

Rolul celulelor stelate hepatice în carcinogeneza hepatocelulară

The role of hepatic stellate cells in hepatocellular carcinogenesis

Dr. ALIN GABRIEL IONESCU¹, Conf. Dr. CRISTIN CONSTANTIN VERE¹, Dr. COSTIN TEODOR STREBA¹,
Drd. MIHAELA IONESCU², Prof. Dr. ION ROGOVEANU¹

¹Universitatea de Medicină și Farmacie, Craiova

²Universitatea de Medicină și Farmacie „Victor Babeș”, Timișoara

REZUMAT

Principalul fenomen în apariția fibrozei hepatice îl reprezintă activarea celulelor stelate hepatice (CSH) declanșată de inflamația și leziunea hepatică cronică. Ulterior activării CSH, are loc proliferarea lor, însoțită de creșterea sintezei de matrix extracelular (MEC) și de afectarea degradării acestuia. Ciroza hepatică este considerată o stare precanceroasă, ce poate duce la apariția carcinomului hepatocelular (CHC).

Incidența CHC este în creștere în Europa, America de Nord și Asia, în special din cauza infecțiilor cu virusurile hepatitice B și C, precum și a patologiei hepatice asociate obezității și a consumului excesiv de alcool. Mai mult de 90% dintre pacienții cu CHC prezintă în antecedentele personale patologice un istoric de inflamație și fibroză hepatică.

CSH activate intervin în inițierea și progresia carcinomului hepatocelular prin mecanisme multiple care se întrepătrund, nefiind strict delimitate. De asemenea, CSH activate sunt implicate în apariția metastazelor hepatice ca urmare a răspunsului inflamator generat de stimuli proveniți de la neoplasme gastrointestinale și extradigestive. În plus, CSH peritumorale activate pot fi utilizate ca markeri ai prognosticului nefavorabil și recidivei CHC, fiind asociate formelor agresive de CHC.

Inhibarea activității CSH ar putea reprezenta o posibilă țintă în profilaxia și terapia neoadjuvantă a CHC. Pentru elaborarea unor strategii terapeutice viitoare, este necesară elucidarea mecanismelor fiziopatologice ce vizează progresia de la inflamație la fibroză și CHC.

Cuvinte cheie: celule stelate hepatice, carcinogeneză, carcinom hepatocelular

ABSTRACT

The main phenomenon in the development of hepatic fibrosis is represented by the activation of hepatic stellate cells (HSC), triggered by inflammation and chronic liver injury. After their activation, proliferation takes place, accompanied by an increase in extracellular matrix synthesis and its subsequent degradation. Liver cirrhosis is considered a precancerous state which may lead to hepatocellular carcinoma (HCC).

The incidence of HCC is on the rise in Europe, North America and Asia, especially because of hepatitis B and C viruses, as well as hepatic pathology associated with obesity and excessive alcohol consumption. More than 90% of the HCC patients have prior events of inflammation and hepatic fibrosis.

Activated HSCs influence the initiation and progression of HCC through multiple interlinked mechanisms, without clear demarcation. Also, activated HSCs are implicated in liver metastasis as a result of the

Adresă de corespondență:

Conf. Univ. Dr. Cristin Constantin Vere, Universitatea de Medicină și Farmacie, Str. Petru Rareș, Nr. 2-4, Craiova
e-mail: vere_cristin@yahoo.com

inflammatory response generated by stimuli from gastrointestinal and other neoplasms. Additionally, activated peritumoral HSCs can be used as nefarious prognostic markers and HCC recurrences, being associated with aggressive HCCs.

Inhibition of their activation could represent a possible target in the profilaxy and neo-adjuvant therapy of HCC. In order to develop future therapeutic strategies, it is necessary to uncover the physiopathological mechanisms implicated in the progression from inflammation and fibrosis towards HCC.

Key words: hepatic stellate cells, carcinogenesis, hepatocellular carcinoma

INTRODUCERE

Activarea celulelor stelate hepatice (CSH), ca urmare a inflamației și leziunii cronice hepatice, reprezintă principalul fenomen în inițierea și progresia fibrozei hepatice – factor de risc major în apariția carcinomului hepatocelular (CHC) (1).

Odată activate, CSH se transformă în celule *miofibroblast-like* ce sintetizează excesiv colagen de tip I, constituentul majoritar al matrixului extracelular (MEC). Acumularea acestuia însoțită de afectarea degradării sale sunt principalele fenomene responsabile de apariția fibrozei hepatice.

CSH activate intervin în hepatocarcinogenează prin inițierea semnalizării autocrine mediate de factorul de creștere transformată β (TGF- β) și prin acumularea în nucleul hepatocitelor neoplazice a β -cateninei (2,3). TGF- β sintetizat de CSH activate stimulează progresia tumorală a hepatocitelor neoplazice și induce totodată transformarea celulelor epiteliale în celule mezenchimale, amplificând semnalizarea mediată de factorul de creștere derivat din trombocite (PDGF) la nivelul hepatocitelor oncogenice transformate Ras.

O ipoteză a inițierii tumorogenezei CHC vizează efectul combinat al mai multor factori de creștere sintetizați de către CSH activate: PDGF, factorii de creștere fibroblastică (FGF) 1 și 2, factorul de creștere *insulin-like* (IGF) (4).

În CHC, CSH activate cresc considerabil activitatea căilor de semnalizare mediate de factorul nuclear kappaB (NF-kB) și de kinazele reglate extracelular (ERK). Căile NF-kB și MAP kinaze/ERK intervin în progresia CHC prin stimularea proliferării și inhibarea apoptozei celulelor tumorale (5).

Mai multe studii imunohistochimice au raportat o creștere a numărului de CSH activate la nivelul sinusoidelor tumorale, septurilor fibroase, precum și în capsula tumorală (6,7).

Studii recente au evidențiat rolul major al CSH atât în inhibarea răspunsului imun la nivel

hepatic, cât și în stimularea neoangiogenezei la pacienții cu infecție cronică hepatică virală (8, 9,10,11). Totodată, a fost demonstrată experimental implicarea CSH în apariția metastazelor hepatice ca urmare a răspunsului inflamator generat de stimuli proveniți de la neoplasme gastrointestinale, diverse carcinoame extradigestive și melanoame maligne (12).

CSH activate sintetizează osteonectină (SPARC), tenascină-C (TNC) și seprază – o proteină activatoare a fibroblaștilor (FAP), care controlează sinteza de MEC, amplifică inflamația cronică și accelerează fibrogeneza (13,14). La pacienții cu adenocarcinom pancreatic rezecabil a fost observată amplificarea peritumorală a sintezei de osteonectină de către CSH activate (15). TNC și FAP sunt prezente în țesuturile cicatriceale, unde au rol în vindecare. FAP este asociată carcinogenezei, unde degradează componentele MEC în timpul migrării celulare, invazia MEC având loc în timpul progresiei tumorale, a angiogenezei și a metastazării. TNC este asociată creșterii tumorale (16,17). În plus, studii efectuate *in vitro*, precum și pe modele murine pe bază de xenogrefe au demonstrat că CSH pot fi activate de către celulele CHC și contribuie, prin intermediul factorilor de creștere, atât în progresia, cât și în intensificarea agresivității CHC (2, 18,19). Enzan H. și colab., prin studii imunohistochimice vizând implicarea CSH în carcinogenează, au demonstrat că CSH activate stimulează dezvoltarea stromei intratumorale și peritumorale a CHC (20,21).

