

Received: 24.11.2018
Accepted: 14.05.2019
Published: 05.09.2019

Mechanizm włóknienia wątroby – rola komórek gwiaździstych, stresu oksydacyjnego i nitrozacyjnego

Liver fibrosis mechanisms: The role of stellate cells, oxidative and nitrosative stress

Grażyna Czechowska¹, Krzysztof Celiński¹, Grażyna Wójcicka²

¹ Katedra i Klinika Gastroenterologii z Pracownią Endoskopową, Uniwersytet Medyczny, Lublin, Polska

² Katedra i Zakład Patofizjologii, Uniwersytet Medyczny, Lublin, Polska

Streszczenie

Włóknienie wątroby jest długotrwałym i złożonym procesem patologicznym, który występuje u pacjentów z przewlekłymi chorobami tego narządu niezależnie od etiologii. Najczęściej powodują włóknienie miększu wątroby: alkoholowa choroba wątroby, wirusowe zapalenie wątroby typu B, C lub D, choroby autoimmunologiczne i niealkoholowe stłuszczenie wątroby (NAFLD), które może ulec progresji do ciężkiej, nazywanej niealkoholowym stłuszczeniowym zapaleniem wątroby (NASH). Do innych przyczyn zalicza się choroby metaboliczne, takie jak: hemochromatoza i choroba Wilsona, choroby dróg żółciowych, hepatotoksyczne działanie leków lub infekcje pasożytnicze. Dynamika i progresja włóknienia zależy od rodzaju schorzenia i polega przede wszystkim na nadmiernym gromadzeniu składników macierzy zewnątrzkomórkowej (ECM). Postępujące włóknienie wykazując osobniczą zmienność ściśle wiąże się z zaburzeniem stabilności między syntezą a degradacją tkanki łącznej w wątrobie.

W patomechanizmie włóknienia głównym źródłem ECM są komórki gwiaździste wątroby (HSCs), ale zaangażowane są również fibroblasty układu wrotnego, komórki pochodzące ze szpiku kostnego i komórki epitelialne nabłonka dróg żółciowych. Kontrowersyjne jest natomiast uczestnictwo hepatocytów pochodzących z przekształcenia epitelialno-mezenchymalnego (EMT). HSC_s są wrażliwe na działanie różnorodnych czynników prozapalnych np.: cytokiny, stres oksydacyjny czy nitrozacyjny, co prowadzi do odmiennych patologii narządu (zapalenie, stłuszczenie, zwłóknienie, marskość, rak wątrobowokomórkowy). Alkohol jako najczęstsza przyczyna włóknienia jest prawie w całości metabolizowany w wątrobie i dlatego narząd ten jest szczególnie narażony na jego szkodliwe bezpośrednie i pośrednie działanie. Procesy, które odpowiadają za alkoholowe uszkodzenie wątroby to nie tylko stres oksydacyjny, nitrozacyjny czy działanie cytokin prozapalnych, ale również stres redukcyjny, hipoksja hepatocytów, dysfunkcja bariery śluzówkowej jelit i wpływ mikrobioty jelitowej oraz niedokładnie jeszcze poznane działanie czynników genetycznych i immunologicznych. Mimo że w ostatnich latach dokonał się duży postęp w poznaniu mechanizmów włóknienia wątroby, to jednak w dalszym ciągu wyzwaniem jest wczesne rozpoznanie choroby i wdrożenie skutecznego leczenia, a w przyszłości znalezienie wiarygodnych biomarkerów i nowych celów terapeutycznych.

Słowa kluczowe:

reaktywne formy tlenu • reaktywne formy azotu • komórki gwiaździste • stres oksydacyjny i nitrozacyjny • włóknienie wątroby

Summary

Liver fibrosis is a chronic and complex pathological process, occurring in patients with chronic liver diseases. The most common cause of liver fibrosis is alcoholic liver disease, viral hepatitis type B, C and D, as well as autoimmune diseases, and NAFLD/NASH. Other causes include metabolic dysfunctions like hemochromatosis and Wilson's disease, biliary duct disorders, damaging effects of medicine and parasite infections. The dynamics and progress speed of fibrosis depend on the nature of the underlying mechanisms and are characterized by the accumulation of ECM elements. Progressive liver fibrosis shows individual variability connected with homeostasis disorder between synthesis and degradation of connective tissue.

In liver fibrosis the main source of ECM are hepatic stellate cells (HSC_s), although other cells are also able to produce ECM such as the following: portal fibroblasts, narrow-derived cells, biliary duct epithelial cells. Nevertheless, role of epithelial mesenchymal transitional hepatocytes (EMT) is controversial. The activity of HSC_s is stimulated by proinflammatory cytokines, oxidative and nitrosative stress, which lead to different pathologies such as inflammation, steatosis, fibrosis, cirrhosis, and liver-cell cancer. Alcohol, the main fibrotic agent, is metabolized almost entirely in the liver, so the organ is extremely sensitive to its negative intermediate and mediate influence. Factors influencing alcoholic liver failure are not only oxidative and nitrosative stress and proinflammatory cytokines activity, but also reductive stress, hepatocytes, hypoxia, mucous membranę dysfunction and intestine flora influence, as well as genetic and immunological factors. Though in the last several years there has been great advancement in our knowledge of liver fibrosis mechanisms, it remains difficult to diagnose the process in its early stages and, consequently, to apply an efficient therapy. The challenge for the future is finding useful biomarkers and new therapeutic goals.

Keywords: reactive oxygen species • reactive nitrogen species • human stellate cells • oxidative and nitrosative stress • liver fibrosis

GICID: 01.3001.0013.1974
DOI: 10.5604/01.3001.0013.1974
Word count: 3673
Tables: 2
Figures: 4
References: 60

Adres autorki: Grażyna Czechowska, Katedra i Klinika Gastroenterologii z Pracownią Endoskopową, Uniwersytet Medyczny w Lublinie, ul. Jaczewskiego 8, 20-090 Lublin; e-mail: gr.czechowska@wp.pl

Wykaz skrótów: **alfa - SMA** – alfa aktywa komórek mięśni gładkich (alfa smooth muscles actin); **ALD** – alkoholowa choroba wątroby (alcoholic liver disease); **ADH** – dehydrogenaza alkoholowa (alcohol dehydrogenases); **AP-1** – czynnik transkrypcyjny (activator protein-1); **ATP** – adenozy-5-trifosforan (adenosine-5-triphosphate); **CD14** – cząsteczka markerowa monocytów i makrofagów wiążąca kompleks LPS; acetylo CoA – acetylokoenzym A; **COLA1** – gen kolagenu alfa typu 1 (collagen1alpha1 gene); **COLA2** – gen kolagenu alfa typu 2 (collagen1); **CYP2E1** – izoforma 2E1 cytochromu P-450; **DNA** – kwas dezoksyrybonukleinowy (deoxyribonucleic acid); **ECM** – macierz zewnątrzkomórkowa (extracellular matrix); **EGF** – endotelialny czynnik wzrostu (endothelial growth factor); **EMT** – przekształcenie epithelialno-mezenchymalne (epithelial- mesenchymal transition); **ET-1** – endotelina-1 (endothelin1); **FAS** – ligand czynnika martwicy nowotworów (TNF-alfa) uczestniczący w procesie apoptozy w wątrobie; **FADH₂** – zredukowany dinukleotyd-flawino-adeninowy (reduced form of flavin adenine dinucleotide); **FGF** – czynnik wzrostu fibroblastów (fibroblast growth factor); **FMNH₂** – zredukowany mononukleotyd flawino-adeninowy (reduced form of flavin mononucleotide); **GFAP** – fibrylarne kwaśne białko glejowe obecne w HSC_s (glial fibrillary acid protein); **GSH** – glutation zredukowany (*reduced glutathione*); **GSSG** – glutation utleniony (oxidized glutathione) **HBV** – wirus zapalenia wątroby typu B (*hepatitis B virus*); **HCV** – wirus zapalenia wątroby typu C (*hepatitis C virus*); **HGF** – czynnik wzrostu hepatocytów (hepatocyte growth factor); **HNE** – 4 hydroksy-2-nonenal; **HMBG1** – białko chromatyny o dużej ruchliwości (high mobility group protein); **HSC_s** – ludzkie komórki gwiaździste (human stellate cells); **IGF** – insulinopodobny czynnik wzrostu (insulin-like growth factor); **IL-1** – in-

