

PRACA REDACYJNA

Krzysztof Gutkowski^{1,2}

Podstawy etiopatogenezy procesu włóknienia wątroby

Basics of pathogenesis of liver fibrosis

¹ Z Instytutu Fizjoterapii Wydziału Medycznego Uniwersytetu Rzeszowskiego

² Z Oddziału Gastroenterologii i Hepatologii z Pododdziałem Chorób Wewnętrznych Wojewódzkiego Szpitala Specjalistycznego im. Fryderyka Chopina w Rzeszowie



Adiunkt Instytutu Fizjoterapii Wydziału Medycznego Uniwersytetu Rzeszowskiego. Kierownik Oddziału Gastroenterologii i Hepatologii z Pododdziałem Chorób Wewnętrznych Wojewódzkiego Szpitala Specjalistycznego im. Fryderyka Chopina w Rzeszowie

STRESZCZENIE

Włóknienie wątroby jest złożonym procesem biochemicznym, w którym uszkodzone obszary tkanki wątrobowej zostają otoczone przez macierz zewnątrzkomórkową z wytworzeniem tkanki bliznowatej. Proces ten rozwija się u pacjentów z przewlekłymi chorobami wątroby i jest uzależniony od rodzaju schorzenia i właściwości osobniczych. Najwcześniej ulegają uszkodzeniu obszary, w których czynnik sprawczy uzyskuje największe stężenie, szczególnie u chorych z chorobą alkoholową i wirusowymi zapaleniami wątroby. Do rozwoju włóknienia dochodzi zwykle po wielu miesiącach lub

latach działania czynnika uszkodzającego. Dokładny przedział czasowy, w którym włóknienie staje się nieodwracalne nie jest znany, jakkolwiek pojawiają się kolejne badania dowodzące, że nawet zaawansowane jego stadia mogą ulec regresji. Rozwikłanie mechanizmów molekularnych zaangażowanych w proces włóknienia posiada szereg implikacji klinicznych. Jedną z najistotniejszych jest tworzenie leków opóźniających lub odwracających ten proces. W pracy przedstawiono aktualny stan wiedzy na temat kluczowych mechanizmów leżących u podłoża procesu włóknienia wątroby.

Słowa kluczowe: Włóknienie wątroby, macierz zewnątrzkomórkowa, komórki gwiaździste, metaloproteinazy

ABSTRACT

Liver fibrosis is a complicated biochemical process in which damaged regions of the liver tissue are encapsulated by an extracellular matrix with scar formation. It develops in all patients with chronic liver injury at variable rates depending in part upon the cause of liver disease and in part upon the host factors. This process occurs earliest in regions where injury is most severe, particularly in chronic inflammatory liver diseases due to alcohol or viral infection. The development of fibrosis usually requires several months to years of ongoing injury. The exact point in which fibrosis becomes irreversible is unknown however, increasing evidence suggests that even advanced stages of fibrosis may be reversible. An understanding of the molecular mechanisms involved in fibrogenesis process has a number of clinical implications. One of the most important is development of therapeutic interventions designed to impede or reverse hepatic fibrosis. This review discusses the current mechanisms underlying liver fibrosis.

Key words: Liver fibrosis, extracellular matrix, stellate cells, metalloproteinases

Wstęp

Proces włóknienia wątroby jest swoistą odpowiedzią tego narządu na działający przewlekłe czynnik uszkodzający, i wiąże się nierozłącznie z zapaleniem toczącym się w tkance wątrobowej. Historia naturalna przewlekłych chorób wątroby przebiega przez 4 stadia różniące się aktywnością procesów zapalenia i włóknienia. Stadium pierwsze zdominowane jest przez zapalenie. W stadium drugim aktywność obu procesów ulega zrównaniu, zaś w stadium trzecim włóknienie znacznie przewyższa aktywność zapalną. Ostatnie stadium, czwarte, określane mianem marskości, charakteryzuje minimalna aktywność obu procesów. Skład nacieku zapalnego w tkance wątrobowej jest różny i uzależniony od czynnika sprawczego. Mogą go tworzyć limfocyty, plazmocyty, granulocyty, komórki Browicza-Kupffera, a nawet płytki krwi [1]. Aktywacja tych komórek skutkuje uwalnianiem dużej ilości prozapalnie działających cytokin i czynników wzrostowych. Molekuły te modyfikują skład i dynamiczny stan macierzy zewnątrzkomórkowej (*extracellular matrix, ECM*). Obszary wątroby dotknięte działaniem czynnika uszkodzającego zostają otoczone przez macierz zewnątrzkomórkową z wytworzeniem tkanki bliznowatej [2, 3]. Aktualnie nie jest znany ściśle określony przedział czasowy, w którym zaawansowanie włóknienia warunkuje jego nieodwracalny charakter. Całkowita eliminacja czynnika uszkodzającego skojarzona z odpowiednim postępowaniem terapeutycznym może w przypadkach o nieznacznym zaawansowaniu doprowadzić do regresji włóknienia [4, 5, 6]. W pracy przedstawiono aktualny stan wiedzy na temat etiopatogenezy procesu włóknienia wątroby.

Struktura macierzy zewnątrzkomórkowej i jej źródła

Pojęcie macierzy zewnątrzkomórkowej określa grupę makromolekuł tworzących szkielet wątroby. W skład ECM wchodzi kolageny, glikoproteiny niekolagenowe, czynniki wzrostowe, glikozaminoglikany i proteoglikany [7]. Skład ECM cechuje duża heterogeniczność polegająca na występowaniu wielu izoform każdej z grupy makromolekuł w różnych obszarach wątroby. Oprócz typowych molekuł macierz obfituje w struktury hybrydowe składające się z kolagenów i proteoglikanów.