IMPLICAREA CSH ÎN CARCINOGENEZĂ

Mecanismele implicate în inițierea și progresia carcinomului hepatocelular se întrepătrund, nefiind strict delimitate.

Rolul stresului oxidativ în carcinogenează

O serie de studii au demonstrat că în agresiunea hepatică cronică de orice etiologie, stresul oxidativ este indus la nivel molecular, înde-

plinind astfel un rol major în fibrogeneză și în apariția CHC (22,23,24,25,26). Celulele parenchimatose lezate eliberează specii de oxigen reactiv (ROS) exogene, care pe de o parte intervin direct în procesul de degradare celulară, iar pe de altă parte determină activarea CSH prin activarea căilor intracelulare sensibile la redox ale acestora, ceea ce duce la o creștere ulterioară a sintezei de collagen (23,25).

Totodată, CSH reprezintă o importantă sursă de ROS în fibrogeneză (27,28). În hepatocite, principala sursă de ROS o reprezintă citocromul P450 2E1. Atât în celulele Kupffer, cât și în CSH, principalele surse de ROS sunt reprezentate de fagocitic și non fagocitic nicotinamid adenin dinucleotid fosfat (NADPH) oxidaza (24,29,30).

Forma fagocitică a NADPH oxidazei sintetizată în celulele Kupffer intervine în apărarea împotriva produșilor bacterieni ce ajung la nivel hepatic prin sistemul port. NADPH oxidaza din celulele Kupffer este activată și generează ROS și ca urmare a altor stimuli în afara celor bacterieni, cum ar fi metaboliții alcoolului sau factorul de necroză tumorală- α (TNF- α). ROS produs de celulele Kupffer are efecte proinflamatorii și sensibilizează hepatocitele la stimuli apoptotici, fiind astfel implicat în fibrogeneză și carcinogeneză. Studii recente efectuate *in vitro* au arătat că CSH activate sintetizează forma non-fagocitică a NADPH oxidazei și au demonstrat astfel implicarea ROS atât în activarea altor CSH cât și în inițierea fibrogenezei (24,30). În concluzie, multiple celule parenchimatose și non-parenchimatose generatoare de ROS contribuie direct la formarea și activarea căilor implicate fie în fibrogeneză, fie în carcinogeneză.

Rolul citokinelor în carcinogeneză

Mai multe studii efectuate pe modele animale cu afectare hepatică cronică au evidențiat rolul major al citokinelor și al factorilor de creștere în fibrogeneză (31,32) și în apariția CHC (26).

TGF- β 1 reprezintă principala citokină care intervine în fibrogeneza hepatică, având un rol important în activarea miofibroblaștilor (33). TGF- β , TNF- α și matrix metaloproteaza-9 (MMP-9) sunt sintetizate de către celulele Kupffer activate și îndeplinesc un rol major în activarea, proliferarea celulară, sinteza crescută de collagen I și eliberarea retinoizilor de către CSH (34,35,36). Inflamația hepatică este indusă prin diferite mecanisme de către alte molecule cu activitate profibrogenică, precum substanțele vasoconstrictoare norepinefrină și angiotensină (37), cele

cu un puternic efect mitogen cum ar fi PDGF (38) sau adipokine precum leptina (39, 40).

Brenner DA și colab. au raportat o creștere a nivelurilor de TGF- β în CHC, corelată cu acumularea de collagen și cu scăderea degradării acestuia, modificări caracteristice și fibrogenezei hepatice (33).

Factorul de creștere a țesutului conjunctiv (CTGF) intervine în fibrogeneză prin remodelarea MEC, datorită capacității sale de a stimula atât sinteza de MMP, cât și a inhibitorilor tisulari ai metaloproteazelor (TIMPs), având astfel un potențial de a activa sinteza, dar și degradarea MEC. Liu J. și colab. au evidențiat, pe modele animale cu xenogrefe, o creștere a activității căii de semnalizare canonical Wnt/ β -catenină dintre proteina nucleului virusului hepatitic C (HCV) și celulele CHC. Ca urmare a acestei semnalizări, sinteza CTGF este intensificată, ceea ce accelerează creșterea tumorală, invazia și migrarea, dar nu și angiogeneza, din cauza legării de factorul de creștere a endotelului vascular (VEGF) și implicit a blocării acestuia (41,42). Liniile celulare ale CHC uman sintetizează niveluri crescute de CTGF pentru a forma tumori cu stromă bogat reprezentată. Maurer SK și colab. au demonstrat o diminuare a sintezei CTGF ca urmare a blocării căii de semnalizare intracelulare BMP-7/TGF- β 1, rezultând tumori cu stromă redusă (43).

Un alt studiu ce a utilizat un inhibitor al căii de semnalizare mediate de TGF- β , LY2109761 a raportat o diminuare a sintezei CTGF, urmată de o reducere a creșterii tumorale. Ca urmare a stimulării paracrine a celulelor neoplazice prin intermediul TGF- β , fibroblaștii asociați cancerului (CAF) sintetizează CTGF (44). CAF își au originea în celule endoteliale, putând declanșa transdiferențierea endotelial-mezenchimală a acestora (44). Un studiu recent a demonstrat implicarea CAF generat de celulele stelate în creșterea rezistenței la chimioterapia sau radioterapia asociate cancerului pancreatic (45). Prin analogie, CSH pot fi o sursă de CAF în CHC.

Rolul receptorilor Toll-like în carcinogeneză

Răspunsul imun înnăscut reprezintă prima linie de protecție a organismului împotriva patogenilor microbieni, fiind mediată prin intermediul macrofagelor și al celulelor dendritice. Deși inițial a fost considerat un răspuns non-specific, acesta diferențiază o serie de patogeni prin intermediul receptorilor de recunoaștere ai pattern-ului (PRRs), cum ar fi receptorii *Toll-like* (TLRs). Acești receptori identifică componente microbiene cunoscute ca pattern-uri moleculare asociate patogenului (46). În organismul uman

există 10 tipuri de TLRs, fiecare tip având rol în identificarea structurilor distincte ale bacteriilor, virusurilor sau fungilor. Cele mai cunoscute familii de receptori TLR sunt TLR2 și TLR4. TLR4 deține, de asemenea, un rol important în identificarea liganzilor endogeni eliberați de celulele lezate sau în apoptoză (46,47).