terleukina-1 (interleukin-1); **IL-6** – interleukina-6 (*interleukin-6*); **JNK** – kinaza N-końcowego odcinka c-Jun (c-Jun N-terminal kinase); **KBK** – komórki Browicza-Kupffera; **KGF** – czynnik wzrostu keratynocytów (keratinocyte growth factor); **LPS** – lipopolisacharyd (lipopolisaccharide); **MAPK** – kinazy białkowe aktywowane przez mitogen (*mitogen-activated protein kinases*); **MCP-1** – białko przyciągające monocyty (monocyte chemoattractant protein-1); **MDA** – aldehyd dimalonalowy (malondialdehyde); **MEOS** – mikrosomalny system utleniania etanolu (microsomal ethanol oxidizing system) **MF₅** – miofibroblasty (miofibroblasts); **MMPs** – metaloproteiny macierzy: -1, -2, -8, -13 (matrix metalloproteinase: -1, -2, -8, -13); **mtDNA** – mitochondrialny materiał genetyczny; **NAD⁺** – dinukleotyd nikotyno – amido-adeninowy (nicotinoamide adenine dinucleotide); **NADH** – zredukowany dinukleotyd nikotyno-amido-adeninowy (*reduced nicitinoamide adenine dinucleotide*); **NADPH** – fosforan dinukleotydu nikotyno-amido-adeninowego (nicotinoamide adenine dinucleotide phosphate); **NAFLD** – niealkoholowa stłuszczeniowa choroba wątroby (non-alcoholic fatty liver disease); **NASH** – niealkoholowe stłuszczeniowe zapalenie wątroby (non-alcoholic steatohepatitis), **NF-kappa B** – jądrowy czynnik transkrypcyjny (nuclear factor kappa B); **NOS2** – syntaza tlenu azotu (*nitric oxide synthase*); **NO** – tlenek azotu (nitric oxide); **Nrf2** – transkrypcyjny czynnik jądrowy 2 (nuclear factor 2); **PAF** – czynnik aktywujący płytki (platelet-activating factor); **PDGF** – płytkopochodny czynnik wzrostu (platelet-derived growth factor); **PTP** – megakanal mitochondrialny obecny w błonie (permeability transition pore); **RNS** – reaktywne formy azotu (reactive nitrogen species); **ROS** – reaktywne formy tlenu (reactive oxide species), **RONs** – reaktywne formy tlenu i azotu (reactive oxide and nitrogen species); **SOD** – dysmutaza ponadtlenkowa (superoxide dismutase), **TAG** – triacyloglicerole; **TGF-beta1** – transformujący czynnik wzrostu (transforming growth factor); **TIMP₅** – tkankowe inhibitory metaloproteinaz (tissue inhibitors of metalloproteinases); **TLR-4** – receptor Toll-like-4 (Toll-like receptors-4); **TRAIL** – ligand czynnika martwicy nowotworu indukujący apoptozę (tumor necrosis inducing ligand); **VEGF** – czynnik wzrostu śródbłonna naczyńowego (vascular endothelial growth factor); **viral hepatitis type B (HBV) or C (HCV)** – wirusowe zapalenie wątroby typu B lub C.

WPROWADZENIE

Włóknienie wątroby jest dynamicznym procesem polegającym na nadmiernym gromadzeniu ECM, w wyniku którego dochodzi do zaburzenia równowagi między syntezą (fibrogenezą) a degradacją (fibrolizą) składników tkanki łącznej w wątrobie. Zachwianie tej homeostazy jest odpowiedzią na zazwyczaj długotrwałe działanie uszkodzające różnych czynników etiologicznych. Skutki ich wpływu zależą od stopnia nasilenia i czasu trwania uszkodzenia [1, 5, 7, 50]. Proces może być uznany za korzystny ponieważ zmniejsza obszary zniszczeń i izoluje tkankę zdrową od uszkodzonej, ale prowadzi do masywnej przebudowy mięszu wątroby i pojawienia się zmian patologicznych.

Krótkotrwałe działanie czynników uszkodzających występujących np. podczas ostrego wirusowego zapalenia wątroby uruchamia mechanizmy naprawcze, które zapobiegają trwałemu uszkodzeniu wątroby. Natomiast w przewlekłym wirusowym zapaleniu wątroby typu B, C, D w NAFLD/NASH, w chorobie alkoholowej, metabolicznej, autoimmunologicznej czy polekowym uszkodzeniu wątroby następstwem długotrwałego oddziaływania czynnika uszkodzającego jest postępujące jej włóknienie [30, 42, 45]. Należy zaznaczyć, że wątroba jako jeden z niewielu narządów podlega samoistnej regeneracji pod wpływem działania czynników uszkodzających, takich jak: niedokrwienie, wstrząs, stan zapalny czy działanie substancji toksycznych. Proces przebiega proporcjonalnie do nasilenia stopnia degradacji wątroby przy uwzględnieniu możliwości regeneracyjnych tkanki.

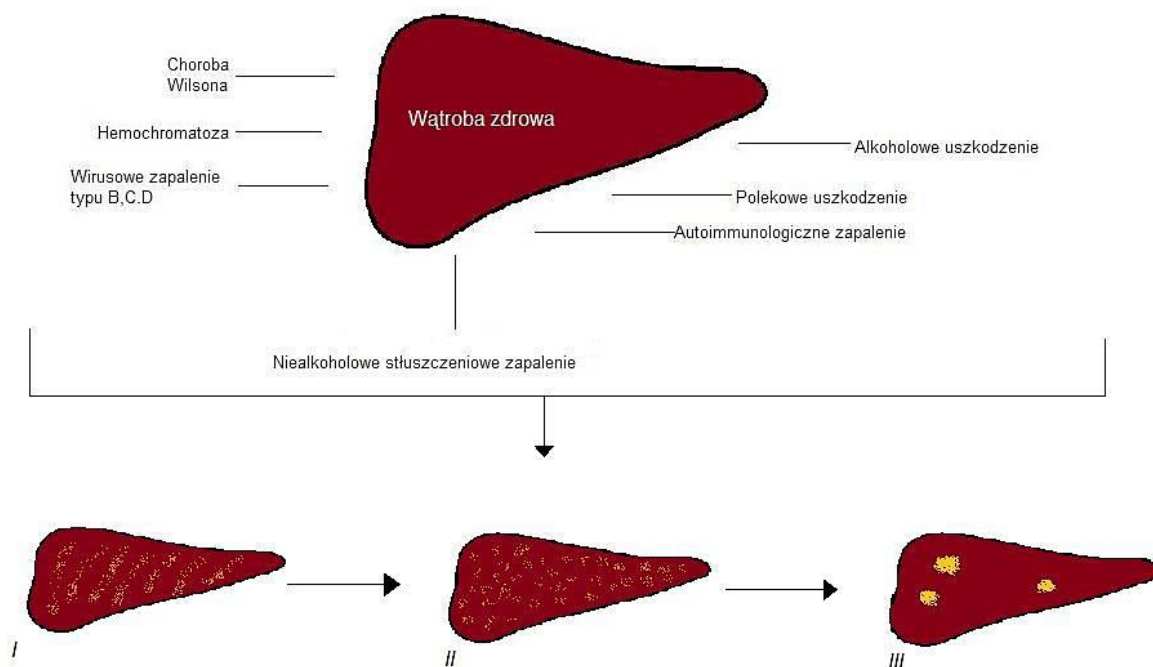
Po przekroczeniu potencjału regeneracyjnego narządu rozpoczyna się trwałe uszkodzenie objawiające się zapaleniem, stłuszczeniem, włóknieniem, marskością lub nowotworzeniem (ryc. 1).

MECHANIZM WŁÓKNIEŃ WĄTROBY – ZMIANY W STRUKTURZE MACIERZY ZEWNĄTRZKOMÓRKOWEJ (ECM)

Włóknienie wątroby poprzedzające wystąpienie zmian marskich jest związane z zasadniczą reorganizacją struktury ECM [1, 4, 49]. Niekiedy włóknienie, a nawet zmiany marskie mogą ulec regresji po usunięciu przyczyny powodującej przewlekłe uszkodzenie narządu. Tak się dzieje w przypadku zakażeń HCV, HBV, gdy u pacjentów zastosowano skuteczne leczenie przeciwwirusowe lub u chorych z genetycznie uwarunkowaną hemochromatozą czy chorobą Wilsona, których leczono, eliminując odpowiednio nadwyżki żelaza i miedzi [11]. Podobne, korzystne wyniki uzyskano w leczeniu przeciwwirusowym w schistostomatozie lub we włóknieniu cholestatycznym, gdy zastosowano odbarczenie przewodów żółciowych. Jednak proces odwracalności włóknienia, a tym bardziej odwracalności marskości, wciąż jest nierozwiązany i dlatego budzi zainteresowanie tak wielu badaczy.

ECM jest złożoną i niejednorodną strukturą; jest zbudowana z czterech rodzajów makromolekuł:

- białek kolagenowych fibrylarnych (typ I, III, V) i niefibrylarnych (typ IV, VI),



Ryc. 1. Etapy uszkodzenia wątroby pod wpływem długotrwałe działających czynników uszkadzających: alkohol, niealkoholowe stłuszczeniowe zapalenie, wirusowe zapalenie typu B, C, D, autoimmunologiczne zapalenie, polekowe zapalenie (toksyczne działanie leków), zapalenie towarzyszące chorobom metabolicznym (hemochromatoza, choroba Wilsona) dochodzi do patologicznej przebudowy prowadzącej do zwłóknienia wątroby (I), marskości (II) i raka wątrobowokomórkowego (III)

- glikoprotein (lamininy, fibronektyny, unduliny, nidogenu [entaktyny], tenascyny, witronektyny, osteonektyny, fibrilliny, trombospondyny),
- proteoglikanów (biglikanu, dekorinu, lumikanu, agrekanu, syndekanu, perlekanu),
- glikoaminoglikanów (kwasu hialuronowego, siarczanu heparanu, chondroityny, dermatanu), które tworzą podstawę jej struktury.