Kolagen w zdrowym narządzie lokalizuje się głównie w obrębie torebki wątroby (typ I, III, V i XI) dużych naczyń i triady wrotnej. Za normę uznaje się także obecność w tych obszarach niewielkich ilości kolagenu typu IV, VI, XIV (w przeszłości zwanego unduliną) oraz XVIII. Do niekolagenowych glikoprotein budujących szkielet wątroby zalicza się fibronektynę, lamininę, osteonektynę, tenascynę i czynnik von Willebranda. Spośród glikozaminoglikanów i proteoglikanów w największych ilościach występuje siarczan heparanu i mniejszych fibromodulina, dekoryna, biglikan, agrekan, grypikan, syndekan i lumikan [7].

Uruchomienie procesu włóknienia tkanki wątrobowej zniemiennie zmienia zarówno skład jakościowy jak i ilościowy macierzy zewnątrzkomórkowej. Obserwuje się 3- do 10-krotny wzrost ilości kolagenu głównie typu I, III i IV (kolagen tworzący włókna) i w mniejszej ilości kolagenu typu VI, który nie tworzy włókien [8]. Rośnie także produkcja makromolekuł szkieletowych. Obniża się natomiast synteza siarczanu heparanu i znacznie wzrasta synteza siarczanów dermatanu i chondroityny. W konsekwencji następuje zmiana składu ECM zlokalizowanej w przestrzeni podśródbłonkowej naczyń zatokowych wątroby. Przestrzeń ta ulega zagęszczeniu i zniemiennie wzrasta jest grubość [9]. Efektem tych zmian jest upośledzenie funkcji hepatocytów, komórek gwiazdzistych i komórek śródbłonka naczyniowego. Zmieniona i zagęszczona macierz zewnątrzkomórkowa aktywuje komórki gwiazdziste. Z powierzchni hepatocytów znikają mikrokosmki, a pory w komórkach śródbłonka naczyń zatokowych wątroby ulegają zamknięciu. Proces ten prowadzi do ograniczenia przepuszczalności i zaburzenia transportu między naczyniami zatokowymi a hepatocytami, pogłębiając ich dysfunkcję [10]. Dodatkowo, bodziec uszkodzający stymuluje angiogenezę w tkance wątrobowej, której efektem jest tworzenie sieci nowych naczyń i remodeling naczyń zatokowych [11]. W proces ten zaangażowane są mediatory angiogenezy, tj. płytkopodobny czynnik wzrostu (*platelet-derived growth factor PDGF*), czynnik wzrostu śródbłonka naczyń (*vascular endothelial growth factor, VEGF*) oraz wazoaktywne mediatory t. tlenek azotu i tlenek węgla [12].

Postępująca akumulacja ECM aktywuje szlaki symulujące włóknienie za pośrednictwem między innymi zmian w składzie receptorów błonowych, szczególnie integryn odpowiedzialnych za aktywację komórek gwiazdzistych, ale także poprzez aktywację metaloproteinaz macierzy komórkowej uwalniających profibrogennie i proliferacyjnie działające czynniki wzrostowe [13, 14, 15]. Nie bez znaczenia jest również wzrost gęstości ECM, który zwiększa jej sztywność i stymuluje aktywację komórek gwiazdzistych [16].

Głównym źródłem macierzy zewnątrzkomórkowej zarówno w zdrowej, jak i objętej procesem włóknienia wątrobie są komórki gwiazdziste. Wykazano, że na akumulację ECM wpływają także komórki mezenchymalne pochodzące z różnych źródeł, tj. klasyczne fibroblasty [17, 18, 19] i miofibroblasty wywodzące się ze szpiku kostnego [20]. Komórki gwiazdziste lokalizują się w tzw. przestrzeni Dissego utworzonej pomiędzy hepatocytami, a komórkami śródbłonka naczyń zatokowych wątroby. Obecnie wiadomo, że stanowią one 1/3 nieparenchymalnych komórek wątroby i 15% wszystkich komórek zasiedlających ten narząd. W stanie zdrowia gromadzą retinoidy w postaci estrów retinolu i są głównym źródłem witaminy A w ustroju. Pomimo dużego podobieństwa anatomicznego i czynnościowego, różnią się między

sobą pod względem potencjału aktywacyjnego, ekspresji filamentów cytoszkieletu i zawartości retinoidów [21]. Badania wykazały, że komórki gwiaździste o wysokim potencjale włóknieniowym nie są tylko obecne w wątrobie, ale także u chorych z przewlekłym zapaleniem i rakiem tego narządu [22, 23]. Zaktywowane komórki gwiaździste przekształcają się w proliferujące miofibroblasty, które cechuje duża kurczliwość. W ich wnętrzu powiększa się szorstka siatka endopazmatyczna, zmniejsza się zawartość retinoidów, błona jądrowa ulega pofałdowaniu i znacznie wzrasta ilość włókien wykazujących wysoki potencjał kurczliwości [24, 25, 26].

W zdrowej wątrobie, komórki śródbłonna naczyń zatokowych produkują kolagen typu III i IV, lamininę, syndekan i fibronektynę [27, 28, 29]. Pojawienie się czynnika uszkadzającego zwiększa ich metabolizm, który przejawia się nadmierną produkcją różnych izoform fibronektyny tworzącej mikrośrodowisko dla aktywacji komórek gwiaździstych.

