, elles libèrent leur contenu intracellulaire dans le milieu extracellulaire. Parmi les composants libérés, on trouve des motifs moléculaires associés au danger : les *Damage Associated Molecular Patterns* (DAMPs)^{20,21}. Le paradigme actuel suggère que la mort cellulaire conduit à la libération de DAMPs qui alertent les cellules du système immunitaire et déclenchent ainsi une boucle d'auto-amplification entraînant des lésions tissulaires et finalement la défaillance hépatique²²⁻²⁴.

La protéine *High-Mobility Group Box 1* (HMGB1) fait partie des DAMPs libérés par les hépatocytes lors d'un surdosage au paracétamol²¹. HMGB1 est une petite protéine de 30 kDa, hautement conservée au cours de l'évolution et qui présente une homologie en acide

aminé de 99 % entre les rongeurs et l'humain²⁵. Dans des conditions physiologiques, la protéine HMGB1 est une protéine nucléaire qui a une fonction architecturale. Elle est impliquée dans le maintien de la structure des nucléosomes et la régulation de la transcription des gènes de par sa liaison au sillon mineur de l'ADN²⁶. A côté de sa fonction intracellulaire nucléaire, HMGB1 possède une fonction extracellulaire cytokinique, comme cité plus haut, en tant que DAMP^{27,28}. Cette libération extracellulaire peut être initiée à la fois de manière passive par les cellules nécrotiques^{29,30} et active par les cellules du système immunitaire inné telles que les macrophages, les neutrophiles, les cellules dendritiques matures et les cellules *natural killer*^{25,31,32}.

Au cours des études réalisées sur le surdosage au paracétamol, il a été démontré que les taux sériques d'HMGB1 sont augmentés chez les patients admis pour une intoxication au paracétamol et sont corrélés à la gravité de l'insuffisance hépatique^{16,33,34}. D'autres études ont également démontré que la protéine HMGB1, libérée suite à un surdosage de paracétamol, stimule les cellules du système immunitaire inné et accélère la réponse inflammatoire³⁵⁻³⁷. D'autre part, le ciblage thérapeutique de la protéine HMGB1, avec des anticorps neutralisants ou des drogues inhibitrices, permet de prévenir l'hépatotoxicité du paracétamol, de favoriser la régénération tissulaire et de restaurer la fonction hépatique³⁸⁻⁴².

Au terme de cette introduction, nous pouvons donc retenir deux concepts importants : 1) lors d'une intoxication au paracétamol, la nécrose hépatique est accompagnée par une réaction inflammatoire médiée par les cellules immunitaires innées ; 2) la protéine HMGB1, libérée par les hépatocytes nécrotiques, participe également à la propagation de la réponse inflammatoire en agissant directement sur les cellules immunitaires.

HYPOTHÈSES DU TRAVAIL DOCTORAL

À l'heure actuelle, des progrès importants ont été réalisés dans la compréhension des mécanismes conduisant aux lésions hépatiques induites par le paracétamol. Néanmoins, le mécanisme sous-jacent conduisant au processus d'amplification et de propagation de la nécrose n'est lui, pas encore totalement compris.

Plus précisément, ce travail a été divisé en trois parties :

- Le premier objectif consiste à examiner les conséquences de la libération d'HMGB1, à des temps précoces, sur la gravité des lésions hépatiques dans un modèle murin d'hépatite au paracétamol et à déterminer par quelle voie (dépendante ou non des cellules immunitaires), la protéine HMGB1 est impliquée dans la propagation du processus hépatotoxique ;
- Le second objectif consiste à disséquer *in vitro* le processus hépatotoxique induit par le paracétamol et à identifier le mécanisme cellulaire induit par la protéine HMGB1 sur les hépatocytes et ce, indépendamment de tout autre type cellulaire, y compris les cellules du système immunitaire ;
- Le dernier objectif consiste à évaluer l'efficacité

thérapeutique, dans notre modèle murin d'hépatite au paracétamol, de l'association de la glycyrrhizine et de la N-acétylcystéine, qui agissent tous deux à différents stades du processus de métabolisation du paracétamol.