Oprócz tych elementów w ECM są syntetyzowane swoiste enzymy – metaloproteinazy (MMPs) zaangażowane w procesy degradacyjne białek tkanki łącznej. Początkowo są wydzielane w postaci proenzymów (pro-MMPs), a następnie podlegają aktywacji pozakomórkowo lub wiążą się z błonami komórkowymi. Przekształcenie MMP_s do postaci aktywnej znajduje się pod stałą kontrolą tkankowych inhibitorów metaloproteinaz (TIMPs). Czynnikiem warunkującym utrzymanie homeostazy ECM jest równowaga między MMPs a TIMPs. Nieznaczny wzrost syntezy ECM jest kontrolowany przez MMP_s (MMP-1, -2, -8, -13), natomiast wzmoczone wytwarzanie tkanki łącznej, a co za tym idzie postępujące włóknienie wiąże się z wyraźnym wzrostem wytwarzania TIMP_s (TIMP-1, TIMP-2) [19].

ECM jest skomplikowaną, wielkocząsteczkową siecią wielu białek tworzącą rusztowanie dla komórek wątroby. W zdrowej wątrobie skład i przestrzenne ułożenie struktury ECM zapewnia właściwą wymianę substancji między hepatocytami a krwią. Interakcja

składników ECM i komórek wątroby odbywa się ze współdziałaniem swoistych receptorów komórkowych, wśród których główne znaczenie mają integryny – transmembranowe heterodimery, ich domeny wiążą macierz zewnątrzkomórkową. Dzięki temu dokonuje się bezpośrednia komunikacja między składnikami ECM a hepatocytami [14, 15, 27, 46, 55].

W procesie postępującego włóknienia następuje zmiana liczby i składu elementów ECM. Całkowita zawartość kolagenowych i niekolagenowych składników ECM rośnie prawie dziesięciokrotnie. W początkowej fazie włóknienia zmiany strukturalne macierzy dokonują się przez wzrost stężenia glikoprotein: fibronektyny i tenascyny, które łącznie z fibryną tworzą zmodyfikowany pierwotny szkielet macierzy. Nowo powstała struktura (neomatrix) ma silne właściwości chemotaktyczno-stymulacyjne w odniesieniu do HSC_s i komórek zapalnych. Wraz z rozwojem choroby kolagen typu IV i mikrofibrylarny kolagen typu VI ustępują miejsca włóknistym makrocząsteczkom kolagenu typu I i III, który gromadząc się w przestrzeniach międzykomórkowych w obrębie sinusoid, hamuje przepływ krwi. Wytworzone pasma kolagenu powodują tzw. kapilaryzację zatok naczyń, czyli procesu polegającego na zmniejszeniu liczby i wielkości porów między komórkami śródbłonna oraz na pojawieniu się błony podstawnej w ścianie naczyń, zaburzając wymianę między krwią a hepatocytami. Z upływem czasu włóknienie rozprzestrzenia się do obszarów wrotnych, dochodzi do martwicy niedokrwiennej hepatocytów, powstaje nadciśnienie wrotne, pojawiają się

wewnątrzwątrobowe przetoki naczyniowe i krążenie oboczne. Tkanka łączna ulega wyraźnemu zagęszczeniu z wytworzeniem mostków centralno-wrotnych i wrotno-wrotnych, tym samym pojawiają się cechy znamienne dla włóknienia mostkującego.

Postępujące włóknienie z dominującą syntezą TIMP₅ zmienia architekturę wątroby na tyle, że następuje przebudowa jej zrębu i układu naczyniowego. Dokonuje się fragmentacja mięszu, pojawiają się guzki regeneracyjne oddzielone przestrzeniami łącznotkankowymi czyli elementy charakteryzujące zmiany marskie [29, 42, 56].

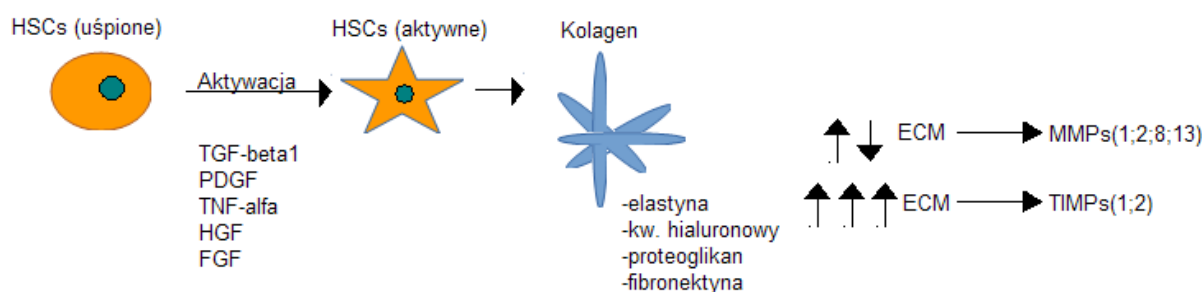
Rola wątrobowych komórek gwiaździstych (HSCS) w procesie włóknienia

Badania przeprowadzone w ostatnich latach potwierdziły rolę i znaczenie HSC₅ jako komórek bezpośrednio odpowiedzialnych za wytwarzanie ECM i rozwój procesu patologicznego w zwłókniałej wątrobie [2, 24, 58]. HSC₅ nazywane komórkami Ito, pericytami lub lipocytami, są umiejscowione w przestrzeniach Dissego. Po raz pierwszy zostały opisane w 1870 r. przez Bolla i von Kuppera i na prawie 80 lat zostały całkowicie zapomniane. Dopiero w 1952 r. japoński histolog, Toshio Ito, opisał ich cechy morfologiczne.

W zdrowej wątrobie HSC₅ stanowią 13–15% jej masy i wykazują fenotyp spoczynkowy o nieznacznym potencjale podziałowym. HSC₅ podobne są do komórek nerwowych zarówno z budowy, zawierają bowiem wypustki dendrytyczne, jak również ze specyfiki działania, ponieważ wykazują ekspresję markerów charakterystycznych dla komórek nerwowych, takich jak filamenty fibrylarne kwaśnych białek glejowych (GFAP) oraz synaptofizyny – glikoproteiny transbłonowej odpowiedzialnej za uwalnianie neuroprzeźkaźników w synapsach. HSC₅ są niejednorodną grupą perisinusoidalnych komórek usytuowanych w przestrzeni podródbłonkowej między hepatocytami a sinusoidalnymi komórkami śródbłonka. Różnice między nimi dotyczą odmian cytoszkieletu, zawartości witaminy A i zdolności do aktywacji [16, 30, 47, 58, 59].

Pierwszym elementem procesu włóknienia jest naciek zapalny zainicjowany przez długotrwanie działający na tkankę wątroby czynnik uszkodzający. Aktywacja komórek nacieku zapalnego (limfocytów, KBK, płytek krwi) powoduje uwolnienie dużej ilości cytokin w tym interleukin, czynników wzrostu i chemokin, takich jak: PDGF, TGF-beta1, VEGF, ET-1, FGF, PAF, MCP-1, IGF, IL-6, KGF, HGF oraz leptyn (ryc. 2). Z tej grupy najsilniej działa aktywizująco na HSC₅ PDGF i TGF-beta-1. Czynniki te odpowiadają za transformację HSC₅ do postaci aktywnych o fenotypie miofibroblastów. Pod wpływem ich działania komórki modyfikują się, czyli zwiększają tempo podziałów, zanikają obecne w nich krople witaminy A, nabywają ekspresji alfa-SMA, dzięki czemu transformujące HSC₅ uzyskują możliwość ruchu oraz migrują przyciągane chemotaktycznie przez komórki wydzielające PDGF i MCP-1. W postępującym procesie zmian HSC₅ tracą typowy dla siebie kształt gwiazdy, proliferują, stają się ruchliwe, profibrogenne, kurczliwe i wykazują nadmiar szorstkiego retikulum endoplazmatycznego. Ponadto, przez aktywację genów COL1A, COL1A2, syntetyzują kolagen typu I, którego gromadzenie jest uznane za bezpośrednią przyczynę włóknienia tkanki wątrobowej. HSC₅ wykazując również zdolność ekspresji receptorów TLR-4 pośredniczą w odpowiedzi układu immunologicznego na infekcję wątroby [25, 26, 54].

TLR4 to klasa białek, które odgrywają rolę w odporności wrodzonej. Działanie ich polega na rozpoznawaniu wzorów cząsteczek związanych z patogenem i na aktywacji immunologicznej odpowiedzi komórkowej. Ekspresja TLR4 jest ściśle skorelowana z postępowaniem włóknienia, a zablokowanie receptorów TLR4 stwarza nadzieję na zahamowanie postępu włóknienia [20, 35]. Należy też wspomnieć o leptynie przedstawicielce adipokin, którą zalicza się do hormonów cytokinopodobnych o właściwościach prozapalnych. Stwierdzono, że w przewlekłych chorobach wątroby (ALD, NAFLD/NASH, HBV, HCV) wzrasta jej stężenie i nasila się ekspresja receptorów leptynowych, które należą do rodziny receptorów cytokin klasy I [21].