CSH intervin în semnalizarea inflamatorie ce declanșează răspunsul imun înăscut, prin intermediul receptorilor de recunoaștere TLR4 identificați imunohistochimic pe suprafața CSH activate și a celulelor Kupffer. Un studiu pe model animal a evidențiat o diminuare a infiltrării locale cu macrofage și o ameliorare a leziunii și fibrozei hepatice induse experimental prin deleția genetică a receptorului TLR4. Ca urmare a blocării receptorului TLR4 de către liganzi lipozaharidici, se activează o cale de semnalizare intracelulară ce include activarea NF-κB (48,49).

Activarea receptorilor TLR poate fi declanșată de virusul hepatitic B (VHB), C (VHC), boala alcoolică hepatică și steatohepatita non-alcoolică (NASH), afecțiuni implicate în apariția CHC (50, 51). Studii efectuate pe model animal au raportat o inhibare a replicării virale a VHB ca urmare a blocării receptorilor TLR4 și TLR9 cu liganzii acestora (52). În absența Ag HBe, replicarea VHB se asociază cu stimularea căii de semnalizare TLR2, ceea ce duce la o creștere a sintezei de TNF-α, demonstrând o potențială interacțiune între VHB și răspunsul imun înăscut (52,53).

VHC activează celulele responsabile cu răspunsul imun înăscut, determinând inflamația hepatică. Nucleul VHC și proteinele NS3 activează receptorii TLR2 de pe membrana monocitelor și receptorii TLR4 de pe suprafața macrofagelor și a CSH activate, determinând sinteza de citokine inflamatorii prin intermediul căilor de semnalizare mediate de NF-κB și de kinaza terminală c-Jun NH-2 (JNK) (54).

TRIF este o componentă a sistemului imun înăscut și are rol în recunoașterea virală și în activarea interferonului (IFN) tip I. De receptorii TLR4 se cuplează proteina adaptoare a receptorilor Toll/IL1 (TIR), un domeniu ce conține adaptorul ce induce IFN-β (TRIF), ceea ce determină activarea factorului 3 reglator al interferonului (IRF3), declanșând producerea IFN tip I. La nivelul macrofagelor, proteina NS3 interacționează direct cu serin protein kinaza - TBK1, ducând atât la o diminuare a interacțiunilor dintre TBK1 și IRF3, cât și la o inhibare a transcripției IRF3 și a IFN. Totodată, proteina NS3 asociată VHC inhibă activarea NF-κB și IRF3 prin diminuarea TRIF (54). Zhao XJ și colab. au raportat apariția steatozei hepatice în boala

cronică hepatică etanolică, ca urmare a afectării semnalizării macrofagelor prin intermediul TNF, ulterior legării promoterului TNF de TRIF și IRF3 (55).

Lipozaharidele (LPZ) activează receptorii TLR4 de pe suprafața celulelor Kupffer și CSH, crescând sinteza citokinelor proinflamatorii. Studii efectuate pe model animal au arătat o diminuare a NASH și a fibrozei, ca urmare a inducerii unui deficit în sinteza factorului 2 de diferențiere mieloidă și a reducerii numărului TLR, consecutivă administrării tratamentului antibiotic. Un studiu recent pe animale de laborator a demonstrat o diminuare a acumulării lipidelor intrahepatice în cazul NASH cu deficit de metionină/colină și TLR4, dar cu număr normal de TLR2 (56).

Yu LX și colab. au efectuat un studiu experimental pe șoareci cu CHC indus chimic cu dietilnitrozamină, care prezentau o diminuare a numărului de receptori TLR4 și de gene primare responsabile de diferențierea mieloidă 88 (MyD88), dar fără deficit de receptori TLR2. În urma acestui studiu, au raportat o diminuare în incidența, mărimea și numărul celulelor canceroase induse chimic, demonstrând astfel rolul important al TLR4 în inițierea hepatocarcinogenezei (57). Hepatocitele apoptotice, ca urmare a acțiunii dietilnitrozaminei, activează și stimulează, prin intermediul TLRs, atât celulele mioeloidice – celule Kupffer, cât și CSH, să sintetizeze citokine proinflamatorii și hepatomitogene ce pot iniția apariția CHC.

Rolul semnalizării NF-κB în carcinogenază

Inflamația cronică hepatică duce la activarea celulelor Kupffer care eliberează la nivel local citokine proinflamatorii precum TNF-α și interleukinele (IL) 1β și 6 (58,59). Activarea celulelor Kupffer determină creșterea semnalizării intracelulare mediate de NF-κB și eliberarea ulterioară de citokine proinflamatorii, printre care TNF-α și proteina chemoattractantă pentru monocite (MCP-1), ceea ce declanșează activarea CSH (60).

Un studiu recent a demonstrat că CSH activate favorizează carcinogeneza prin intensificarea activității căii de semnalizare NF-κB mediate (5). Factorii de transcripție ai NF-κB au un rol major în reglarea răspunsului imun adaptativ și înăscut, a inflamației și a supraviețuirii celulare (61,62). O serie de stimuli proinflamatori activează NF-κB, în principal prin fosforilarea dependentă de IκB kinază (IKK) sau prin degradarea proteinelor inhibitorii ale κB (IκB). IKK este alcătuită din două subunități catalitice – IKKα și IKKβ

– precum și dintr-o componentă reglatorie NEMO/IKK γ . Activarea IKK are loc în principal prin intermediul IKK β (63). Absența IKK β crește sensibilitatea celulară la declanșarea apoptozei de către TNF- α (64).

Blocarea apoptozei celulare duce la inițierea tumorogenezei și are loc ca urmare a mutațiilor ADN-ului, alături de inițierea semnalizării NF-kB. Primul argument în implicarea NF-kB în carcinogeneză este dat de codificarea unei subunități NF-kB de către proteina c-rel, un omolog celular oncogen al v-rel, toate aceste proteine având comun un domeniu Rel omolog care se leagă de ADN (65). Transformarea oncogenică este favorizată de sinteza crescută a proteinelor normale Rel. Studii recente au demonstrat că activarea NF-kB intervine în inițierea și progresia CHC. Inițierea carcinogenezei este corelată în special cu implicarea căii de semnalizare NF-kB în controlul unei serii de procese, cum ar fi proliferarea, apoptoza, angiogeneza, invazia și metastazarea (65,66).

TNF- α , un important factor declanșator al activării NF-kB, este sintetizat de către macrofage și CSH activate și are un rol major în inflamație, fiind totodată și un factor accelerator al proliferării celulare (66). Odată activat, NF-kB intervine în controlul sintezei unui număr crescut de factori antiapoptotici, cum ar fi cIAPs, c-FLIP și BclX, cu rol major în blocarea apoptozei celulelor canceroase (67).

Studii efectuate *in vivo* și *in vitro* au demonstrat rolul NF-kB în inhibarea apoptozei CSH activate, printr-un mecanism ce implică blocarea cascadei de semnalizare JNK și a căii AP-1 responsabile de modularea apoptozei celulare (68, 69).