RÉSULTATS

1^{ère} partie : La protéine HMGB1 joue un rôle néfaste dans un modèle murin de lésions hépatiques induites par le paracétamol

Nos premières expériences ont confirmé que l'administration d'une dose massive de paracétamol induit des dommages hépatiques sévères au vu du dosage des transaminases et du glutathion hépatique ainsi que de l'évaluation du score histologique de nécrose hépatique.

Parallèlement, nous avons observé une augmentation significative de la concentration plasmatique d'HMGB1 et une diminution significative de l'expression nucléaire de la protéine au sein des hépatocytes. A l'opposé de ce qui est actuellement décrit dans la littérature, nous n'avons cependant pas observé d'augmentation de l'expression hépatique des cytokines pro-inflammatoires communément décrites que sont l'IL-1beta, le TNF-alpha et l'IFN-gamma.

Ensuite, nous avons confirmé l'effet délétère de la protéine HMGB1 en utilisant un inhibiteur directe: la glycyrrhizine. Cette dernière, en se liant à HMGB1 sur des sites spécifiques, empêche l'interaction de la protéine avec ses récepteurs et bloque donc toute propagation du signal. Nos résultats montrent que suite à l'administration de glycyrrhizine, nos souris sont protégées des lésions hépatiques induites par le paracétamol, tant au niveau biochimique (dosage des transaminases) qu'au niveau histologique (évaluation du score de nécrose). Bloquer la protéine HMGB1, et donc l'empêcher de transmettre son « message », semble suffisant pour bloquer la propagation de l'effet toxique induit par le paracétamol.

Différents acteurs sont connus pour leur capacité à interagir avec HMGB1. Ils participent de manière hypothétique à la propagation des lésions hépatiques initialement induites par le paracétamol. Les deux principaux acteurs sont les neutrophiles et les macrophages. Dans notre modèle murin, la déplétion des cellules de Kupffer, macrophages résidents du foie, ne protège pas nos souris contre la toxicité du paracétamol. Au contraire, nous observons une augmentation des transaminases hépatiques, une augmentation du score de nécrose et une augmentation de la concentration plasmatique d'HMGB1. Ces cellules pro-inflammatoires semblent donc plutôt jouer un rôle protecteur. Concernant les neutrophiles, l'analyse des lames histologiques immunomarquées pour la myéloperoxydase (marqueur caractéristique des neutrophiles) n'a pas mis en évidence de recrutement significatif au niveau des zones de nécrose hépatique suggérant qu'ils ne sont pas directement impliqués dans le phénomène étudié, du moins dans les phases précoces de l'intoxication.

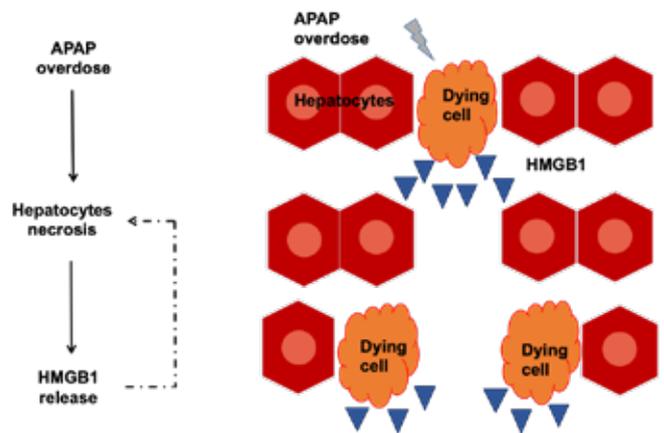
Nous avons conclu, à l'issue de ces expériences, que la protéine HMGB1 est impliquée dans la toxicité hépatique du paracétamol indépendamment de l'intervention des cellules de Kupffer et des neutrophiles.