Ryc. 2. Aktywacja komórek gwiaździstych. W wyniku uszkodzenia wątroby HSCS ulegają aktywacji i zwiększają tempo podziałów komórkowych. Pod wpływem działania wydzielanych przez uszkodzone hepatocyty czynników prozapalnych i profibrogennych, takich jak: alfa SMA, TIMP-1, RONS, TGF-beta1, PDGF, TNF-alfa, HGF, FGF dochodzi do transformacji HSCS i powstania komórek o typie miofibroblastów, które syntetyzują kolagen typu I i pozostałe składniki ECM (elastyna, kwas hialuronowy, proteoglikan, fibronektyna i in.), podczas gdy fizjologiczny wzrost ECM jest kontrolowany przez MMPs (-1; -2; -8; -13) postępujące włóknienie charakteryzuje się nasileniem syntezy TIMPs (-1; -2)

Tabela 1. Przykłady ROS i RONS

Nazwa polska	Nazwa angielska	Wzór
ROS		
rodnik wodoronadtlenkowy	hydroperoxyl radical	HO ₂ ·
anionorodnik nadadtlenkowy	superoxide radical	O ₂ ⁻ ·
tlen singletowy	singlet oxygen	¹ O ₂
ozon ¹	ozone	O ₃
nadtlenek wodoru ¹	hydrogen peroxide	H ₂ O ₂
rodnik hydroksylowy	hydroxycal radical	·OH
rodnik alkoksylowy	alkoxy radical	RO·
rodnik nadadtlenkowy	peroxy radical	ROO·
RNS		
tlenek azotu	nitric oxide	NO
ditlenek azotu	nitric dioxide	NO ₂
nadtlenoazotyn	peroxynitrite	ONOO·
anion nitrozyłowy	nitroxyl anion	NO ⁻

¹ – cząstki, które nie są rodnikami.

Aktywacja HSC_s zachodzi w dwóch etapach: pierwszy – inicjacja jest indukowana przez czynniki parakryne pochodzące z hepatocytów, płytek krwi, komórek endotelialnych zatok i KBK. Każda z wymienionych komórek zwiększa wrażliwość HSC_s na działanie poszczególnych czynników oraz wpływa na proces inicjacji w swoisty sposób. Uszkodzone hepatocyty podlegają apoptozie, która stymuluje fazę inicjacji aktywowanych HSC_s poprzez receptorowe białko Fas (receptor śmierci) lub przez ligand indukujący apoptozę (TRAIL). Płytki krwi wydzielają jeden z najsilniejszych mitogenów – PDGF, który nasila proliferację i chemotaksję HSC_s. PDGF występuje w trzech izoformach: AA, BB, AB, z których główne działanie stymulacyjne na HSC_s wykazują izoformy BB i AB. Płytki krwi wydzielają czynnik EGF i TGF-beta1, które stymulują wytwarzanie ECM przez wzrost stężenia kolagenu i glikozaaminoglikanów. Natomiast komórki endotelium przez konwersję TGF-beta1 do postaci aktywnej oraz przez nasiloną syntezę fibronektyny wpływają na wczesną aktywację HSC_s. Bardzo spektakularne aktywizujące działanie wykazują KBK, uwalniając TGF-beta1 oraz wolne rodniki tlenowe (ROS) i azotowe (RNS).

Czynniki działające na HSC_s w pierwszym, przedzapalnym etapie torują drogę dla przebiegu drugiego etapu, tj. ciągłej aktywacji. Proces ten polega na wzajemnej, kaskadowej stymulacji czynników pobudzających, działających proliferacyjnie, chemotaktycznie i profibrogenie [17, 23, 36, 37].

Omawiając proces aktywacji HSC_s, należy zwrócić uwagę na bardzo istotną i wspomnianą już grupą aktywatorów HSC_s jakimi są ROS i RNS, często określane łącznie jako RONS [52] (tabela 1). Najczęściej są to wolne rodniki, czyli molekuly zdolne do niezależnej egzystencji, które zawierają w swojej strukturze atom tlenu lub azotu z niesparowanym elektronem umieszczonym na orbicie walencyjnej. Jednak nie wszystkie RONS są wolnymi rodnikami, do tej grupy zaliczają się także produkty reakcji redoks, które zachodzą w procesach metabolicznych

komórki. Wspólną cechą RONS jest ich duża reaktywność i krótki czas życia, co sprawia, że łatwo wchodzi w reakcje z białkami, lipidami i kwasami nukleinowymi, zaburzając właściwe funkcjonowanie komórek lub zmieniając ich odpowiedź na sygnały środowiskowe [31, 43].

ROS są wytwarzane w wielu reakcjach komórkowych, ale z punktu widzenia procesu włóknienia wątroby najbardziej znaczące jest ich wytwarzanie przez aktywowane HSC_s. Synteza ROS jest odpowiedzią komórek na profibrogenne działanie mediatorów: PDGF, TGF-beta1, leptyny czy angiotensyny II. Wytworzone ROS wpływają na komórki wątroby przez stymulację ekspresji genów związanych z procesem włóknienia (COLA1, COLA2, TIMP_s) oraz przez aktywizację ścieżki przekazywania sygnałów i indukowanie czynników transkrypcji, takich jak JNK i NF kappa B. Ponadto ROS modulują odpowiedź HSC_s, co przejawia się wzrostem syntezy MCP-1, chemokiny odpowiedzialnej za gromadzenie leukocytów w tkance parenchymalnej. Molekuła ta, zwiększając syntezę ROS i cytokin prozapalnych, równocześnie dynamizuje i utrzuca stan zapalny w tkance wątrobowej [43].

W procesach włóknienia komórkowego, oprócz HSCs, uczestniczą też inne komórki o równie dużym potencjale profibrogennym. Należą do nich fibroblasty wrotne, krążące fibrocyty oraz miofibroblasty wywodzące się ze szpiku kostnego. Dodatkowym źródłem miofibroblastów są komórki epitelialne nabłonka dróg żółciowych, natomiast kontrowersyjny jest udział EMT. Wedle ostatnich danych obecność EMT w fibrogeniezie jest kwestionowana z powodu sprzecznych wyników. Dowody potwierdzające występowanie EMT w procesie fibrogenyzy oparte są na badaniach immunohistochemicznych – ekspresji markerów mezenchymalnych (wimentyny, S100A4 – białka swoistego dla fibroblastów, białka szoku cieplnego 4SP47, alfa-SMA). Obecność powyższych markerów stwierdzono w komórkach mięszzowych wątroby u pacjentów z zaawansowaną marskością [38, 57, 60].

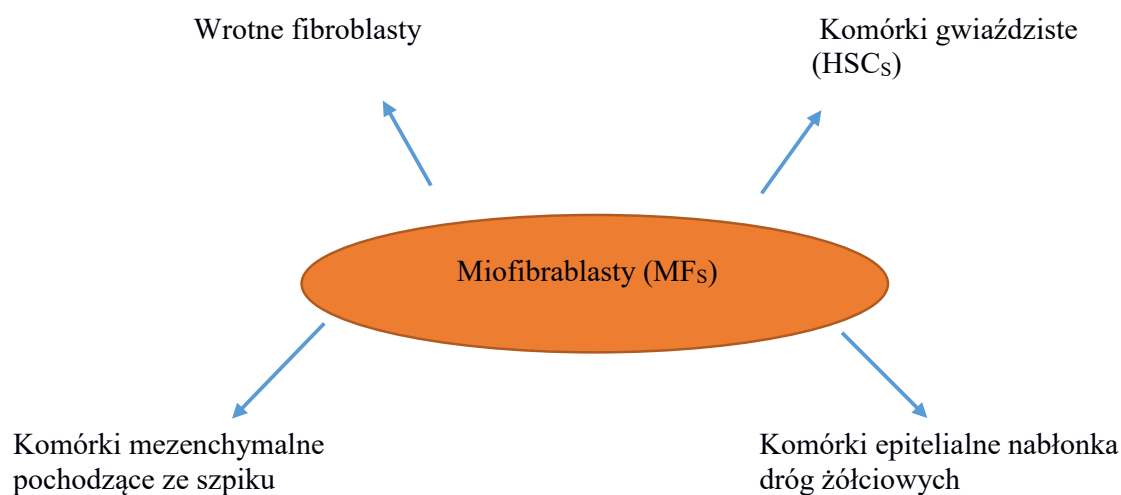
W badaniach *in vitro* stwierdzono, że komórki miększu wątroby przechodzą proces EMT wówczas, gdy pożywka hodowlana podlega stymulacji TGF-beta (prozwłóknieniowa cytokina nasilająca transformację EMT). Powyższe dane oznaczałyby, że u pacjentów z marskością jest duże stężenie TGF-beta i w związku z tym jest prawdopodobne, że obecność tej cytokiny wymusza ekspresję markerów mezenchymalnych. Ponieważ dane o roli EMT w zwłóknieniu są niejednoznaczne wymagane są dodatkowe badania potwierdzające lub odrzucające tę teorię.