Biologiczna aktywność macierzy zewnątrzkomórkowej

Proces włóknienia wątroby ma charakter dynamiczny, a skład ECM podlega ciągłym zmianom. Aktywacja receptorów błonowych prowadzi do zaburzenia prawidłowej funkcji różnych komórek. Jedną z najlepiej poznanych rodzin receptorów błonowych tworzą integryny. Białka te wpływając na ekspresję genów, kontrolują tempo wzrostu i różnicowanie komórek. Zbudowane z podjednostek alfa i beta mają swoje ligandy wśród białek macierzy zewnątrzkomórkowej [30]. Sygnały przesyłane przez błonę komórkową za pośrednictwem integryn zapewniają komunikację między ECM i cytoszkieletem. Sygnalizacja ma charakter dwukierunkowy, tj. do wnętrza i na zewnątrz komórki, a przesyłane sygnały wywołują zmiany konformacyjne w niektórych molekułach ECM. Zidentyfikowano wiele receptorów integrynowych na powierzchni hepatocytów i komórek nieparenchymalnych [31–34]. W eksperymencie wywoływanym włóknieniu obserwowano wzmożoną ekspresję receptorów alfa-6-beta-1 i alfa-2-beta-1 wiążących lamininę [35]. Receptory te odpowiadają za aktywację i proliferację komórek gwiaździstych w odpowiedzi na odkładanie się składników ECM podczas uszkodzenia [15, 31, 36].

Spośród wielu innych molekuł adhezyjnych i receptorów macierzy na uwagę zasługują kadheryny i selektyny odpowiadające za interakcje pomiędzy komórkami zapalnymi a komórkami śródbłonna naczyniowego [37, 38, 39].

Macierz zewnątrzkomórkowa może wpływać pośrednio na funkcje różnych komórek przez uwalnianie rozpuszczalnych czynników wzrostowych, które są cytokinami kontrolowanymi przez lokalne metaloproteinazy [40]. Należą do nich PDGF, VEGF, czynnik wzrostu hepatocytów (*hepatocyte growth factor, HGF*), czynnik

wzrostu tkanki łącznej (*connective tissue growth factor, CTGF*), TNF- α i czynnik wzrostu fibroblastów (*basic fibroblast growth factor, bFGF*) [7, 41].

Klasyczną cytokiną, która kontroluje podziały komórkowe, różnicowanie, morfogenezę, uczestniczy w rozwoju włóknienia i może inicjować proces apoptozy jest transformujący czynnik wzrostu $\beta 1$ (*transforming growth factor beta-1, TGF- $\beta 1$*) [42]. Po zsyntetyzowaniu w postaci cząsteczki prekursorowej jest on wydzielany na zewnątrz komórki, w formie nieaktywnej, gdzie podlega aktywacji. Ligandy aktywnego TGF- $\beta 1$ wiążą się z receptorem na powierzchni komórki, uruchamiając fosforylację wewnątrzkomórkowych substratów przez zaktywowaną kinazę receptora. Proces kończy transdukcja sygnału do wnętrza jądra komórkowego. Najlepiej poznanymi białkami efektorowymi sygnalizacji TGF- $\beta 1$ są białka Smad. Smad 2 i 3 posiadają właściwości aktywacyjne, natomiast Smad 7 inhibicyjne [43, 44, 45]. Odpowiedź komórek gwiaździstych na aktywny sygnał pochodzący od Smad 2 i 3 skutkuje nadprodukcją kolagenu i nasileniem włóknienia [45, 46].

Proces degradacji macierzy zewnątrzkomórkowej

Włóknienie wątroby jest procesem dynamicznym i stanowi wypadkową produkcji i rozkładu macierzy zewnątrzkomórkowej. Rozkład ECM jest kluczowym zjawiskiem leżącym u podstaw tego procesu, a najważniejszym elementem odpowiedzialnym za remodeling macierzy jest rodzina metaloproteinaz (*matrix metalloproteinase, MMP*). Enzymy te cechuje zdolność do degradacji kolagenowych i niekolagenowych substratów ECM [16]. Zależnie od specyfiki substratowej metaloproteinazy dzieli się na 5 kategorii:

- kolagenazy śródmiażdżowe – rozkładają kolagen śródmiażdżowy,
- żelatynazy – rozkładają kolagen typu IV,
- stromielizyny – rozkładają wiele różnych substratów,
- metaloproteinazy błonowe – rozkładają głównie kolagen śródmiażdżowy
- metaloelastazy – rozkładają elastynę.

Aktywność metaloproteinaz jest regulowana na wielu poziomach, co w efekcie ogranicza ich działanie do określonych obszarów ECM. Aktywacja odbywa się za pośrednictwem proteolitycznego działania MMP-1 lub plazminy na ich nieaktywne formy, natomiast zahamowanie działania wiąże się z połączeniem aktywnej formy z tkankowym inhibitorem metaloproteinaz (*tissue inhibitors of metalloproteinases, TIMPs*). Aktywność plazminy jest kontrolowana przez aktywator uroplazminogenu i specyficzny inhibitor aktywacji – PAI-1, ale może być także stymulowana przez TGF- $\beta 1$ [47].

Patologiczna degradacja wiąże się z niszczeniem prawidłowej struktury ECM znajdującej się w przestrzeni pomiędzy hepatocytami, a komórkami śródbłonna na-

czyn zatokowych wątroby. W procesie tym biorą udział żelatynaza 2 i 9, metaloproteinazy błonowe aktywujące latentną postać MMP-2 oraz stromielizyna –1 degradująca proteoglikany i glikoproteiny

Komórki gwiaździste są głównym źródłem MMP-2 [48, 49] i stromielizyny [50]. Aktywacja latentnej postaci MMP-2 wymaga interakcji hepatocytów [51, 52]. Bardzo wzmożoną ekspresję MMP-2 obserwuje się u pacjentów z zaawansowaną marskością [53]. MMP-9 jest wydzielana miejscowo przez komórki Browicza-Kupffera [54]. Upośledzenie zdolności rozkładu wytwarzanej w dużej ilości ECM stanowi zasadniczy element warunkujący postęp włóknienia. MMP-1 jest najważniejszą metaloproteinazą rozkładającą produkowany w nadmiarze kolagen typu I. Ponadto w zaawansowanym włóknieniu wzrasta stężenie TIMP-1 i TIMP-2, które zmniejszają aktywność proteaz, a to skutkuje nadmierną akumulacją ECM [55, 56, 57].