Quels acteurs sont alors impliqués ? Comment HMGB1 médie-t-elle son signal ? Quelle voie de signalisation est-elle activée ?

Nous avons alors émis l'hypothèse que les hépatocytes servent eux-mêmes d'intermédiaires et que les protéines d'HMGB1, libérées par les hépatocytes nécrotiques, contribuent, par une boucle de rétroaction positive, à l'amplification et à la propagation de la nécrose au cours des lésions hépatiques induites par le paracétamol. Le modèle suivant a donc été suggéré (figure 1).

Figure 1

La protéine HMGB1 libérée par les hépatocytes nécrotiques contribue, par une boucle de rétroaction positive, à l'amplification et à la propagation de la nécrose hépatocytaire lors d'une overdose au paracétamol.



2^e partie : HMGB1 est à l'origine, dans la toxicité induite par le paracétamol, d'une boucle de rétro-action positive impliquant l'axe TLR4/TRIF/RIPK3 et conduisant à la nécroptose des hépatocytes

Dans cette seconde partie du travail doctoral, nous avons essentiellement travaillé sur une lignée cellulaire hépatique qui conserve de nombreuses caractéristiques des hépatocytes humains primaires : les cellules HepaRG.

Nous avons tout d'abord confirmé que les cellules HepaRG sont capables de transporter le paracétamol dans leur cytoplasme, qu'elles sont capables de le métaboliser et qu'elles meurent de manière dose-dépendante.

Ensuite, nous avons démontré une augmentation significative de la concentration d'HMGB1 dans le surnageant cellulaire, directement proportionnelle à la dose de paracétamol utilisée et donc au pourcentage de mortalité cellulaire. Par la suite, nous avons exposé des cellules HepaRG que nous appellerons « naïves », car non exposées au paracétamol, au surnageant issu de cellules HepaRG préalablement exposées au paracétamol. Il apparaît que ce surnageant, source d'HMGB1, induit une

mortalité cellulaire significative. Cependant, il est composé de débris cellulaires et d'un ensemble de DAMPs potentiels, pas seulement d'HMGB1. L'addition de glycyrrhizine au surnageant bloque son potentiel toxique sur les HepaRG naïves ce qui renforce notre conviction que l'hépatotoxicité observée est partiellement médiée par HMGB1.

Pour appuyer nos résultats, nous avons exposé directement nos cellules HepaRG à de l'HMGB1 en utilisant une protéine HMGB1 humaine recombinante (rhHMGB1). Nos résultats prouvent que la protéine rhHMGB1 peut induire, à elle seule, la mort des cellules HepaRG. Ces résultats ont également été confirmés sur des hépatocytes primaires humains.

A ce stade, nos travaux mettent en évidence pour la première fois l'action hépatotoxique directe de la protéine HMGB1.

Par la suite, nous avons exploré les différents acteurs de ce nouveau mécanisme d'action en suggérant l'implication de la nécroptose. Ce processus de nécrose programmée est dépendant de l'intervention de « Receptor-Interacting Protein Kinase » (RIPK). Les protéines RIPK3 et RIPK1 sont les plus documentées.