Stres oksydacyjny w przewlekłych chorobach wątroby

Choroby wątroby charakteryzują się różnym obrazem klinicznym i są wywołane działaniem wielu odmiennych czynników, ale u podstaw uszkodzenia narządu leżą podobne procesy. Jest to: zapalenie, stłuszczenie, zwłóknienie i marskość wywołane m.in. przez stres oksydacyjny lub nitrozacyjny oraz związaną z nimi dysfunkcję mitochondriów i zaburzenia energetyczne komórki.

Stres oksydacyjny jest stanem zakłóconej równowagi między wytwarzaniem wolnych rodników a wydolnością enzymatycznych i nieenzymatycznych systemów antyoksydacyjnych. Zarówno wolne rodniki, jak i naturalne antyoksydanty (glutation, witamina C, E, koenzym Q, adrenalina, bilirubina, biliwerdyna, kwas moczowy, tiomocznik, glukoza) lub enzymy antyoksydacyjne (dysmutaza ponadtlenkowa, katalaza, peroksydaza glutationowa i tiolowa, reduktaza glutationowa, S-transferaza glutationowa, paraoksonaza, tioreduktaza), czy też sekwestry metali wiążące jony miedzi i żelaza (ceruloplazmina, ferrytyna, transferyna) występujące fizjologicznie

w organizmie są niezbędne do prawidłowego przebiegu procesów życiowych. Jednak wzmożenie reakcji utleniania będącej następstwem stresu oksydacyjnego (oksydacyjna modyfikacja) zakłóca prawidłowe funkcjonowanie wątroby i prowadzi do rozwoju stanów chorobowych ściśle wiążących się z jej włóknieniem. Pojęcie stresu oksydacyjnego choć od dawna określone obecnie podlega redefinicji przez włączenie roli „sygnalizacji redoks” (ryc. 4). Niewielki stres oksydacyjny, któremu odpowiada nieznaczny wzrost potencjału redukcyjnego komórek, sprawia, że wolne rodniki uczestnicząc w ścieżce „sygnalizacji redoks”, pełnią rolę fizjologicznych czynników sygnałowych, II przekaźników i regulatorów ekspresji genów komórkowych (stymulują syntezę cytokin prozapalnych, tlenu azotu, modulują odpowiedź immunologiczną, uczestniczą w starzeniu się komórek, mobilizują funkcjonowanie systemów antyoksydacyjnych). Natomiast nadmierne wytwarzanie wolnych rodników, równoznaczne z nasileniem stresu oksydacyjnego i wyraźnym wzrostem potencjału redukcyjnego, prowadzi do dysregulacji homeostazy redoks i uszkodzenia podstawowych struktur komórkowych: białek, lipidów, kwasów nukleinowych. Pod wpływem stresu oksydacyjnego dochodzi do aktywacji mechanizmów związanych z indukcją czynników transkrypcyjnych, takich jak: AP-1, Nrf2, NF-kappa B. Powodują one zmiany w transkrypcji genów i modulują funkcje komórki (pojawia się alfa-SMA, kolagen typu I, TIMP₅-1 oraz PDGF, TGF-beta1). Tak więc stres oksydacyjny nie tylko modyfikuje odpowiedź na sygnały ze środowiska zewnątrzkomórkowego, ale przede wszystkim uszkadza komórki, zwłaszcza wówczas gdy siła działania RONS nie jest równoważona przez drobnocząsteczkowe antyoksydanty czy systemy enzymatyczne [3, 9, 13, 18, 31, 43, 48].



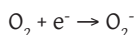
Ryc. 3. Źródła pochodzenia miofibroblastów; dodatkowym źródłem miofibroblastów oprócz HSCs są komórki mezenchymalne pochodzące ze szpiku, komórki epitelialne nabłonka dróg żółciowych, wrotne fibroblasty

Pozorny paradoks określający rolę RONS jako z jednej strony związków regulatorowych, a z drugiej jako toksycznych produktów metabolizmu komórkowego zależy bezpośrednio od ich stężenia.

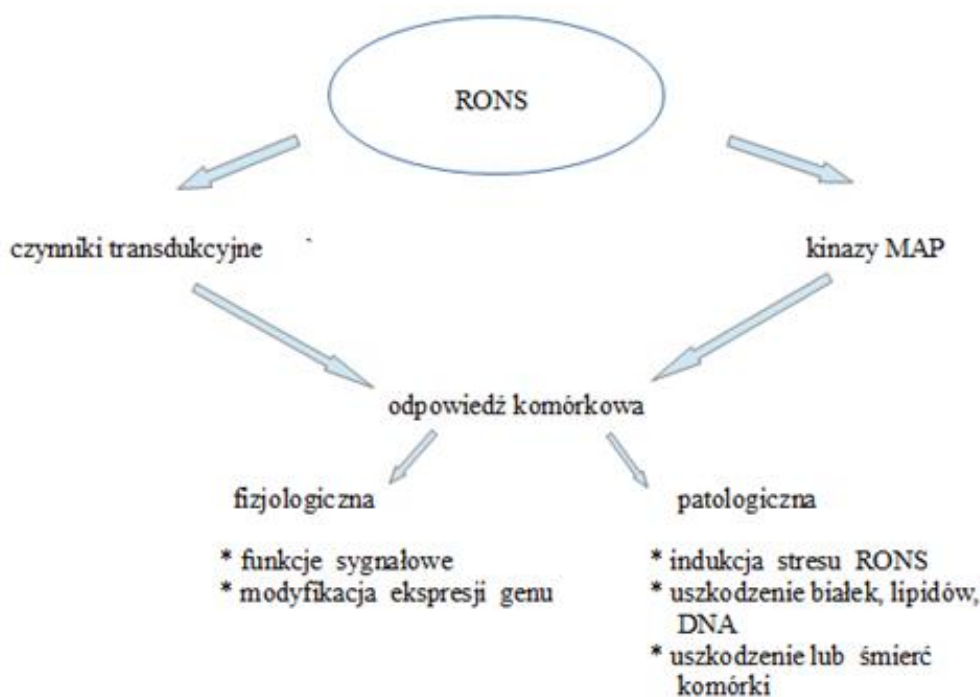
Czynnik transkrypcyjny AP-1 reaguje na zmianę warunków środowiska, dostosowując profil ekspresji genów w sposób pozwalający na adaptację komórek do zmieniającego się otoczenia. Uczestniczy w regulacji proliferacji i różnicowaniu komórek, działa jako czynnik sprzyjający apoptozie, bierze udział w indukcji ekspresji TIMP₅-1 i IL-6. Drugi czynnik – Nrf2 kontroluje ekspresję genów zawierających w swoich promotorach sekwencję ARE (element odpowiedzi antyoksydacyjnej) kodującą enzymy antyoksydacyjne, np.: S – transferaza glutationowa, reduktaza NAD(P)H i chinony. Przyczynia się do rozkładu ROS oraz stabilizuje potencjał oksydo-redukcyjny. NF- kappa B natomiast wpływa na ekspresję genów związanych z ekspresją molekuł adhezyjnych i chemokin odpowiedzialnych za migrację komórek zapalnych [39].

Głównym miejscem powstania wolnych rodników w komórce jest mitochondrialny łańcuch transportu elektronów, gdzie przebiega proces fosforylacji oksydacyjnej, w wyniku którego energia uwalniana podczas utleniania

zredukowanych nukleotydów: NADH, FADH₂ jest przekształcana w energię ATP [39]. Łańcuch ten składa się z trzech kompleksów zawierających odpowiednio: dehydrogenazę NADH, cytochrom bc₁ i oksydazę cytochromową c. Powyższe kompleksy w reakcji dwuelektronowej przenoszą parzystą liczbę elektronów na pełniący funkcję akceptora elektronów tlen. Podczas transportu elektronów wzdłuż łańcucha mitochondrialnego dochodzi do niekontrolowanego wycieku elektronów, które redukują tlen w wyniku procesu jednoelektronowego prowadząc do wytworzenia znacznych ilości ROS głównie anionorodnika ponadtlenkowego (O₂⁻).

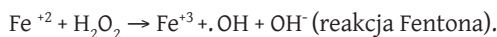
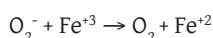
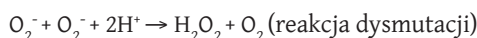


Jest to pierwotny rodnik, który w reakcji czterofazowej przyłącza kolejne elektrony i jest postacią wyjściową dla powstających wtórnie innych ROS. W procesie spontanicznej dysmutacji w reakcji katalizowanej przez dysmutazę ponadtlenkową (SOD) łatwo przekształca się do nadtlenku wodoru (H₂O₂) lub łączy się z jonami żelaza redukując Fe⁺³ do Fe⁺². Utworzone wolne jony Fe⁺² uczestniczą w reakcji Fentona, która prowadzi do powstania rodnika hydroksylowego (OH⁻) jednej z najbardziej toksycznych cząstek rodnikowych, która może utleniać większość biologicznych związków organizmu.