Rolul JNK în carcinogeneză

Proliferarea locală a CSH activate are loc ca urmare a stimulării factorilor de creștere. PDGF are cel mai puternic efect mitogen asupra CSH. Receptorii pentru PDGF apar în stadiile timpurii ale activării CSH, amplificând răspunsul la stimularea sa (70). În țesutul hepatic lezat, CSH activate proliferază ca urmare a stimulării PDGF, realizate prin intermediul proteinkinazelor mitogen activate (MAPK) de tipul JNK, ERK și al p38. Activarea JNK și ERK induce proliferarea CSH activate, în timp ce activarea p38 inhibă răspunsul proliferativ al acestora (71). PDGF stimulează activarea kinazei AKT și p70 în CSH activate prin intermediul fosfatidilinositol 3 kinazei (PI3-K), ceea ce determină o exacerbare a chemotaxiei și a proliferării CSH activate (72).

JNK aparține familiei de MAPK, din care fac parte și ERKs și p38. Subgrupul JNK al MAPKs

este codificat de către trei loci: JNK1 și JNK2 sintetizați în toate țesuturile, și JNK3 sintetizat în special la nivelul cordului, testiculelor și creierului (73). JNK este activată de semnale de stres și de stimuli proinflamatori, activitatea lor crescând ca urmare a fosforilării de către MAPK kinaze, MKK4 și MKK7 (74). Un studiu recent efectuat pe model animal a demonstrat rolul major al JNK în progresia de la steatoză la steatohepatită și fibroză (75).

Kluwe J. și colab. au studiat steatoza hepatică, inflamația și gradul de fibroză la șoareci cu o dietă bazată pe L-amino-acid și cu deficit de colină. Rezultatele au arătat o reducere a inflamației și a fibrozei hepatice în cazul lotului de șoareci cu deficit de JNK1, comparativ cu lotul martor, în pofida unui nivel similar al steatozei hepatice. În concluzie, nivelul de JNK1 este corelat cu steatohepatita indusă de dietă și cu gradul de fibroză hepatică (46). Prin fosforilarea unei serii de gene asociate carcinogenezei, JNK îndeplinește un rol major atât în inițierea cât și în progresia CHC. Factorii de creștere stimulează receptorii tirozinkinazici, activând calea de semnalizare mediată de JNK.

Activarea JNK intervine și în controlul transcripțional al factorului de creștere endotelial (EGF) (37). Efectul proliferativ celular consecutiv activării JNK a fost demonstrat într-un studiu imunohistochimic pe model animal cu hepatectomie parțială, ce a cuprins un lot de șoareci cu deficit de JNK1 și un lot martor. La 48 de ore după intervenție, lotul martor prezenta un număr de hepatocite proliferative cu 80% mai mare, comparativ cu lotul deficitar în JNK1 (76). Sinteza mai multor factori angiogenici este de asemenea controlată de către JNK. VEGF stimulează proliferarea și migrarea celulelor endoteliale, sinteza sa de către CSH activate fiind de asemenea mediată de activarea JNK (77,78).

Rolul transformării epitelial-mezenchimală în carcinogeneză

Transformarea epitelial-mezenchimală (TEM) poate apărea și la nivel hepatic. În ficatul fetal, TEM a unor celule stromale *fibroblast-like* a fost evidențiată cu ajutorul markerilor epiteliali (α -fetoproteina (AFP), albumina (Alb), citokeratinele CK18, CK7) și mezenchimali (α -SMA, osteopontina și colagenul I) (79,80). TEM a fost observată numai în cazul inflamației sau leziunii hepatice prezente la pacienții adulți (79).

Deși transformarea epitelului biliar în fibroblaști a fost evidențiată în numeroase studii ce au vizat CHC metastatic, aceasta rămâne în continuare controversată în contextul fibrozei hepatice.

Un studiu recent efectuat pe modele murinice a observat neimplicarea TEM a colangiocitelor în generarea de miofibroblaști, demonstrând astfel absența TEM în fibroza hepatică (81).

TEM hepatocelulară a fost identificată experimental atât la pacienți, cât și pe modele animale, prin evidențierea markerilor epiteliali sintetizați de către celulele CHC. În cazul CHC bine diferențiat, E-caderina a fost identificată imunohistochimic atât pe membrana hepatocitelor tumorale, cât și a celor non-canceroase de la nivelul țesutului parenchimos adiacent. În cazul CHC slab diferențiat, E-caderina este localizată în citoplasmă sau este frecvent absentă. Afectarea complexelor E-caderină/ β -catenină de la nivelul membranei celulare este caracteristică TEM hepatocelulare (82). Scăderea sintezei de E-caderină se asociază cu translocarea nucleară a β -cateninei, existând o corelație semnificativă cu metastazarea intrahepatică și prognosticul nefavorabil în cazul pacienților cu CHC (82).

CSH activate intervin indirect în TEM hepatocelulară prin inițierea semnalizării autocrine mediate de TGF- β și prin acumularea β -cateninei în nucleul hepatocitelor neoplazice (2).

Rolul CSH în angiogenază

CSH activate intervin în progresia tumorală, prin afectarea remodelării MEC și prin secreția angiopoietinei ce induce angiogeneza (83,84). Hipoxia locală activează CSH prin stimularea eliberării factorului inductibil al hipoxiei (FIH)-1 α , declanșând astfel fibrogenza. La rândul său, FIH-1 α stimulează sinteza VEGF, ceea ce duce la o intensificare a sintezei colagenului de tip I de către CSH activate (85), amplificând angiogeneza.

Studiile experimentale pe medii de cultură au raportat activarea CSH ca urmare a stimulării generate de hepatocitele transformate malign (18). Olaso și colab. au demonstrat *in vitro* rolul proangiogenic al CSH activate tumoral. CSH activate ca urmare a semnalizării provenite de la celulele tumorale, stimulează angiogeneza prin creșterea sintezei VEGF (86). În angiogeneza asociată progresiei tumorale a CHC, pe lângă sinteza de VEGF de către CSH activate, se adaugă și VEGF sintetizat de către hepatocitele transformate malign (87).

Un studiu efectuat pe șoareci a demonstrat că injectarea unor celule de carcinom colonic determină apariția de foci metastatici hepatici, urmată de activarea CSH. CSH activate stimulează migrarea și proliferarea celulelor neoplazice, dar și angiogeneza, ca urmare a intensificării

sintzei factorului de creștere hepatocitar (HGF), TGF- β 1 și VEGF. La rândul lor, celulele tumorale produc PDGF-AB, amplificând proliferarea și migrația CSH activate (88).

Wirz și colab. au demonstrat *in vitro* pe coculturi că CSH activate suferă o transformare fenotipică în celule musculare netede funcționale, formând structuri asemănătoare capilarelor, ca urmare a interacțiunii cu celulele endoteliului sinusoidal. În concluzie, celulele tumorale activează CSH, iar rolul lor în neoangiogenază a fost arătat ca urmare a interacțiunilor lor cu celulele endoteliului sinusoidal (84).