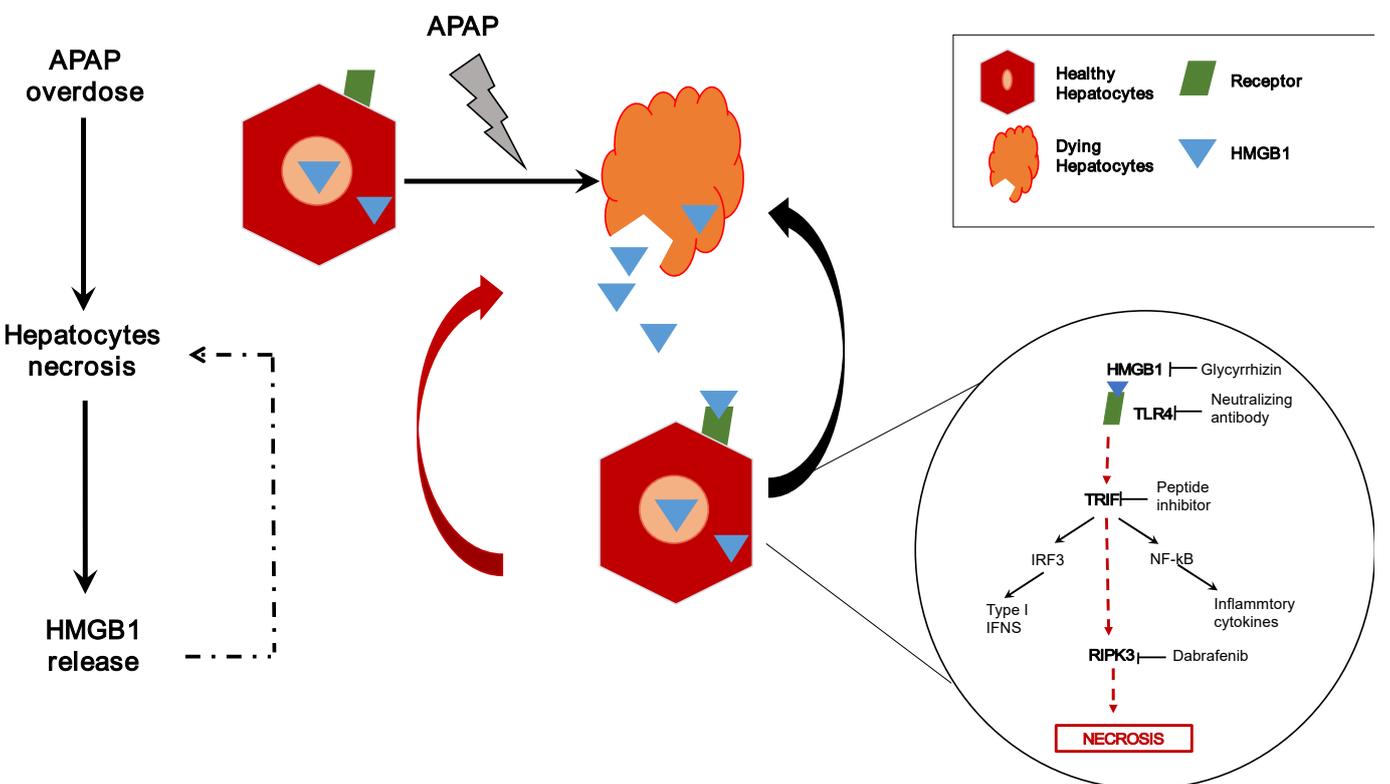
Dans notre modèle, nos résultats montrent que seule l'inhibition de RIPK3 est protectrice suite à l'exposition des cellules HepaRG au paracétamol ou à rhHMGB1. Il semble que le mécanisme de toxicité soit dépendant de RIPK3 et indépendant de RIPK1. En poursuivant nos

expériences sur cette voie de signalisation, nous avons démontré que l'inhibition des protéines agissant en aval de RIPK3, MLKL et Drp-1, diminuait également de manière significative la mortalité des cellules HepaRG induite par le paracétamol et rhHMGB1.

À ce stade de notre travail de recherche, les étapes en amont de l'activation de la protéine RIPK3 n'avaient pas encore été investiguées. Nos expériences montrent que l'inhibition de TRIF (molécule adaptatrice des Toll-like Receptor [TLR] 3 et 4), protège les cellules HepaRG de la toxicité induite par rhHMGB1, suggérant son implication dans le processus toxique. De plus, nous avons confirmé une protection partielle suite à l'administration de paracétamol chez des souris mutantes pour l'allèle codant pour le gène *trif*. Or, TRIF est impliqué dans la voie médiée par les récepteurs TLR3 et TLR4. Après avoir démontré l'expression de ces deux récepteurs, par les cellules HepaRG, des expériences avec un anticorps bloquant anti-TLR4 ont été réalisées. Le blocage du récepteur TLR4 exprimé à la surface des cellules HepaRG, diminue significativement la mortalité cellulaire induite par le paracétamol et la protéine rhHMGB1.