Komórki gwiaździste i ich rola

Kluczowym zjawiskiem w procesie włóknienia wątroby jest aktywacja komórek gwiaździstych. Zaktywowana komórka gwiaździsta uwalnia chemokiny i inne chemoatraktanty leukocytarne. Wzmagają ekspresję biorących udział w propagacji zapalenia receptorów, takich jak molekuly adhezyjne (*inter-cellular adhesion molecule 1, ICAM-1*), receptory dla chemokin oraz lipopolisacharydów pośredniczących w transdukcji sygnałów. Aktywacja składa się z fazy inicjacji zwanej także fazą przedzapalną i fazy perpetuacji [58].

Fazę inicjacji rozpoczyna parakrynowa stymulacja komórek gwiaździstych pochodząca od sąsiednich komórek śródbłonna naczyń zatokowych wątroby, komórek Kupffera, hepatocytów i płytek krwi. Bodziec uszkodzający we wczesnej fazie stymuluje komórki śródbłonna naczyń zatokowych, które w odpowiedzi produkują fibronektynę aktywującą komórki gwiaździste [59]. Dodatkowo komórki te biorą udział w konwersji latentnej postaci TGF- β 1, do nasilającej włóknienie postaci aktywnej. Ważnym źródłem czynników działających autokrynowo są płytki krwi. Uwalniają one PDGF, TGF- β 1 i EGF [60]. Pobudzone przez bodziec uszkodzający komórki Browicza-Kupffera stymulują syntezę ECM, proliferację innych komórek i uwalnianie retinoidów przez komórki gwiaździste, jak również mogą wprowadzać te komórki w szlak apoptozy [61]. Hepatocyty są potencjalnym źródłem nasilających włóknienie lipidowych peroksydaz odpowiedzialnych za produkcję wolnych rodników tlenowych. Apoptoza hepatocytów poddanych działaniu bodźca uszkodzającego prowadzi do aktywacji komórek gwiaździstych [62]. Jednym z ważnych szlaków sygnalizacyjnych biorących udział w tym procesie jest interakcja pomiędzy DNA hepatocyta z receptorem Toll-podobnym typu 9 (TLR-9) na komórce gwiaździstej [63].

W fazie perpetuacji w morfologii i funkcji komórek gwiaździstych zachodzi szereg zmian. Obejmują one

prolifrację, chemotaksję, fibrogenezę, kurczliwość, degradację macierzy, utratę retinoidów oraz uwalnianie chemoatraktantów i cytokin.

Jednym z najsilniejszych mitogenów odpowiedzialnych za proliferację komórek gwiaździstych jest płytkopodobny czynnik wzrostu [64]. Indukcja receptorów dla PDGF na komórkach gwiaździstych we wczesnej fazie ich aktywacji znamienne wzmagają odpowiedź na ten mitogen [65]. Do innych substancji wykazujących aktywność mitogenną w stosunku do komórek gwiaździstych należą VEGF [66], trombina i jej receptor [67, 68], TGF- α , czynnik wzrostowy keratynocytów (*keratinocyte growth factor, KGF*) [171], i bFGF [69].

Komórki gwiaździste wykazują zdolność migracji w kierunku chemoatraktantów [70, 71]. Należą do nich: białko chemotaktyczne dla monocytów (*Monocyte chemotactic protein-1, MCP-1*), PDGF oraz receptor chemokinowy - CXCR3 [72].

Najważniejszą właściwością komórek gwiaździstych, odgrywającą kluczową rolę w procesie włóknienia jest zdolność do produkcji macierzy zewnątrzkomórkowej i tworzenie tanki bliznowatej w wątrobie, której głównym składnikiem jest kolagen typu I. Regulacja ekspresji kolagenu tego typu odbywa się w komórkach gwiaździstych posttranskrypcyjnie. Najsilniejszym stymulatorem produkcji kolagenu typu I jest TGF- β . Oprócz kolagenu stymuluje on także produkcję innych składników macierzy, tj. fibronektyny i proteoglikanów [73, 74]. Retinoidy, interleukina 1-b, TNF- α i angiotensyna II także stymulują produkcję kolagenu typu I, jednak w znacznie mniejszym stopniu [75].

Wzmożona kurczliwość komórek gwiaździstych odpowiada za wzrost oporu wrotnego w procesie włóknienia [76]. Dodatkowo, komórki gwiaździste wykazują zwiększoną ekspresję cechującą się wysokim potencjałem kurczliwym alfa-aktyny. Głównym bodźcem, wzmagającym kurczliwość komórek gwiaździstych jest endotelina-1. Przeciwnie do endoteliny-1 działa produkowany lokalnie tlenek azotu. Nadmierne obkurczenie komórek gwiaździstych pogarsza przepływ wrotny głównie przez ucisk naczyń zatokowych.

Komórki gwiaździste posiadają wszystkie składniki niezbędne do degradacji macierzy zewnątrzkomórkowej. Z tego powodu odgrywają priorytetową rolę w remodelingu ECM zachodzącym w procesie włóknienia wątroby.