Rolul CSH în invazia și metastazarea CHC

CSH activate sintetizează și secretă Laminină-5 (Ln-5), activând astfel calea de semnalizare MEK/ERK, cu rol în stimularea migrării celulelor CHC. Experimente *in vitro* au demonstrat implicarea CSH în proliferarea și migrarea celulelor CHC, prin intermediul proteinelor și al factorilor de creștere sintetizați de acestea, cu rol în activarea căii de semnalizare ERK (5).

Studiile recente au demonstrat implicarea CSH în migrarea celulelor CHC, prin sinteza de Ln-5. În medii de cultură, CSH activează calea de semnalizare ERK prin eliberarea Ln-5. Migrarea celulelor CHC a fost astfel blocată ca urmare a inhibării semnalizării prin calea ERK. Giannelli și colab. au evidențiat niveluri diferite ale sintezei de Ln-5 în CSH activate într-un studiu comparativ efectuat pe celule CHC metastatice și non-metastatice (89).

Un studiu imunohistochimic recent a arătat rolul CSH activate în progresia CHC, prezența lor în țesutul peritumoral fiind corelată cu o intensificare a invaziei vasculare și cu forme mai agresive ale CHC (90). CSH intervin prin mai multe mecanisme în modularea fenotipului invaziv al celulelor CHC. Un prim mecanism este reprezentat de sinteza și eliberarea de către CSH activate a Ln-5, această izoformă de laminină favorizând adeziuni puternice, precum invazia tumorală și migrarea (91).

Aceste roluri antagoniste depind de statusul diferit al moleculei biochimice a Ln-5, datorită faptului că remodelarea proteolitică a lanțului γ 2 are ca efect transformarea dintr-o moleculă staționară într-una mobilă (92,93).

Theret și colab. au raportat o exacerbare a remodelării MEC corelată cu progresia tumorală a CHC, ca urmare a intensificării sintezei și secreției de MMP-2 și tipul 1 membranar de MMP (MT1-MMP) de către CSH activate (83). Clivajul Ln-5 la nivel tumoral are loc ca urmare a dezechilibrului proteolitic dintre MMP2 și inhibitorii tisulari TIMP-2 (94).

Ca urmare a clivajului lanțului γ 2 al Ln-5, este facilitată mobilitatea și invazia celulelor CHC. Un alt mecanism prin care CSH activate induc apariția unui fenotip tumoral cu o agresivitate și invazivitate mai mari, se realizează prin intermediul secreției Ln-5 ce declanșează TEM a celulelor CHC (95). Implicarea Ln-5 în tumorigeneză se realizează prin intermediul domeniilor sale G4-5, fiind demonstrată într-un studiu ce a urmărit calea de activare MEK/ERK în carcinomul celular scuamos (96).

Interacțiunile dintre Ln-5 și celulele CHC depind în mare măsură de influența mediului tisular asupra proprietăților biologice ale CHC. Ca urmare a acestor interacțiuni, CHC poate evolua către prognostice clinice diferite.

În concluzie, CSH activate sintetizează și eliberează molecula completă de Ln-5, care activează calea de semnalizare MEK/ERK responsabilă de migrarea celulelor CHC. Experimental, progresia și migrarea celulelor CHC induse de CSH au fost inhibitate prin intermediul anticorpilor anti Ln-5. Studiile efectuate pe medii de cultură ce au utilizat CSH activate ce prezentau imunodepleție Ln-5, au evidențiat o diminuare a migrării celulelor CHC (5). Inhibarea domeniilor G4-5 ale Ln-5 implicate în carcinogeneză reprezintă o potențială țintă terapeutică viitoare (96).

Influența CSH activate intratumoral asupra limfocitelor T

Inhibiția răspunsului limfocitelor T de către CSH activate intratumoral contribuie la invazia și metastazarea CHC. Vinas O. și colab. au demonstrat un nou rol al CSH – acela de celule intrahepatice specializate în prezentarea antigenului (APCs) care activează și stimulează proliferarea limfocitelor T, precum și declanșează o serie de răspunsuri specifice ale acestora ce vizează antigene proteice și lipidice (97,98). Yunhong Xia și colab., pe baza unor experimente realizate *in vitro*, au raportat că CSH tumorale induc apoptoza limfocitelor T activate, contribuind astfel la invazia și metastazarea CHC (99). CSH tumorale sunt caracterizate de modificări structurale caracteristice, precum și de o creștere a sintezei de collagen (18).

Deși hepatita cronică virală activă sau boala hepatică autoimună sunt asociate cu o creștere semnificativă a numărului de limfocite T activate și cu apariția fibrozei hepatice, la nivel hepatic este prezentă imunosupresia. O cauză principală a imunosupresiei hepatice o reprezintă activarea CSH ce induc, prin intermediul căii de semnalizare mediate de ligandul 1 al apoptozei (B7-H1), apoptoza limfocitelor T activate (100,101).

CSH inactive sintetizează molecule cu rol major în imunoreglare. CSH tumorale inhibă răspunsul limfocitelor T, demonstrând astfel apariția unei noi activități imunoreglatoare ca urmare a activării acestora în CHC. Celulele CHC sintetizează molecule și citokine ce declanșează activarea CSH. Activarea CSH are loc în primul rând ca urmare a blocării receptorilor membranari MHC clasa I, clasa II, CD86 și CD54, a stimulării receptorilor inhibitori ai apoptozei de pe suprafața celulară, prin intermediul liganzilor (B7-H1), cât și prin amplificarea sintezei de citokine inflamatorii (IL-6, IL-1) și inhibitorii (TNF- α , TGF- β 3). Rolul co-stimulator și de prezentare a antigenului de către CSH tumorale este diminuat ca urmare a blocării receptorilor MHC clasa I, clasa II, CD86 și CD54. Activitatea imunosupresoare a CSH tumorale este generată ca urmare a stimulării receptorilor B7-H1 (100). Identificarea B7-H1 pe suprafața CSH tumorale sugerează interacțiunea dintre răspunsul proinflamator și toleranța imună a micromediului CHC.

Un studiu recent efectuat *in vitro* a demonstrat că inhibarea limfocitelor T de către CSH tumorale favorizează invazia și migrarea CHC. Efectuarea unor studii *in vivo* ar fi utilă pentru elucidarea interacțiunilor dintre CSH tumorale și metastazele CHC, în vederea dezvoltării de noi preparate terapeutice în tratamentul metastazelor CHC (102).