Ryc. 4. Mechanizm regulujący stężenie RONS; stężenie RONS jest precyzyjnie regulowane przez sprawnie działający system antyoksydacyjny. RONS jako cząstki sygnałowe przez uruchomienie czynników transkrypcyjnych i kinaz MAP wywołają fizjologiczną odpowiedź komórkową, w której funkcje sygnałowe i modyfikacja ekspresji genu nie zaburza homeostazy układu RONS/system antyoksydacyjny. Natomiast pod wpływem przewlekłego działania czynników uszkadzających następuje zaburzenie systemu antyoksydacyjnego i RONS wywołają patologiczną odpowiedź komórkową. Dochodzi wówczas do indukcji stresu spowodowanego nadmiernym działaniem RONS, co objawia się uszkodzeniem białek, lipidów, kwasów nukleinowych lub śmiercią komórki

SOD



Innym szlakiem powstania anionorodnika ponadtlenkowego są reakcje autoutleniania niskocząsteczkowych związków, takich jak adrenalina, noradrenalina, zredukowane nukleotydy flawinowe (FMN_{H₂}, FAD_{H₂}), glutation i cysteina, a także enzymatyczne reakcje katalizowane przez oksydazę ksantynową, aldehydową, acetylo-CoA oraz obecną w błonach fagocytów oksydazę NAD(P)H. Źródłem anionorodnika ponadtlenkowego jest również mikrosomalny system MEOS odpowiedzialny za utlenianie leków, ksenobiotyków, pestycydów oraz szlak metaboliczny kwasu arachidonowego, gdzie w wyniku działania lipooksygenazy i cyklooksygenazy powstają odpowiednio anionorodnik ponadtlenkowy i rodnik hydroksylowy [31, 48].

W warunkach fizjologicznych wpływ RONS na organizm jest pod stałą kontrolą antyoksydacyjnego systemu enzymatycznego i nieenzymatycznego. Natomiast w warunkach patologicznych, np. w ALD homeostaza oksydoredukcyjna zostaje zaburzona, system antyoksydacyjny jest niewydolny i przewagę zyskują negatywne skutki stresu oksydacyjnego wynikające z nadmiernego wytwarzania RONS. Dochodzi do dysfunkcji i ograniczenia działania podstawowych struktur komórkowych, tj.: białek, lipidów i kwasów nukleinowych. Wpływ na białka przejawia się głównie utlenianiem reszt aminokwasowych, powstawaniem nadtlenków białek i nadtlenków aminokwasów czego skutkiem jest fragmentacja, agregacja, rozerwanie łańcucha polipeptydowego lub tworzenie wiązań krzyżowych, tzw. sieciowanie (*cross-linking*

) zachodzące w obrębie cząsteczki albo między cząsteczkami z innych grup funkcyjnych białek. Szczególnie destrukcyjne dla komórki jest utlenianie grup tiolowych w błonach komórkowych ponieważ następuje wówczas wzrost przepuszczalności błon, co przyspiesza śmierć komórki. ROS, utleniając grupy prostetyczne enzymów, dezaktywują np.: dehydrogenazę glukozy-6-fosforanową czy dehydrogenazę glicerolo-aldehydo-fosforanową.

Następstwem rozwijającego się stresu oksydacyjnego jest peroksydacja lipidów – wieloetapowa reakcja łańcuchowa, polegająca na utlenianiu wielonienasyconych kwasów tłuszczowych. Powstałe podczas peroksydacji wtórne produkty: dialdehyd malonowy (MDA), trans-4-hydroksy-2-nonenal (4HNE) i 4-hydroksyheksenal działają mutagennie, kancerogennie, rozprzegają fosorylację oksydacyjną w mitochondriach, pobudzają apoptozę, tworzą neoantygeny lub wchodzi w interakcję z HSC_s. Nagromadzenie tych związków zmienia właściwości fizyko-chemiczne błon, a to wpływa na zaburzenie transportu jonowego, zmianę potencjału

błonowego, odpowiada za fluidyzację błon komórkowych i powoduje dezintegrację komórek. Wśród błon komórkowych najbardziej narażone na uszkodzenia są błony mitochondrialne – miejsce wytwarzania większości ROS [22, 39, 48].

W wyniku działania ROS na kwasy nukleinowe pojawiają się zmiany w strukturze zasad azotowych oraz w resztach deoksyrybozy, dochodzi do pęknięcia nici DNA, tworzenia adduktów (dipirymidynowe, adeninowe, guaninowe) i wiązań krzyżowych (między helisą DNA a białkami). Za uszkodzenia oksydacyjne DNA odpowiada przede wszystkim rodnik hydroksylowy, na którego działanie najbardziej podatne są reszty tymidyny (powstają izomery nadtlenku tymidyny) i guaniny (powstaje 8-hydroksyguanina). Na zmiany w strukturze cząsteczki szczególnie jest narażony mitochondrialny materiał genetyczny (mtDNA) ponieważ nie jest chroniony przez białka histonowe i błonę jądrową jak również nie ma sekwencji intronowej. Główną modyfikacją w jego strukturze są podstawienia pojedynczych zasad [22, 40, 56].

Znamiennym następstwem stresu oksydacyjnego jest wzrost przepuszczalności błon mitochondrialnych, co zmniejsza zasoby adenozyno-trójfosforanu (ATP) – podstawowego nośnika energii komórkowej. Stan ten objawia się m.in. hamowaniem glikolizy, zwiększonym zużyciem ATP niezbędnym do usunięcia GSSG na zewnątrz komórek, zmniejszeniem stężenia GSH, stymulacją aktywności lipooksygenazy i cyklooksygenazy oraz napływem jonów Ca⁺⁺ do komórki. Wzrost poziomu jonów wapnia sprawia, że pod ich wpływem wewnętrzna błona mitochondriów staje się bardziej przepuszczalna dla jonów wskutek czego mitochondria pęcznią, a nawet może dojść do mechanicznego rozerwania ich błony wewnętrznej. Za pęcznienie mitochondriów bezpośrednio odpowiada aktywacja nieselektywnego kanału jonowego obecnego w błonie komórkowej zwanego megakanałem lub PTP [32, 53]. Kanał jest złożony z multimerycznych białek zawieszonych w błonie plazmatycznej i w wewnętrznych przedziałach komórek. Formuje pory selektywne dla jonów, które zamykają się lub otwierają zależnie od działania swoistych bodźców. ROS może modyfikować działanie kanału przez oksydację grup sulfhydrylowych i disiarkowych obecnych w połączeniach aminokwasowych lub wpływać na ścieżki sygnalizacyjne kontrolujące transkrypcję genów. Zwiększone stężenie jonów wapnia sprzyja aktywacji zależnych od jonów endonukleaz, które odpowiadają za degradację DNA oraz kinaz białkowych modulujących proces transkrypcji. W wielu badaniach potwierdzono udział kanałów jonowych w patologicznych stanach wątroby, takich jak choroba alkoholowa czy niealkoholowe stłuszczenie wątroby [41, 44, 51].

Ze stresem oksydacyjnym ściśle łączy się stres nitrozacyjny (azotowy), którego działaniu towarzyszy wytworzenie takich RNS jak: tlenek azotu, ditlenek azotu, anion nitrozyłowy czy szczególnie toksyczny

nadtlenoazotyn. Najbardziej powszechny – tlenek azotu jest syntetyzowany z udziałem syntazy NO typu 2 (NOS2), której ekspresję wykazują makrofagi indukowane działaniem prozapalnych cytokin i endotoksyn bakteryjnych (LPS). Tlenek azotu, jako nietrwała cząsteczka o krótkim czasie działania, łatwo transformuje do innych aktywnych molekuł: anionu nitrozylowego lub kationu nitrozonowego. RNS podobnie jak ROS są cząstkami wysoce reaktywnymi, które dynamicznie interferują ze składnikami komórki np. kation nitrozonowy chętnie nitrozyluje białka i DNA, a aktywny utleniacz – nadtlenoazotyn wchodzi w reakcje z kompleksami łańcucha oddechowego (I-IV) lub reaguje z lipidami i resztami aminokwasowymi białek, prowadząc w rezultacie do nekrozy lub apoptozy komórek [6, 8, 18, 33]. Obydwie grupy aktywnych cząstek działają jak naczynia połączone. Wzrost stężenia jednej z nich zwiększa pulę odpowiednio rodników tlenowych lub azotowych [10, 12, 28].