En conclusion, nous confirmons l'hypothèse selon laquelle la protéine HMGB1, libérée par les hépatocytes nécrotiques, contribue à l'amplification de la mort des hépatocytes, du moins partiellement, via une voie de signalisation dépendante de l'axe TLR4/TRIF/RIPK3, comme illustré par le modèle suivant (figure 2).

Figure 2
La protéine HMGB1 contribue à l'amplification et à la propagation de la nécrose hépatocytaire par une voie de signalisation dépendante de l'axe TLR4/TRIF/RIPK3.



3e partie : L'association de la glycyrrhizine et de la N-acétyl-cystéine a un effet thérapeutique bénéfique dans un modèle murin de lésions hépatiques induites par un surdosage de paracétamol

Actuellement, le Lysomucil® est le seul antidote disponible en cas de surdosage au paracétamol. Cependant, ce traitement présente un certain nombre de limitations⁴⁴⁻⁴⁹ et dans les cas les plus sévères de surdosage au paracétamol, la transplantation hépatique reste actuellement la seule alternative thérapeutique.

Les résultats obtenus dans la première et la deuxième partie de ce travail doctoral, nous confortent dans l'idée que la protéine HMGB1 est une bonne cible thérapeutique potentielle. Cette dernière partie de notre travail a été réalisée afin de déterminer si l'association de la glycyrrhizine et de la N-acétylcystéine (NAC) pouvait avoir un bénéfice thérapeutique sur les lésions hépatiques induites par le paracétamol dans notre modèle murin⁵⁰.

Nos premiers résultats montrent que l'administration de l'association NAC/GL est aussi efficace que l'administration de NAC seul, lorsque les traitements sont administrés en même temps que le paracétamol. Lorsque les traitements sont administrés 2 heures après le paracétamol, l'efficacité des trois traitements (GL, NAC, NAC/GL) est également équivalente. Par contre, lorsque les traitements sont administrés 6 heures après le paracétamol, seul le traitement NAC/GL diminue de manière significative la nécrose des hépatocytes dans la région centrolobulaire. De plus, les études de survie menées sur ces souris démontrent que seul le traitement NAC/GL réduit significativement la mortalité, quel que soit le schéma d'administration.

En conclusion, les résultats obtenus dans cette étude, bien que préliminaires, suggèrent une nouvelle option thérapeutique potentielle.

CONCLUSION

Tout au long de ce travail doctoral, nous avons eu l'occasion d'explorer le rôle de la protéine HMGB1 dans les lésions hépatiques induites par le paracétamol. Nous avons découvert un nouveau mécanisme par lequel HMGB1 pourrait contribuer à l'amplification et à la propagation du processus hépatotoxique.

Les expériences réalisées sur les cellules HepaRG confirment d'une part nos résultats *in vivo*, et d'autre part, nous permettent de démontrer l'action toxique directe de la protéine HMGB1 sur les hépatocytes. Ces résultats améliorent la compréhension des mécanismes sous-jacents et nos résultats démontrent que la protéine HMGB1 est impliquée, via l'axe TLR4/TRIF/RIPK3, dans la mort des hépatocytes. De plus, ils suggèrent que le mécanisme de mort impliqué pourrait être la nécroptose.

Nos expériences, réalisées *in vitro* et *in vivo*, ayant démontré l'effet délétère de HMGB1, nous avons exploré l'efficacité potentielle de l'administration d'une combinaison de N-acétylcystéine et de glycyrrhizine dans notre modèle murin de lésions hépatiques induites par le paracétamol. Nos résultats, bien que préliminaires, démontrent l'efficacité de cette combinaison à la fois sur la nécrose hépatique et sur la survie des souris.

Conflits d'intérêt : néant.