Aktywacji komórek gwiaździstych towarzyszy utrata charakterystycznych, zlokalizowanych okołojądrowo wakuoli zawierających retinoidy. W stanie zdrowia komórki gwiaździste gromadzą retinoidy w postaci estrów retinolowych. Przed uwolnieniem do przestrzeni pozakomórkowej estry ulegają hydrolizie, a komórkę opuszcza retinol. Odpowiedź na pytanie czy utrata retinoidów jest niezbędna dla aktywacji komórki gwiaździstej i które retinoidy mogą przyspieszyć bądź spowolnić ten proces pozostaje otwarta [21].

Komórki gwiaździste wzmacniają także odpowiedź zapalną, indukując infiltrację wątroby przez różne populacje krwinek białych. W procesie tym pośredniczą produkowane przez nie chemokiny, tj. białko chemoaktywne dla monocytów, CCL21 odpowiedzialne za migrację zaktywowanych limfocytów T, makrofagów i neutrofilów [77] oraz RANTES (*regulated on activation, normal T-cell expressed and secreted*) i CCR5 regulujące aktywację, adhezję, chemotaksję i migrację limfocytów T przez endotelium [78]. Ponadto, na błonach komórkowych komórek gwiaździstych pojawiają się w większej ilości receptory Toll-podobne, zdolne do interakcji z lipopolisacharydami bakteryjnymi [79, 80]. Komórki gwiaździste mogą służyć za pełnowartościowe komórki prezentujące antygen, stymulujące proliferację i apoptozę

limfocytów [79, 81]. Obecność w środowisku limfocytów cytotoksycznych CD8⁺ znacznie zwiększa profibrogenną aktywność komórek gwiaździstych [82], natomiast obecność na ich powierzchni białka CD133 pozwala sądzić, że mogą one wykazywać wiele cech wspólnych z komórkami progenitorowymi szpiku kostnego [83].

Wniosek

Ustawiczny wzrost liczby badań mających na celu dogłębne poznanie mechanizmów molekularnych zaangażowanych w proces włóknienia wątroby pozwala sądzić, iż w nieodległej przyszłości zgromadzona wiedza w istotny sposób przyczyni się do opracowania nowych leków skutecznie opóźniających bądź odwracających ten proces.

Piśmiennictwo / References

- Iredale IP. *Models of liver fibrosis; exploring the dynamic nature of inflammation and repair in a solid organ*. J. Clin. Invest. 2007;117:539-548.
- Bataller R, North KE, Brenner DA. *Genetic polymorphisms and the progression of liver fibrosis: A critical appraisal*. Hepatology 2003; 37:493- 503.
- Poynard T, Mathurin P, Lai CL, Guyader D, Poupon R, Tainturier MH i wsp. *A comparison of fibrosis progression in chronic liver diseases*. J. Hepatol. 2003;38:257-65.
- Dienstag JL, Goldin RD, Heathcote EJ, Hann HW, Woessner M, Stephenson SL i wsp. *Histological outcome during long-term lamivudine therapy*. Gastroenterology 2003;124:105-17.
- Dufour JF, DeLellis R, Kaplan MM. *Reversibility of hepatic fibrosis in autoimmune hepatitis*. Ann. Intern. Med. 1997;127:981-985.
- Falize L, Guillygomarc'h A, Perrin M, Laine F, Guyader D, Brissot P i wsp. *Reversibility of hepatic fibrosis in treated genetic hemochromatosis: A study of 36 cases*. Hepatology. 2006; 44:472-7.
- Schuppan D, Ruehl M, Somasundaram R, Hahn EG. *Matrix as a modulator of hepatic fibrogenesis*. Semin. Liver Dis. 2001;21:351-72.
- Rojkind, M, Giambrone, MA, Biempica L. *Collagen types in normal and cirrhotic liver*. Gastroenterology 1979;76:710-9.
- Gressner AM. *The cell biology of liver fibrogenesis - an imbalance of proliferation, growth arrest and apoptosis of myofibroblasts*. Cell Tissue Res. 1998;292:447-52.
- McGuire RF, Bissell DM, Boyles J, Roll FJ. *Role of extracellular matrix in regulating fenestrations of sinusoidal endothelial cells isolated from normal rat liver*. Hepatology 1992; 15:989-97.
- Lee JS, Semela D, Iredale J, Shah VH. *Sinusoidal remodeling and angiogenesis: a new function for the liver-specific pericyte?*. Hepatology 2007;45:817-25.
- Dev A, Patel K, Conrad A, Blatt LM, McHutchison JG. *Relationship of smoking and fibrosis in patients with chronic hepatitis C*. Clin. Gastroenterol. Hepatol. 2006;4:797-801.
- Kitazawa E, Igarashi T, Kawaguchi N, Matsushima H, Kawashima Y, Hankins RW i wsp. *Differences in anti-LKM-1 autoantibody immunoreactivity to CYP2D6 antigenic sites between hepatitis C virus-negative and -positive patients*. J Autoimmun. 2001;17:243-9.
- Melton AC, Soon RK Jr, Park JG, Martinez L, Dehart GW, Yee HF Jr. *Focal adhesion disassembly is an essential early event in hepatic stellate cell chemotaxis*. Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver. Physiol. 2007;293:1272-80.
- Yang C, Zeisberg M, Mosterman B, Sudhakar A, Yerramalla U, Holthaus K i wsp. *Liver fibrosis: Insights into migration of hepatic stellate cells in response to extracellular matrix and growth factors*. Gastroenterology 2003;124:147-59.
- Wells RG. *The role of matrix stiffness in regulating cell behavior*. Hepatology 2008;47:1394-4000.
- Kinnman N, Housset C. *Peribiliary myofibroblasts in biliary type liver fibrosis*. Front Biosci 2002; 7:496-503.
- Kruglov EA, Jain D, Dranoff JA. *Isolation of primary rat liver fibroblasts*. J. Investig. Med. 2002;50:179-84.
- Manns MP, Czaja AJ, Gorham JD, Krawitt EL, Mieli-Vergani G, Vergani D i wsp. *American Association for the Study of Liver Diseases. Diagnosis and management of autoimmune hepatitis*. Hepatology 2010 ;51:2193-213.
- Forbes SJ, Russo FP, Rey V, Burra P, Ruge M, Wright NA i wsp. *A significant proportion of myofibroblasts are of bone marrow origin in human liver fibrosis*. Gastroenterology 2004;126:955-63.
- Geerts A. *History, heterogeneity, developmental biology, and functions of quiescent hepatic stellate cells*. Semin Liver Dis 2001;21:311-35.
- Bachem MG, Schneider E, Gross H, Weidenbach H, Schmid RM, Menke A i wsp. *Identification, culture, and characterization of pancreatic stellate cells in rats and humans*. Gastroenterology 1998;115:421-32.
- Bachem MG, Schunemann M, Ramadani M, Siech M, Beger H, Buck A i wsp. *Pancreatic carcinoma cells induce fibrosis by stimulating proliferation and matrix synthesis of stellate cells*. Gastroenterology 2005;128:907-21.