Rolul CSH în metastazare

Experimente efectuate *in vitro* pe trei tipuri celulare de CHC au arătat că CSH umane activate determină proliferarea și migrarea acestora. Un alt studiu efectuat pe model animal a evidențiat, de asemenea, implicarea CSH activate în creșterea și proliferarea celulelor CHC, demonstrând astfel amplificarea tumorigenității CHC ca urmare a semnalizării provenite de la CSH activate. Aceasta se poate realiza prin creșterea activității NF- κ B și ERK în celulele CHC. Activarea anormală a căilor de semnalizare MAP kinază/ERK este responsabilă de progresia CHC uman. Creșterea activării ERK induce pe de o parte proliferarea celulelor CHC, iar pe de altă parte inhibă intrarea acestora în apoptoză (103).

Honma și colab. au demonstrat că o activitate ERK crescută influențează migrarea și invazivitatea celulelor CHC, intervenind în metastazarea intrahepatică a CHC (104). Activarea factorului de transcripție NF- κ B reprezintă un eveniment major inițial implicat în progresia neoplazică hepatică. NF- κ B deține un rol important în semnalizarea dintre inflamația hepatică și factorii de creștere cu oncogeneza hepatică

(105,106). Experimente *in vitro* și *in vivo* au arătat că activarea căilor de semnalizare mediate de NF-kB favorizează supraviețuirea celulelor CHC, intervenind în dezvoltarea neoplazică (106,107).

Un studiu recent pe model animal a arătat că interacțiunile dintre căile de semnalizare mediate de iNOS, NF-kB și ERK contribuie la progresia CHC (108). Alt studiu, efectuat pe mediu de cultură, a demonstrat că blocarea căii de semnalizare mediate de iNOS are un efect inhibitor asupra migrării, dar nu și a creșterii celulare stimulate de către CSH activate.

CSH activate și oxidul nitric stimulează transcripția și sinteza IL-8 de către celulele neoplazice ale CHC, prin intermediul căilor de semnalizare NF-kB și ERK. Sinteza IL-8 în CHC uman este corelată cu invazia vasculară dar nu și cu angiogeneza tumorală. Pe lângă stimularea angiogenezei, CSH activate favorizează creșterea tumorală a CHC prin amplificarea dezechilibrului dintre proliferarea și apoptoza celulară (109, 110,111).

CSH activate sintetizează diferiți factori de creștere, MMPs, chemokine și citokine prin intermediul cărora amplifică semnalizarea prin căile NF-kB și ERK și induc proliferarea, migrarea și sinteza IL-8 de către celulele CHC.

Neaud și colab. au evidențiat rolul HGF sintetizat de către CSH activate în amplificarea invazivității celulelor CHC (19). HGF activează calea de semnalizare ERK/MEK și PI3K, stimulând astfel sinteza de citokine, precum IL-8 și VEGF de către celulele carcinomatoase (112). În hepatocarcinogeneză sunt implicați și alți factori de creștere sintetizați de către CSH activate, precum TGF- β , FGF, PDGF și IGF (2). Aceștia acționează prin mecanisme fiziopatologice diferite, având efecte diferite în funcție de tipurile de linii celulare ale CHC.

CSH influențează dezvoltarea tumorilor sau a metastazelor hepatice prin remodelarea MEC și prin sinteza de factori chemotactici. Celulele neoplazice stimulează atât *in vitro* cât și *in vivo* sinteza factorilor tumorigenici de către CSH activate, demonstrând existența unui mecanism de feedback între celulele neoplazice și (mio)fibroblaștii stromali în declanșarea carcinogenezei (4,83,113).

Rolul CSH peritumorale activate în aprecierea prognosticului nefavorabil și recidivei CHC

Pe baza mai multor studii clinice, a fost evidențiată o corelație semnificativă între prognosticul nefast al CHC și numărul de CSH peritumorale activate. Un studiu efectuat pe două

loturi de pacienți a raportat o evoluție nefavorabilă în cazul pacienților cu un număr mai mare de CSH peritumorale activate, comparativ cu cei ce prezentau un număr redus. CSH peritumorale activate sunt asociate formelor agresive de CHC, cum ar fi tumori de dimensiuni mai mari, invazivitate vasculară crescută, lipsa încapsulării tumorale, un stadiu TNM avansat și niveluri ridicate de AFP. Numărul de CSH peritumorale activate reprezintă un marker de prognostic pentru o evoluție nefavorabilă. Asocierea acestuia cu nivelurile SPARC sau FAP sintetizate de CSH activate îmbunătățește acuratețea prognosticului (90).

Yuki K. și colab. au demonstrat că recidiva CHC se localizează în principal în țesutul hepatic peritumoral (114).

Există două forme de recidivă tumorală intrahepatică a CHC, prima reprezentată de micrometastazele intrahepatice (MMIH) cu originea în tumora primară, iar cea de-a doua – apariția multicentrică (AM). Diferențierea între aceste forme este greu de stabilit. Pe baza studiilor clinice, s-a raportat că MMIH cu origine din tumora primară reprezintă recidiva tumorală timpurie, la mai puțin de un an post rezecție tumorală, în timp ce AM este considerată recidiva tardivă, la mai mult de un an (115,116).

Prognosticul de supraviețuire post recidivă a fost studiat pe două loturi de pacienți, primul cu recidivă timpurie – MMIH, iar cel de-al doilea cu recidivă tardivă - AM. Studiul a vizat de asemenea gradul de activare al CSH peritumorale pentru ambele loturi. Rezultatele studiului au raportat un prognostic nefavorabil în cazul pacienților cu recidivă timpurie. În același timp, în cazul acestui lot de pacienți a fost evidențiată de asemenea o intensificare a activării CSH peritumorale. În concluzie, utilizarea CSH peritumorale activate ca marker prognostic vizează în special implicarea lor în inițierea și progresia MMIH. Totodată, creșterea numărului de CSH activate în țesutul peritumoral reprezintă o bază de apariție și dezvoltare a micrometastazelor hepatice (117).

În cazul inflamației hepatice, are loc o amplificare a sintezei de proteine implicate în fibrogenază, de tipul FAP, SPARC și TNC de către CSH activate (13,15,118).

Sinteza crescută de FAP de către CSH peritumorale activate se corelează cu creșterea nivelului seric al γ -glutamyltransferazei, demonstrând astfel că CSH peritumorale activate agravează fibroza și inflamația cronică, generând mediul propice supraviețuirii tumorale. Astfel, CSH peritumorale activate pot fi un indicator al unui prognostic nefast și ca urmare a implicării

lor în răspunsul inflamator. Atât celulele reglatorii T Foxp3+ (Tregs) cât și macrofagele CD68+ (MΦ) sunt markeri ai unui prognostic clinic nefavorabil. Mai multe studii au raportat o corelație între CSH peritumorale activate și acești markeri prognostici (119,120,121).

Mai mulți autori au evidențiat implicarea MΦ și Tregs în căile imunosupresive asociate CHC (119,121,122). Imunosupresia peritumorală este amplificată ca urmare a interacțiunii acestora cu CSH peritumorale activate (8,123,124). Astfel se poate concluziona că CSH peritumorale activate intervin în dezvoltarea unui mediu peritumoral imunosupresiv ce favorizează recidiva CHC.