BIBLIOGRAPHIE

- Garcia-Roman R, Francés R. Acetaminophen-induced liver damage in hepatic steatosis. *Clin Pharmacol Ther.* 2020;107(5):1068-81.
- Larson AM, Polson J, Fontana RJ, et al. Acetaminophen-induced acute liver failure: results of a United States multicenter, prospective study. *Hepatology.* 2005;42(6):1364-72.
- Blieden M, Paramore LC, Shah D, Ben-Joseph R. A perspective on the epidemiology of acetaminophen exposure and toxicity in the United States. *Expert Rev Clin Pharmacol.* 2014;7(3):341-8.
- Yoon E, Babar A, Choudhary M, Kutner M, Prysopoulos N. Acetaminophen-induced hepatotoxicity: A comprehensive update. *J Clin Transl Hepatol.* 2016;4(2):131-42.
- Bernal W, Hyyrylainen A, Gera A, Audimoolam VK, McPhail MJ, Auzinger G *et al.* Lessons from look-back in acute liver failure? A single centre experience of 3300 patients. *J Hepatol.* 2013;59(1):74-80.
- Villa A, Crochet A, Guyodo G. Les intoxications signalées aux centres antipoison Français en 2006. *Revue du Prat.* 2008;58(8) :825-31.
- Dahlin DC, Miwa GT, Lu AY N. N-acetyl-p-benzoquinone imine: a cytochrome P-450-mediated oxidation product of acetaminophen. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1984;81:1327-31.
- Hinson J, Roberts DJL. Mechanisms of acetaminophen-induced liver necrosis. *Handb Exp Pharmacol.* 2010;196:369-405.
- Rumack BH. Acetaminophen overdose. 662 cases with evaluation of oral acetylcysteine treatment. *Arch Intern Med.* 1981;141(3):380-5.
- Smilkstein MJ, Knapp GL, Kulig KW, Rumack BH. Efficacy of Oral N-Acetylcysteine in the Treatment of Acetaminophen Overdose. *N Engl J Med.* 1988;319(24):1557-62.
- Harrison PM, Keays R, Bray GP, Alexander GJM, Williams R. Improved outcome of paracetamol-induced fulminant hepatic failure by late administration of acetylcysteine. *Lancet.* 1990;335(8705):1572-3.
- Saito C, Zwingmann C, Jaeschke H. Novel mechanisms of protection against acetaminophen hepatotoxicity in mice by glutathione and N-acetylcysteine. *Hepatology.* 2010;51(1):246-54.
- Hairin T, Marzilawati AR, Didi EMH, Mahadeva S, Lee YK, Rahman *et al.* Quantitative LC/MS/MS analysis of acetaminophen-cysteine adducts (APAP-CYS) and its application in acetaminophen overdose patients. *Anal Methods.* 2013;5(8):1955-64.
- Jollow DJ, Mitchell JR, Potter WZ, Davis DC, Gillette JR, Brodie BB. Acetaminophen-induced hepatic necrosis. II. Role of covalent binding *in vivo*. *J Pharmacol Exp Ther.* 1973;187(1):195-202.
- McGill MR, Lebofsky M, Norris HR, Slawson MH, Bajt ML, Xie Y *et al.* Plasma and liver acetaminophen-protein adduct levels in mice after acetaminophen treatment: Dose-response, mechanisms, and clinical implications. *Toxicol Appl Pharmacol.* 2013;269(3):240-9.
- Heard KJ, Green JL, James LP, Judge BS, Zolot L, Rhyee S *et al.* Acetaminophen-cysteine adducts during therapeutic dosing and following overdose. *BMC Gastroenterol.* 2011;11(1):20.