24. Enzan H, Himeno H, Iwamura S, Onishi S, Saibara T, Yamamoto Y i wsp. *Alpha-smooth muscle actin-positive perisinusoidal stromal cells in human hepatocellular carcinoma*. Hepatology 1994;19:895-903.
25. Enzan H, Himeno H, Iwamura S, Saibara T, Onishi S, Yamamoto Y i wsp. *Sequential changes in human Ito cells and their relation to postnecrotic liver fibrosis in massive and submassive hepatic necrosis*. Virchows Arch. 1995; 426:95-101.
26. Schmitt-Graff A, Kruger S, Bochar F, Gabbiani G, Denk H. *Modulation of alpha smooth muscle actin and desmin expression in perisinusoidal cells of normal and diseased human livers*. Am. J. Pathol. 1991;138:1233-42.
27. Herbst H, Frey A, Heinrichs O, Milani S, Bechstein WO, Neuhaus P i wsp. *Heterogeneity of liver cells expressing procollagen types I and IV in vivo*. Histochem Cell Biol. 1997;107:399-409.
28. Maher JJ, McGuire RF. *Extracellular matrix gene expression increases preferentially in rat lipocytes and sinusoidal endothelial cells during hepatic fibrosis in vivo*. J. Clin. Invest. 1990;86:1641-8.
29. Roskams T, Moshage H, De Vos R, Guido D, Yap P, Desmet V. *Heparan sulfate proteoglycan expression in normal human liver*. Hepatology 1995;21:950-8.
30. Ruoslahti E, Engvall E. *Integrins and vascular extracellular matrix assembly*. J. Clin. Invest. 1997;99:1149-52.
31. Carloni V, Defranco RM, Caligiuri A, Gentilini A, Sciammetta SC, Baldi E i wsp. *Cell adhesion regulates platelet-derived growth factor-induced MAP kinase and PI-3 kinase activation in stellate cells*. Hepatology 2002;36:582-91.
32. Carloni V, Pinzani M, Giusti S, Romanelli RG, Parola M, Bellomo G i wsp. *Tyrosine phosphorylation of focal adhesion kinase by PDGF is dependent on ras in human hepatic stellate cells*. Hepatology 2000;31:131-40.
33. Couvelard A, Scoazec JY, Feldmann G. *Expression of cell-cell and cell-matrix adhesion proteins by sinusoidal endothelial cells in the normal and cirrhotic human liver*. Am. J. Pathol. 1993;143:738-52.
34. Matsumoto S, Yamamoto K, Nagano T, Okamoto R, Ibuki N, Tagashira M i wsp. *Immunohistochemical study on phenotypical changes of hepatocytes in liver disease with reference to extracellular matrix composition*. Liver 1999;19:32-8.
35. Ismail MG, Stieger B, Cattori V, Hagenbuch B, Fried M, Meier PJ i wsp. *Hepatic uptake of cholecystokinin octapeptide by organic anion-transporting polypeptides oatp4 and oatp8 of rat and human liver*. Gastroenterology 2001;121:1185-90.
36. Racine-Samson L, Rockey DC, Bissell DM. *The role of alpha1beta1 integrin in wound contraction. A quantitative analysis of liver myofibroblasts in vivo and in primary culture*. J. Biol. Chem. 1997;272:30911-7.
37. Adams DH, Burra P, Hubscher SG, Elias E, Newman W. *Endothelial activation and circulating vascular adhesion molecules in alcoholic liver disease*. Hepatology 1994;19: 588-94.
38. Adams DH, Hubscher SG, Fisher NC, Williams A, Robinson M. *Expression of E-selectin and E-selectin ligands in human liver inflammation*. Hepatology 1996;24:533-8.
39. Nakanuma Y, Yasoshima M, Tsuneyama K, Harada, K. *Histopathology of primary biliary cirrhosis with emphasis on expression of adhesion molecules*. Semin. Liver Dis. 1997;17:35- 47.
40. Vlodavsky I, Miao HQ, Medalion B, Danagher P, Ron D. *Involvement of heparan sulfate and related molecules in sequestration and growth promoting activity of fibroblast growth factor*. Cancer Metastasis Rev. 1996;15:177-86.
41. Schuppan D, Schmid M, Somasundaram R, Ackermann R, Ruehl M, Nakamura T i wsp. *Collagens in the liver extracellular matrix bind hepatocyte growth factor*. Gastroenterology 1998;114:139-52.
42. Breitkopf K, Godoy P, Ciucian L, Singer MV, Dooley S. *TGF-beta/Smad signaling in the injured liver*. Z. Gastroenterol. 2006; 44:57-66.
43. Inagaki Y, Okazaki I. *Emerging insights into transforming growth factor beta Smad signal in hepatic fibrogenesis*. Gut 2007;56:284-92.
44. Liu C, Gaca MD, Swenson ES, Vellucci VF; Reiss M; Wells RG. *Smads 2 and 3 are differentially activated by transforming growth factor-beta (TGF-beta) in quiescent and activated hepatic stellate cells. Constitutive nuclear localization of Smads in activated cells is TGF-beta-independent*. J. Biol. Chem. 2003;278:11721-8.
45. Uemura M, Swenson ES, Gaca MD, Giordano FJ, Reiss M, Wells RG. *Smad2 and Smad3 play different roles in rat hepatic stellate cell function and alpha-smooth muscle actin organization*. Mol. Biol. Cell 2005;16:4214-24.
46. Wiercinska E, Wickert L, Denecke B, Said HM, Hamzavi J, Gressner AM i wsp. *Id1 is a critical mediator in TGF-beta-induced transdifferentiation of rat hepatic stellate cells*. Hepatology 2006;43:1032-41.
47. Czaja AJ. *Autoimmune hepatitis*. Str. 337-348. [w]: Mayo Clinic. Gastroenterology and Hepatology Board Review. Second Edition. S.C. Hauser Ed. Mayo Clinic Scientific Press, Taylor & Francis Group. New York 2006.
48. Arthur MJ, Stanley A, Iredale JP, Rafferty JA, Hembry RM, Friedman SL. *Secretion of 72 kDa type IV collagenase/gelatinase by cultured human lipocytes. Analysis of gene expression, protein synthesis and proteinase activity*. Biochem. J. 1992;287:701-7.
49. Milani S, Herbst H, Schuppan D, Grappone C, Pellegrini G, Pinzani M i wsp. *Differential expression of matrix-metalloproteinase-1 and -2 genes in normal and fibrotic human liver*. Am. J. Pathol. 1994;144:528-37.
50. Vyas SK, Leyland H, Gentry J, Arthur MJ. *Rat hepatic lipocytes synthesize and secrete transin (stromelysin) in early primary culture*. Gastroenterology 1995;109:889-98.
51. Theret N, Musso O, L'Helgoualc'h A, Clement B. *Activation of matrix metalloproteinase-2 from hepatic stellate cells requires interactions with hepatocytes*. Am. J. Pathol. 1997;150:51-8.