Pe lângă valoarea lor prognostică, CSH peritumorale activate pot fi utilizate și ca un marker al recidivei CHC post rezecție tumorală, datorită rolului lor proinflamator și imunosupresiv. O abordare terapeutică profilactică pentru recidiva CHC ar putea fi reprezentată de inhibarea sau reversia activării CSH peritumorale.

Rolul inhibiției și/sau inducerii apoptozei CSH în profilaxia și terapia neoadjuvantă a CHC

Reducerea stresului oxidativ reprezintă o potențială țintă terapeutică în prevenirea fibrogenezei și, astfel, a apariției CHC. Un studiu experimental pe model animal cu ciroză hepatică indusă prin ligaturarea ductului biliar comun, a raportat o diminuare a fibrozei hepatice prin reducerea stresului oxidativ, ulterior administrării IGF-1, un important reglator al metabolismului intermediar (125).

O altă țintă terapeutică în prevenirea carcinogenezei o reprezintă blocarea căilor de semnalizare mediate de citokine cu ajutorul antagoniștilor receptorilor citokinici. O serie de studii au evidențiat rolul major al căilor de semnalizare mediate de TGF-β și PDGF atât în fibrogeneză cât și în tumorigeneză, consecutiv activării CSH (126). Prin elucidarea rolului major al citokinelor proliferative de tipul PDGF, TGF-α și FGF în apariția fibrozei hepatice, ca urmare a stimulării receptorilor tirozinkinazici de pe suprafața CSH activate, au putut fi elaborați o serie de inhibitori ai acestor căi de semnalizare. Beno și colaboratorii au raportat blocarea mitogenezei induse de PDGF cu ajutorul lipooxigenazei, un inhibitor al acestuia (127). Rezultate asemănătoare au fost obținute și după utilizarea inhibitorilor acizului γ-linoleic și ai receptorilor PPARγ (128).

Un studiu pe model animal cu ciroză hepatică indusă experimental, a evidențiat o reducere a activității TGF-β1, urmată de o diminuare ulterioară a numărului de CSH activate secundar administrării HGF (129).

Mikula și colab. au raportat o diminuare a fibrozei hepatice și a progresiei tumorale după inhibarea căii de semnalizare celulară mediate de TGF-β dintre hepatocite și CSH activate, cu un antagonist Smad7 (2). Un studiu recent a evidențiat o diminuare a fibrozei și a tumorigenezei după blocarea căilor de semnalizare mediate de PDGF și TGF-β de la nivelul CSH activate, cu ajutorul unui inhibitor de tirozinkinază PTK/ZK (130).

Experimental, s-a obținut o diminuare a fibrozei hepatice datorită scăderii numărului de CSH activate, ca urmare a administrării de interferon-γ, prin inhibarea sintezei ARNm a colagenului tip I, principalul constituent al MEC (131).

O reducere semnificativă în progresia fibrozei hepatice a fost obținută experimental prin reducerea TGF-β activat, la șobolan, după administrarea camostat mesylatului – un inhibitor de protează (132). Yoshiji și colab. au demonstrat, într-un studiu pe model animal, o diminuare a gradului fibrozei hepatice ca urmare a administrării unui inhibitor de receptor tirozinkinazic – imatinib mesilatul. Acesta acționează pe de o parte prin reducerea importanței a proliferării și migrării CSH activate induse de PDGF-BB, iar pe de altă parte prin diminuarea sintezei de ARNm al procolagenului α2-(I) în CSH activate (133).

Bortezomibul, un inhibitor de protează, induce apoptoza CSH prin blocarea activității NFκB, crescând timpul de înjumătățire al inhibitorilor acestuia (134).

Raetsch și colab. au obținut o reducere a gradului de fibroză hepatică prin antagonizarea efectului generat de TNF-α cu ajutorul pentoxifilinei, un derivat metilxantinic (135).

Blocarea căii de semnalizare mediate de NFκB reprezintă o altă potențială țintă terapeutică în prevenirea carcinogenezei. În această direcție, un studiu ulterior a raportat reducerea sintezei de collagen α I de către CSH activate, secundar administrării de pentoxifilină, prin inhibarea degradării de I kappa b α, care la rândul său blochează activarea NF-κB (136).

În timpul vindecării leziunii hepatice, apoptoza reprezintă mecanismul principal implicat în reducerea numărului de CSH activate (137). Astfel, o altă țintă terapeutică profilactică și neoadjuvantă în terapia CHC o reprezintă declanșarea apoptozei CSH activate. După activare, CSH activate sintetizează în exces TIMP-1 și TIMP-250, care generează un efect inhibitor asupra colagenazelor interstițiale, ducând la o diminuare a degradării MEC, urmată de acumularea acestuia. Murphy și colab. au evidențiat

efectul antiapoptotic exercitat de TIMP-1 asupra CSH activate. TIMP-1 îndeplinește un rol major în supraviețuirea CSH prin blocarea directă a apoptozei acestor celule (138). Totodată, utilizarea antagoniștilor acestuia ar putea reprezenta o potențială măsură terapeutică, prin inhibarea sintezei de collagen I și prin inducerea apoptozei CSH activate. Astfel, antagoniștii TIMP duc la o diminuare a fibrozei hepatice și o scădere a riscului de apariție a CHC (139).

Pe suprafața CSH activate, au fost identificați o serie de mediatori ai apoptozei, de tipul Bcl/Bax, Fas/FasL, precum și receptori TNF, astfel o posibilă strategie terapeutică ar putea urmări declanșarea apoptozei prin stimularea acestor mediatori (140,141).

Celulele natural killer (NK), pe lângă rolul lor în răspunsul imun înnăscut, intervin în limitarea fibrozei hepatice prin neutralizarea CSH activate (142,143) și prin eliberarea de citokine antibrotice $INF\alpha$ și $INF\gamma$ (131,144).

Apoptoza CSH a fost obținută în absența stresului oxidativ, pe un model animal, consecutiv

administrării glitoxinei, un metabolit fungic, prin eliberarea citocromului c mitochondrial și prin activarea caspazei-3 și depleția de ATP, responsabile de reducerea fibrogenzei (145).

Strategii terapeutice viitoare

CSH peritumorale activate ar putea avea un rol prognostic, permițând aprecierea evoluției bolnavilor cu CHC, precum și posibilitatea apariției metastazelor intrahepatice și a recidivei tumorale post rezecție chirurgicală.

Printr-o mai bună înțelegere a mecanismelor fiziopatologice prin care CSH activate intervin în carcinogeneză, se pot elabora pe viitor noi ținte terapeutice care să vizeze inhibarea acestora. Astfel, o terapie neoadjuvantă postoperatorie ar putea viza împiedicarea dezvoltării recidivelor în țesutul peritumoral. De asemenea, prin inducerea apoptozei sau a reversiei în stadiu inactiv a CSH peritumorale activate, ar fi posibilă scăderea incidenței recidivelor CHC, obținându-se totodată o rată mai mare de supraviețuire a pacienților.