17. Cohen SD, Khairallah EA. Selective protein arylation and acetaminophen-induced hepatotoxicity. *Drug Metab Rev.* 1997;29:59-77.
18. Cohen SD, Pumford NR, Khairallah EA, Boekelheide K, Pohl LR, Amouzadeh HR *et al.* Selective protein covalent binding and target organ toxicity. *Toxicol Appl Pharmacol.* 1997;143:1-12.
19. Ramachandran A, Jaeschke H. Mechanisms of acetaminophen hepatotoxicity and their translation to the human pathophysiology. *J Clin Transl Res.* 2017;3:157-69.
20. Schaefer L. Complexity of Danger: The Diverse Nature of Damage associated Molecular Patterns. *J Biol Chem.* 2014;289(51):35237-45.
21. Kubes P, Mehal WZ. Sterile inflammation in the liver. *Gastroenterology.* 2012;143(5):1158-72.
22. Gong T, Liu L, Jiang W, Zhou R. DAMP-sensing receptors in sterile inflammation and inflammatory diseases. *Nat Rev Immunol.* 2020;20(2):95-112.
23. Martin-Murphy BV, Holt MP JC. The role of damage associated molecular pattern molecules in acetaminophen-induced liver injury in mice. *Toxicol Lett.* 2010;192(3):387-94.
24. Woolbright BL, Jaeschke H. Role of the inflammasome in acetaminophen-induced liver injury and acute liver failure. *J Hepatol.* 2017;66(4):836-48.
25. Lotze MT, Tracey KJ. High-mobility group box 1 protein (HMGB1): Nuclear weapon in the immune arsenal. *Nat Rev Immunol.* 2005;5(4):331-42.
26. Stott K, Tang GSF, Lee K-B, Thomas JO. Structure of a complex of tandem HMGB boxes and DNA. *J Mol Biol.* 2006;360(1):90-104.
27. Scaffidi P, Misteli T, Bianchi ME. Release of chromatin protein HMGB1 by necrotic cells triggers inflammation. *Nature.* 2002;418(6894):191-5.
28. Wang H, Bloom O, Zhang M, Vishnubhakat JM, Ombrellino M, Che J *et al.* HMGB-1 as a Late Mediator of Endotoxin Lethality in Mice. *Science.* 1999;285(5425):248-51.
29. Evankovich J, Cho SW, Zhang R, Cardinal J, Dhupar R, Zhang L *et al.* High mobility group box 1 release from hepatocytes during ischemia and reperfusion injury is mediated by decreased histone deacetylase activity. *J Biol Chem.* 2010;285(51):39888-97.
30. Ulloa L, Messmer D. High-mobility group box 1 (HMGB1) protein : friend and foe. *Cytokine Growth Factor Rev.* 2006;17(3):189-201.
31. Gardella S, Andrei C, Ferrera D, Lotti LV, Torrisi MR, Bianchi ME *et al.* The nuclear protein HMGB1 is secreted by monocytes via a non-classical, vesicle-mediated secretory pathway. *EMBO Rep.* 2002;3(10):995-1001.
32. Lee H, Shin N, Song M, Kang UB, Yeom J, Lee C *et al.* Analysis of nuclear high mobility group box 1 (HMGB1)-binding proteins in colon cancer cells: Clustering with proteins involved in secretion and extranuclear function. *J Proteome Res.* 2010;9(9):4661-70.
33. James LP, Letzig L, Simpson PM, Capparelli E, Roberts DW, Hinson JA *et al.* Pharmacokinetics of acetaminophen-protein adducts in adults with acetaminophen overdose and acute liver failure. *Drug Metab Dispos.* 2009;37(8):1779-84.
34. Cook SF, King AD, Chang Y, Murray GJ, Norris HR, Dart RC *et al.* Quantification of a biomarker of acetaminophen protein adducts in human serum by high-performance liquid chromatography-electrospray ionization-tandem mass spectrometry: Clinical and animal model applications. *J Chromatogr B Anal Technol Biomed Life Sci.* 2015;985:131-41.