52. Theret N, Lehti K, Musso O, Clement B. *MMP2 activation by collagen I and concanavalin A in cultured human hepatic stellate cells*. *Hepatology* 1999;30:462-8.
53. Benyon RC, Iredale JP, Goddard S, Winwood PJ, Arthur MJ. *Expression of tissue inhibitor of metalloproteinases 1 and 2 is increased in fibrotic human liver*. *Gastroenterology* 1996;110:821-31.
54. Benyon RC, Arthur MJ. *Extracellular matrix degradation and the role of hepatic stellate cells*. *Semin. Liver. Dis.* 2001;21:373-84.
55. Herbst H, Wege T, Milani S, Pellegrini G, Orzechowski HD, Bechstein WO i wsp. *Tissue inhibitor of metalloproteinase-1 and -2 RNA expression in rat and human liver fibrosis*. *Am. J. Pathol.* 1997;150:1647-59.
56. Iredale JP, Benyon RC, Pickering J, McCullen M, Northrop M, Pawley S i wsp. *Mechanisms of spontaneous resolution of rat liver fibrosis. Hepatic stellate cell apoptosis and reduced hepatic expression of metalloproteinase inhibitors*. *J. Clin. Invest.* 1998;102:538-49.
57. Murawaki Y, Ikuta Y, Idobe Y, Kitamura Y, Kawasaki H. *Tissue inhibitor of metalloproteinase-1 in the liver of patients with chronic liver disease*. *J. Hepatol.* 1997;26:1213-9.
58. Friedman, SL. *Molecular regulation of hepatic fibrosis, an integrated cellular response to tissue injury*. *J. Biol. Chem.* 2000;275:2247-50.
59. Jarnagin WR, Rockey DC, Kotliansky VE, Wang SS, Bissell DM. *Expression of variant fibronectins in wound healing: Cellular source and biological activity of the EIIIA segment in rat hepatic fibrogenesis*. *J. Cell. Biol.* 1994;127:2037-48.
60. Bachem MG, Melchior R, Gressner AM. *The role of thrombocytes in liver fibrogenesis: effects of platelet lysate and thrombocyte-derived growth factors on the mitogenic activity and glycosaminoglycan synthesis of cultured rat liver fat storing cells*. *J. Clin. Chem. Clin. Biochem.* 1989;27:555-65.
61. Fischer R, Carriers A, Reinehr R, Haussinger D. *Caspase 9-dependent killing of hepatic stellate cells by activated Kupffer cells*. *Gastroenterology* 2002;123:845-61.
62. Canbay A, Higuchi H, Bronk SF, Taniai M, Sebo TJ, Gores GJ. *Fas enhances fibrogenesis in the bile duct ligated mouse: a link between apoptosis and fibrosis*. *Gastroenterology* 2002; 123:1323-30.
63. Watanabe A, Hashmi A, Gomes DA, Town T, Badou A, Flavell RA i wsp. *Apoptotic hepatocyte DNA inhibits hepatic stellate cell chemotaxis via toll-like receptor 9*. *Hepatology* 2007;46:1509-18.
64. Pinzani M. *PDGF and signal transduction in hepatic stellate cells*. *Front. Biosci.* 2002;7:1720-6.
65. Wong L, Yamasaki G, Johnson RJ, Friedman SL. *Induction of beta-platelet-derived growth factor receptor in rat hepatic lipocytes during cellular activation in vivo and in culture*. *J. Clin. Invest.* 1994;94:1563-9.
66. Campbell JS, Hughes SD, Gilbertson DG, Palmer TE, Holdren MS, Haran AC i wsp. *Platelet-derived growth factor C induces liver fibrosis, steatosis, and hepatocellular carcinoma*. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A* 2005;102:3389-94.
67. Marra F, Grandaliano G, Valente AJ, Abboud HE. *Thrombin stimulates proliferation of liver fat-storing cells and expression of monocyte chemotactic protein-1: potential role in liver injury*. *Hepatology* 1995;22:780-7.
68. Yoshiji H, Kuriyama S, Yoshii J, Ikenaka Y, Noguchi R, Hicklin DJ i wsp. *Vascular endothelial growth factor and receptor interaction is a prerequisite for murine hepatic fibrogenesis*. *Gut* 2003;52:1347-54.