Diagnostyka i farmakoterapia we włóknieniu wątroby

Dynamika włóknienia wątroby jest cechą indywidualną pacjenta. Jeżeli nie doszło do nieodwracalnych zmian (marskość) proces może być spowolniony lub nawet może nastąpić jego regresja i regeneracja wątroby. Dlatego z klinicznego punktu widzenia niezmiernie ważne jest wczesne rozpoznanie choroby i wdrożenie postępowania adekwatnego do przyczyny i etapu włóknienia oraz monitorowanie przebiegu leczenia. Pomocne w tym celu jest wykonanie badania histopatologicznego z pobranego biopsatu, jak również stosowanie innych, nieinwazyjnych metod obrazowych, takich jak USG, rezonans, scyntygrafia, tomografia, elastografia. Wśród wymienionych metod szczególnie zainteresowaniem cieszy się elastografia. Jest to dosyć nowa technika opierająca się na pomiarze sztywności tkanki przez określenie prędkości rozchodzenia się fali ultradźwiękowej o niskiej częstotliwości [34]. Podstawą kliniczną do opracowania metody było spostrzeżenie, że zmniejszenie elastyczności tkanki koreluje ze wzrostem zmian patologicznych. W badaniu wątroby znalazły zastosowanie trzy rodzaje elastografii: dynamiczna (urządzenie FibroScan generuje powstanie fali mechanicznej, której prędkość rozprzestrzeniania się zależy od sztywności badanej tkanki) oraz dwie metody, których działanie jest zintegrowane z aparatem USG (tzw. elastografia fali poprzecznej). W pierwszej z tych metod fale indukowane na różnych głębokościach narządu nakładają się generując falę poprzeczną, w drugiej metodzie badany obszar wątroby jest pobudzany krótkotrwałymi impulsami mechanicznymi (jest to elastografia impulsu mocy promieniowania akustycznego). Jednak w dalszym ciągu podstawowym narzędziem w diagnostyce włóknienia wątroby jest oznaczenie standardowych parametrów biochemicznych, których zaburzenie świadczy o toczącym się procesie chorobowym. Należą do nich aktywność aminotransferaz (ALT, AST),

fosfatazy alkalicznej, gamma-glutamylotranspeptydazy, białko całkowite, bilirubina, liczba płytek, układ hemostazy. Niedoskonałość oceny morfologicznej uszkodzonej wątroby oraz brak jednoznacznych narzędzi określających stan narządu i postęp leczenia sprawia, że wiele uwagi poświęca się pośrednim i bezpośrednim markerom włóknienia. Obecnie proponowane zestawy markerów pośrednich stosowane są w postaci następujących algorytmów [4]:

- test APRI (AST/liczba płytek),
- test PGA (czas protrombinowy, GGTP, apolipoproteina A1 + dodatkowo alfa2-makroglobulina),
- Fibrotest (alfa2-makroglobulina, haptoglobina, gamma-globulina, apolipoproteina A1, GGTP, bilirubina),
- Acitest (wskaźnik Fibrotestu +ALT),
- wskaźnik Fornsa (liczba płytek, wiek pacjenta, GGTP, stężenie cholesterolu).

Wśród bezpośrednich markerów włóknienia określających metabolizm ECM występują:

- związane z nadmiernym odkładaniem ECM (PICP - propeptyd prokolagenu typu I, PIIINP – propeptyd prokolagenu typu III, kolageny typu IV, laminina, kwas hialuronowy),
- związane z degradacją ECM (MMP-2, MMP-9, TIMP-1),
- cytokiny i chemokiny (TGF-alfa, TGF-beta, PDGF),
- panel diagnostyczny ELF (kwas hialuronowy, PIIINP, TIMP-1).

Obecnie w leczeniu zwłóknienia wątroby są stosowane leki o różnych punktach uchwytu i rozmaitych mechanizmach działania [30]. Niektóre z nich mają trwałe miejsce w farmakoterapii, inne wymagają potwierdzenia i dodatkowych badań klinicznych, jednak żadne z obecnie stosowanych nie dają zadowalających wyników, zwłaszcza w zaawansowanym stanie choroby.

PODSUMOWANIE

W poznaniu patomechanizmu włóknienia wątroby na przestrzeni ostatnich lat dokonał się duży postęp. W odniesieniu do niektórych typów uszkodzenia wątroby z powodzeniem są wdrażane terapie, które powodują regresję choroby i regenerację narządu. Jednak w zaawansowanych zmianach jedynym i ostatecznym rozwiązaniem jest transplantacja narządu. W dalszym ciągu wyzwaniem jest dokładne poznanie genetycznych i immunologicznych mechanizmów włóknienia i opracowanie skutecznych biomarkerów do oceny stopnia uszkodzenia i dysfunkcji wątroby, które określane we wczesnych etapach choroby ułatwiłyby różnicowanie pacjentów w zakresie typu zmian i wdrażanie odpowiedniej farmakoterapii. Działania takie pozwoliłyby na wytworzenie właściwych algorytmów diagnostycznych, a przez znalezienie nowych celów terapeutycznych dawałyby szansę na skuteczne leczenie.

Tabela 2. Kierunki działania przeciwwłóknieniowego. Przykłady leków

L. p.	Sposób działania przeciwwłóknieniowego	Przykłady leków
1	Eliminacja przyczyn uszkodzenia wątroby (HBV) (HCV)	Pegylowany interferon alfa 2a, 2b, analogi nukleozydowe (adofowir, lamiwudyna, tenofowir) Pegylowany interferon alfa 2a + rybawiryna, nowe leki: inhib. proteaz (telaprewir, boceprewir, symeprewir), inhib. NS5B (sofosbuwir)
2	Hamowanie stanu zapalnego i odpowiedzi immunologicznej	Glikokortykosteroidy, kolchicina, kolchiceina, IL-10, kwas ursodeocholowy, obeticholowy (agonista rec. FXR – ocaliva), inhib. chemokin (selonsertib)
3	Hamowanie aktywacji HSCs	Pegylowany interferon alfa, czynnik wzrostu hepatocytów (HGF), inhibitor NOX-1, sorafenib (inhibitor receptora kinazy tyrozynowej), przeciwciało monoklonalne anti-TGF- beta1 – fresolimumab (II faza badań klinicznych), ligandy receptorów PPAR-gamma (agonista rec. PPAR-gamma – rosiglitazon)
4	Przyspieszenie degradacji patologicznej ECM	Przeciwciało monoklonalne anti-TIMP1
5	Działanie antyoksydacyjne	S-adenozyno-1 metionina, S- nitrozo-N- acetylocysteina fosfatydylocholina, witamina E, sylimaryna, kwercetyna, resweratrol
6	Hamowanie syntezy kolagenu	Halofuginon, monoklonalne przeciwciało anti-LOXL2 (simtuzumab)
7	Indukowanie apoptozy	Oxymatrine (alkaloid ekstrahowany z rośliny leczniczej <i>Sophora alopecuroides</i> , kurkumina z kłącza <i>Curcuma longa</i>)
8	Terapie genowe, zastosowanie nanocząstek jako nośników do komórek docelowych	
9	Przeszczep szpiku	

PIŚMIENICTWO

- [1] Arthur M.J.: Fibrosis and altered matrix degradation. *Digestion*, 1998; 59(4): 376–80
- [2] Aydin M.M., Akçali K.C.: Liver fibrosis. *Turk. J. Gastroenterol.*, 2018; 29: 14–21
- [3] Bartosz G.: Druga twarz tlenu. Wolne rodniki w przyrodzie. Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa 2013
- [4] Baszczuk A., Kęsy L., Kopczyński Z.: Wartość badań laboratoryjnych w diagnostyce włóknienia wątroby. *Nowiny Lekarskie*, 2012; 81: 175–81
- [5] Bataller R., Brenner D.A.: Liver fibrosis. *J. Clin. Invest.*, 2005; 115(2): 209–18
- [6] Batandier C., Leverve X., Fontaine E.: Opening of the mitochondrial permeability transition pore induces reactive oxygen species production at the level of the respiratory chain complex I. *J. Biol. Chem.*, 2004; 279(17): 17197–204
- [7] Bonis P.A., Friedman S.J., Kaplan M.M.: Is liver fibrosis reversible? *N. Engl. J. Med.*, 2001; 344(6): 452–4
- [8] Cahill A., Cunningham C.C., Adachi M., Ishii H., Bailey S.M., Fromenty B., Davies A.: Effects of alcohol and oxidative stress on liver pathology: the role of the mitochondrion. *Alcohol Clin. Exp. Res.*, 2002; 26(6): 907–15
- [9] Chen C.H., Chern C.L., Lin C.C., Lu F.J., Shih M.K., Hisieh P.Y., Liu T.Z.: Involvement of reactive oxygen species but not mitochondrial permeability transition in the apoptotic induction of human SK-Hep-1 hepatoma cells by shikonin. *Planta Med.*, 2003; 69(12): 1119–24
- [10] Crosas-Molist E., Fabregat I.: Role of NADPH oxidases in the redox biology of liver fibrosis. *Redox Biol.*, 2015; 6: 106–11
- [11] Desmet V.J., Roskams T.: Cirrhosis reversal: a duel between dogma and myth. *J. Hepatol.*, 2004, 40(5): 860–7
- [12] Diesen D.L., Kuo P.C.: Nitric oxide and redox regulation in the liver: part II. Redox biology in pathologic hepatocytes and implications for intervention. *J. Surg. Res.*, 2011; 167(1): 96–112
- [13] Friedman S.L.: Liver fibrosis from bench to bedside. *J. Hepatol.*, 2003; 38(Suppl 1): S38–S53
- [14] Friedman S.L.: Mechanism of hepatic fibrogenesis. *Gastroenterology*, 2008; 134(6): 1655–69
- [15] Friedman S.L.: Molecular regulation of hepatic fibrosis, an integrated cellular response to tissue injury. *J. Biol. Chem.*, 2000; 275(4): 2247–50
- [16] Gandhi C.R.: Hepatic stellate cell activation and pro-fibrogenic signals. *J. Hepatol.*, 2017; 67(5): 1104–5
- [17] Gandhi C.R.: Oxidative stress and hepatic stellate cells. A paradoxical relationship. *Trends Cell. Moll. Biol.*, 2012; 7: 1–10
- [18] Grattagliano I., Calamita G., Cocco T., Wang D.Q., Portincasa P.: Pathogenic role of oxidative and nitrosative stress in primary biliary cirrhosis. *World J. Gastroenterol.*, 2014; 20(19): 5746–59
- [19] Gressner A.M., Weiskirchen R.: Modern pathogenetic concepts of liver fibrosis suggest stellate cells and TGF-β as major players and therapeutic targets. *J. Cell. Moll. Med.*, 2006; 10(1): 76–99
- [20] Guo J., Friedman S.L.: Toll-like receptor 4 signaling in liver injury and hepatic fibrogenesis. *Fibrogenesis Tissue Repair*, 2010; 3: 21
- [21] Haghgoo S.M., Sharafi H., Alavian S.M.: Serum cytokines, adipokines and ferritin for non-invasive assessment of liver fibrosis in chronic liver disease: a systematic review. *Clin. Chem. Lab. Med.*, 2019; 57(5): 577–610
- [22] Hayyan M., Hashim M.A., Ainashef I.M.: Superoxide ion: generation and chemical implications. *Chem. Rev.*, 2016; 116(5): 3029–85