35. Wang X, Sun R, Wei H, Tian Z. High-mobility group box 1 (HMGB1)-toll-like receptor (TLR)4-interleukin (IL)-23-IL-17A axis in drug-induced damage-associated lethal hepatitis: Interaction of $\gamma\delta$ T cells with macrophages. *Hepatology.* 2013;57(1):373-84.
36. Scaffidi P, Misteli T BM. Release of chromatin protein HMGB1 by necrotic cells triggers inflammation. *Nature.* 2002;418(6894):191-5.
37. Wang H, Li W, Goldstein R, Tracey KJ SA. HMGB1 as a potential therapeutic target. *Novartis Found Symp.* 2007;280:73-85.
38. Sims GP, Rowe DC, Rietdijk ST, Herbst R, Coyle AJ. HMGB1 and RAGE in inflammation and cancer. *Annu Rev Immunol.* 2010;28:367-88.
39. Liliensiek B, Weigand MA, Bierhaus A, Nicklas W, Kasper M, Hofer S *et al.* Receptor for advanced glycation end products (RAGE) regulates sepsis but not the adaptive immune response. *J Clin Invest.* 2004;113(11):1641-50.
40. Ullah MA, Loh Z, Gan WJ, Zhang V, Yang H, Li JH *et al.* Receptor for advanced glycation end products and its ligand high-mobility group box-1 mediate allergic airway sensitization and airway inflammation. *J Allergy Clin Immunol.* 2014;134(2):440-50.
41. Huebener P, Pradere JP, Hernandez C, Gwak GY, Caviglia JM, Mu X *et al.* The HMGB1/RAGE axis triggers neutrophil-mediated injury amplification following necrosis. *J Clin Invest.* 2019;129(4):1802.
42. Basta G, Turco S Del, Navarra T, Lee WM. Circulating levels of soluble RAGE and RAGE-ligands in patients with acute liver failure. *Liver Transpl.* 2015;21(6):847-54.
43. Minsart C, Liefferinckx C, Lemmers A, Dressen C, Quertinmont E, Leclercq I *et al.* New insights in acetaminophen toxicity: HMGB1 contributes by itself to amplify hepatocyte necrosis in vitro through the TLR4-TRIF-RIPK3 axis. *Sci Rep.* 2020;10(1):1-15.
44. Green J, Heard K, Reynolds K, Albert D. Oral and Intravenous Acetylcysteine for Treatment of Acetaminophen Toxicity: A Systematic Review and Meta-analysis. *West J Emerg Med.* 2013;14(3):218-26.
45. Kerr F, Dawson A, Whyte IM, Buckley N, Murray L, Graudins A *et al.* The Australasian clinical toxicology investigators collaboration randomized trial of different loading infusion rates of N-acetylcysteine. *Ann Emerg Med.* 2005;45(4):402-8.
46. Heard KJ. Acetylcysteine for Acetaminophen Poisoning. *N Engl J Med.* 2008;359(3):285-92.
47. Dawson AH, Henry DA, McEwen J. Adverse reactions to N-acetylcysteine during treatment for paracetamol poisoning. *Med J Aust.* 1989;150(6):329-31.
48. Gum S II, Cho MK. Recent Updates on Acetaminophen Hepatotoxicity: The Role of Nrf2 in Hepatoprotection. *Toxicol Res.* 2013;29(3):165-72.
49. Rumack BH, Matthew H. Acetaminophen poisoning and toxicity. *B H Rumack, H Matthew. Pediatrics.* 1975;55(6):871-6.
50. Minsart C, Rorive S, Lemmers A, Quertinmont E, Gustot T. N-acetylcysteine and glycyrrhizin combination: Benefit outcome in a murine model of acetaminophen-induced liver failure. *World J Hepatol.* 2020; 12(9): 596-618.

Travail reçu le 23 décembre 2021 ; accepté dans sa version définitive le 14 janvier 2022.

CORRESPONDANCE :

C. MINSART
Hôpital Erasme
Laboratoire de gastro-entérologie expérimentale (ULB)
Route de Lennik, 808 - 1070 Bruxelles
E-mail : charlotte.minsart@erasme.ulb.ac.be