69. Steiling H, Muhlbauer M, Bataille F, Schölmerich J, Werner S, Hellerbrand C. *Activated hepatic stellate cells express keratinocyte growth factor in chronic liver disease*. *Am. J. Pathol.* 2004;165:1233-41.
70. Maher JJ. *Interactions between hepatic stellate cells and the immune system*. *Semin. Liver Dis.* 2001;21:417-26.
71. Marra F, DeFranco R, Grappone C, Parola M, Milani S, Leonarduzzi G i wsp. *Expression of monocyte chemotactic protein-1 precedes monocyte recruitment in a rat model of acute liver injury, and is modulated by vitamin E*. *J. Investig. Med.* 1999;47:66-75.
72. Bonacchi A, Romagnani P, Romanelli RG, Efsen E, Annunziato F, Lasagni L i wsp. *Signal transduction by the chemokine receptor CXCR3: activation of Ras/ERK, Src, and phosphatidylinositol 3-kinase/Akt controls cell migration and proliferation in human vascular pericytes*. *J. Biol. Chem.* 2001;276:9945-54.
73. George J, Wang SS, Sevcsik AM, Sanicola M, Cate RL, Kotliansky VE i wsp. *Transforming growth factor-beta initiates wound repair in rat liver through induction of the EIIIA-fibronectin splice isoform*. *Am. J. Pathol.* 2000;156: 115-24.
74. Gressner AM. *The cell biology of liver fibrogenesis - an imbalance of proliferation, growth arrest and apoptosis of myofibroblasts*. *Cell Tissue Res.* 1998;292:447-52.
75. Bataller R, Schwabe RF, Choi YH, Yang L, Paik YH, Lindquist J i wsp. *NADPH oxidase signal transduces angiotensin II in hepatic stellate cells and is critical in hepatic fibrosis*. *J. Clin. Invest.* 2003;112:1383-94.
76. Rockey DC. *Hepatic blood flow regulation by stellate cells in normal and injured liver*. *Semin. Liver Dis.* 2001;21:337-49.
77. Bonacchi A, Petrai I, Defranco RM, Lazzeri E, Annunziato F, Efsen E i wsp. *The chemokine CCL21 modulates lymphocyte recruitment and fibrosis in chronic hepatitis C*. *Gastroenterology* 2003;125:1060-76.
78. Schwabe RF, Bataller R, Brenner DA. *Human hepatic stellate cells express CCR5 and RANTES to induce proliferation and migration*. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* 2003; 285:G949-58.
79. Brun P, Castagliuolo I, Pinzani M, Palu G, Martinez D. *Exposure to bacterial cell wall products triggers an inflammatory phenotype in hepatic stellate cells*. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver. Physiol.* 2005;289:G571-8.
80. Paik YH, Schwabe RF, Bataller R, Russo MP, Jobin C, Brenner DA. *Toll-like receptor 4 mediates inflammatory signaling by bacterial lipopolysaccharide in human hepatic stellate cells*. *Hepatology* 2003;37:1043-55.

81. Vinas O, Bataller R, Sancho-Bru P, Gines P, Berenguer C, Enrich C i wsp. *Human hepatic stellate cells show features of antigen-presenting cells and stimulate lymphocyte proliferation*. *Hepatology* 2003;38:919-29.
82. Safadi R, Ohta M, Alvarez CE, Fiel MI, Bansal M, Mehal WZ i wsp. *Immune stimulation of hepatic fibrogenesis by CD8 cells and attenuation by transgenic interleukin-10 from hepatocytes*. *Gastroenterology* 2004;127:870-82.
83. Kordes C, Sawitza I, Muller-Marbach A, Ale-Agha N, Keitel V, Klonowski-Stumpe H i wsp. *CD133+ hepatic stellate cells are progenitor cells*. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2007; 352:410-7.

Adres do korespondencji / Mailing address:

Krzysztof Gutkowski
Oddział Gastroenterologii i Hepatologii
z Pododdziałem Chorób Wewnętrznych
Wojewódzkiego Szpitala Specjalistycznego
im. Fryderyka Chopina w Rzeszowie
ul. Szopena 2, 35-055 Rzeszów
tel: 17 866 61 31
e-mail: kgutski@intertele.pl