- [23] Henderson N.C., Forbes S.J.: Hepatic fibrogenesis from within and outwith. *Toxicology*, 2008; 254(3): 130–5
- [24] Higashi T., Friedman S.L., Hoshida Y.: Hepatic stellate cells as key target in liver fibrosis. *Adv. Drug Deliv. Rev.*, 2017; 121: 27–42
- [25] Hopkins P.A., Sriskandan S.: Mammalian toll-like receptors: to immunity and beyond. *Clin. Exp. Immunol.*, 2005; 140(3): 395–407
- [26] Inagaki Y., Mamura M., Kanamaru Y., Greenwel P., Nemoto T., Takehara K., Ten Dijke P., Nakao A.: Constitutive phosphorylation and nuclear localization of Smad3 are correlated with increased collagen gene transcription in activated hepatic stellate cells. *J. Cell. Physiol.*, 2001; 187(1): 117–23
- [27] Iredale J.P., Thompson A., Henderson N.C.: Extracellular matrix degradation in liver fibrosis: Biochemistry and regulation. *Biochim. Biophys. Acta*, 2013; 1832(7): 876–83
- [28] Kanno T., Sato E.E., Muranaka S., Fujita H., Fujiwara T., Utsumi T., Inoue M., Utsumi K.: Oxidative stress underlies the mechanism for Ca²⁺-induced permeability transition of mitochondria. *Free Radic. Res.*, 2004; 38(1): 27–35
- [29] Klaas M., Kangur T., Viil J., Mäemets-Allas K., Minajeva A., Vadi K., Antsov M., Lapidus N., Järvekülg M., Jaks V.: The alterations in the extracellular matrix composition guide the repair of damaged liver tissue. *Sci. Rep.*, 2016; 6: 27398
- [30] Koyama Y., Xu J., Liu X., Brenner D.A.: New developments on the treatment of liver fibrosis. *Dig. Dis.*, 2016; 34(5): 589–96
- [31] Lintart K., Bartsch H., Seitz H.K.: The role of reactive oxygen species (ROS) and cytochrome P-450 2E1 in the generation of carcinogenic etheno-DNA adducts. *Redox Biol.*, 2014; 3: 56–62
- [32] Marnett L.J.: Oxy radicals, lipid peroxidation and DNA damage. *Toxicology*, 2002; 181–2: 219–22
- [33] Masarone M., Rosato V., Dallio M., Gravina A.G., Aglitti A., Loguerio C., Federico A., Persico M.: Role of oxidative stress in pathophysiology of nonalcoholic fatty liver disease. *Oxid. Med. Cell. Longev.*, 2018; 2018: 9547613
- [34] Milkiewicz P.: Elastografia wątroby w codziennej praktyce klinicznej. *Gastroenterol. Klin.*, 2017; 9(1): 1–6
- [35] Mohamed S.Y., Mostafa E.F., Hanafy A.S., Atia H., Metwally A., Marei A.M.: The relationship between expression of Toll-like receptor 4 in chronic hepatitis C patients and different stages of liver fibrosis. *Gastroenterol. Hepatol. Bed Bench.*, 2017; 10(4): 278–83
- [36] Moreira R.K.: Hepatic stellate cells and liver fibrosis. *Arch. Pathol. Lab. Med.*, 2007; 131(11): 1728–34
- [37] Mormone E., George J., Nieto N.: Molecular pathogenesis of hepatic fibrosis and current therapeutic approaches. *Chem. Biol. Interact.*, 2011; 193(3): 225–31
- [38] Munker S., Wu Y.L., Ding H.G., Liebe R., Weng H.L.: Can a fibrotic liver afford epithelial-mesenchymal transition? *World J. Gastroenterol.*, 2017; 23(26): 4661–8
- [39] Plewka K., Szuster-Ciesielska A., Kandefers-Szyszeń M.: Rola komórek gwiazdzistych w procesie alkoholowego włóknienia wątroby. *Postępy Hig. Med. Dośw.*, 2009; 63: 303–17
- [40] Ramirez A., Vázquez-Sánchez A.Y., Carrión-Robalino N., Camacho J.: Ion channels and oxidative stress as a potential link for the diagnosis or treatment of liver diseases. *Oxid. Med. Cell. Longev.*, 2016; 2016: 3928714
- [41] Rizzuto R., De Stefani A., Raffaello A., Mammucari C.: Mitochondria as sensors and regulators of calcium signaling. *Nat. Rev. Mol. Cell. Biol.*, 2012; 13(9): 566–78
- [42] Schuppan D., Ruehl M., Somasundaram R., Hahn E.G.: Matrix as a modulator of hepatic fibrogenesis. *Semin. Liver Dis.*, 2001; 21(3): 351–72
- [43] Sies H.: Oxidative stress: a concept in redox biology and medicine. *Redox Biol.*, 2015; 4: 180–3
- [44] Simon F., Varela D., Cabello-Verrugio C.: Oxidative stress-modulated TRPM ion channels in cell dysfunction and pathological conditions in humans. *Cell. Signal.*, 2013; 25(7): 1614–24
- [45] Spengler U., Nattermann J.: Immunopathogenesis in hepatitis C virus cirrhosis. *Clin. Sci.*, 2007; 112: 141–55
- [46] Stalmiokowitz D.K., Weissbrod A.B.: Liver fibrosis and inflammation. *Ann. Hepatol.*, 2004; 40: 860–7
- [47] Tacke F., Trautwein C.: Mechanisms of liver fibrosis resolution. *J. Hepatol.*, 2015; 63(4): 1038–39
- [48] Torok N.J.: Dysregulation of redox pathways in liver fibrosis. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.*, 2016; 311(4): G667–G674
- [49] Trautwein C., Friedman S.L., Schuppan D., Pinzani M.: Hepatic fibrosis: Concept to treatment. *J. Hepatol.*, 2015; 62(Suppl 1): S15–S24
- [50] Tsuchida T., Friedman S.L.: Mechanisms of hepatic stellate cell activation. *Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol.*, 2017; 14(7): 397–411
- [51] Tuma D.J.: Role of malondialdehyde-acetaldehyde adducts in liver injury. *Free Radic. Biol. Med.*, 2002; 32(4): 303–8
- [52] Urtasun R., Conde de la Rosa L., Nieto N.: Oxidative and nitrosative stress and fibrogenic response. *Clin. Liver Dis.*, 2008; 12(4): 769–90
- [53] Valko M., Izakovic M., Mazur M., Rhodes C.J., Telser J.: Role of oxygen radicals in DNA damage and cancer incidence. *Mol. Cell. Biochem.*, 2004; 266(1–2): 37–56
- [54] Weber S.N., Bohner A., Dapito D.H., Schwabe R.F., Lammert F.: TLR4 deficiency protects against hepatic fibrosis and diethylnitrosamine-induced precarcinogenic liver injury in fibrotic liver. *PLoS One*, 2016; 11(7): e0158819
- [55] Wynn T.A.: Cellular and molecular mechanism of fibrosis. *J. Pathol.*, 2008; 214(2): 199–210
- [56] Yoshikawa T., Naito Y.: What is oxidative stress? *JMAJ*, 2002; 45(7): 271–6
- [57] Yu K., Li Q., Shi G., Li N.: Involvement of epithelial-mesenchymal transition in liver fibrosis. *Saudi J. Gastroenterol.*, 2018; 24: 5–11
- [58] Zbodakova O., Chelupsky K., Tureckova J., Sedlacek R.: Metalloproteinases in liver fibrosis: Current insights. *Dovepress*, 2017; 2017: 25–35
- [59] Zhang C.Y., Yuan W.G., He P., Lei J.H., Wang C.X.: Liver fibrosis and hepatic stellate cells: Etiology, pathological hallmarks and therapeutic targets. *World J. Gastroenterol.*, 2016; 22(48): 10512–22
- [60] Zhao Y.L., Zhu R.T., Sun Y.L.: Epithelial-mesenchymal transition in liver fibrosis. *Biomed. Rep.*, 2016; 4(3): 269–74

Autorzy deklarują brak potencjalnych konfliktów interesów.