BIBLIOGRAFIE

1. Elsharkawy A.M., Mann D.A. – Nuclear factor-kappaB and the hepatic inflammation-fibrosis-cancer axis. *Hepatology* 2007; 46:590-7.
2. Mikula M., Proell V., Fischer A.N., et al. – Activated hepatic stellate cells induce tumor progression of neoplastic hepatocytes in a TGF-beta dependent fashion. *J Cell Physiol*. 2006; 209:560-7.
3. Zhao W., Zhang L., Yin Z., et al. – Activated hepatic stellate cells promote hepatocellular carcinoma development in immunocompetent mice. *Int J Cancer*. 2011, Jan 6.
4. Batailler R., Brenner D.A. – Liver fibrosis. *J Clin Invest* 2005; 115:209-18.
5. Amann T., Bataille F., Spruss T., et al. – Activated hepatic stellate cells promote tumorigenicity of hepatocellular carcinoma. *Cancer Sci*. 2009 Apr; 100(4):646-53.
6. Enzan H., Himeno H., Iwamura S., et al. – c-smooth muscle actin-positive perisinusoidal stromal cells in human hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 1994; 19:895-903.
7. Schmitt-Griff A., Krtiger S., Bochar F., et al. – 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.
8. Yin Z., Jiang G., Fung J.J., et al. – ICAM-1 expressed on hepatic stellate cells plays an important role in immune regulation. *Microsurgery*. 2007; 27:328-332.
9. Friedman S.L. – Hepatic stellate cells: protean, multifunctional, and enigmatic cells of the liver. *Physiol Rev*. 2008; 88:125-72.
10. Chen C.H., Kuo L.M., Chang Y., et al. – In vivo immune modulatory activity of hepatic stellate cells in mice. *Hepatology*. 2006; 44:1171-81.
11. Novo E., Cannito S., Zamara E., et al. – Proangiogenic cytokines as hypoxia-dependent factors stimulating migration of human hepatic stellate cells. *Am J Pathol*. 2007; 170:1942-53.
12. Gulubova M.V. – Collagen type IV, laminin, alpha-smooth muscle actin (alphaSMA), alpha1 and alpha6 integrins expression in the liver with metastases from malignant gastrointestinal tumours. *Clin Exp Metastasis*. 2004; 21:485-94.
13. Levy M.T., McCaughan G.W., Marinos G., et al. – Intrahepatic expression of the hepatic stellate cell marker fibroblast activation protein correlates with the degree of fibrosis in hepatitis C virus infection. *Liver*. 2002;22:93-101.
14. El-Karef A., Kaito M., Tanaka H., et al. – Expression of large tenascin-C splice variants by hepatic stellate cells/myofibroblasts in chronic hepatitis C. *J Hepatol*. 2007; 46:664-73.
15. Nakatani K., Seki S., Kawada N., et al. – Expression of SPARC by activated hepatic stellate cells and its correlation with the stages of fibrogenesis in human chronic hepatitis. *Virchows Arch*. 2002; 441:466-74.
16. Lee H.O. – FAP-overexpressing fibroblasts produce an extracellular matrix that enhances invasive velocity and directionality of pancreatic cancer cells. *BMC Cancer*, 2011 Jun 13; PMID 21668992.
17. Henry L.R., Lee H.O., Lee J.S., et al. – Clinical implications of fibroblast activation protein in patients with colon cancer. *Clin Cancer Res*. 2007; 13:1736-41.
18. Faouzi S., Lepreux S., Bedin C., et al. – Activation of cultured rat hepatic stellate cells by tumoral hepatocytes. *Lab Invest*. 1999; 79:485-93.
19. Neaud V., Faouzi S., Guirouilh J., et al. – Human hepatic myofibroblasts increase invasiveness of hepatocellular carcinoma cells: evidence for a role of hepatocyte growth factor. *Hepatology*. 1997; 26:1458-66.
20. Le Pabic H., Bonnier D., Wewer U.M., et al. – ADAM12 in human liver cancers: TGF-beta-regulated expression in stellate cells is associated with matrix remodeling. *Hepatology*. 2003; 37:1056-66.
21. Enzan H., Himeno H., Iwamura S., et al. – Alpha-smooth muscle actin-positive

- perisinusoidal stromal cells in human hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 1994; 19:895-903.
22. **Kisseleva T., Brenner D.A.** – Role of hepatic stellate cells in fibrogenesis and the reversal of fibrosis. *J Gastroenterol Hepatol* 2007; 22:S73-8.
23. **Brenner D.A., Seki E., Taura K., et al.** – Non-alcoholic steatohepatitis-induced fibrosis: Toll-like receptors, reactive oxygen species and Jun N-terminal kinase. *Hepatol Res* 2011; 41:683-6.
24. **De Minicis S., Brenner D.A.** – Oxidative stress in alcoholic liver disease: role of NADPH oxidase complex. *J Gastroenterol Hepatol* 2008; 23:S98-103.
25. **Tanaka S., Mogushi K., Yasen M., et al.** – Oxidative stress pathways in noncancerous human liver tissue to predict hepatocellular carcinoma recurrence: a prospective, multicenter study. *Hepatology* 2011; 54:1273-81.
26. **Aoyama T., Inokuchi S., Brenner D.A., et al.** – CX3CL1-CX3CR1 interaction prevents carbon tetrachloride-induced liver inflammation and fibrosis in mice. *Hepatology* 2010; 52:1390-400.
27. **De Minicis S., Seki E., Paik Y.H., et al.** – Role and cellular source of nicotinamide adenine dinucleotide phosphate oxidase in hepatic fibrosis. *Hepatology* 2010; 52:1420-30.
28. **Paik Y.H., Iwaisako K., Seki E., et al.** – The nicotinamide adenine dinucleotide phosphate oxidase (NOX) homologues NOX1 and NOX2/gp91(phox) mediate hepatic fibrosis in mice. *Hepatology* 2011; 53:1730-41.
29. **Marziani M., Saccomanno S., Candelaresi C., et al.** – Clinical implications of novel aspects of biliary pathophysiology. *Dig Liver Dis* 2010; 42:238-44.
30. **Svegliati-Baroni G., De Minicis S., Marziani M.** – Hepatic fibrogenesis in response to chronic liver injury: novel insights on the role of cell-to-cell interaction and transition. *Liver Int* 2008; 28:1052-64.
31. **Kodama Y., Kisseleva T., Iwaisako K., et al.** – c-Jun N-terminal kinase-1 from hematopoietic cells mediates progression from hepatic steatosis to steatohepatitis and fibrosis in mice. *Gastroenterology* 2009; 137:1467-77.e5.
32. **Lin W., Tsai W.L., Shao R.X., et al.** – Hepatitis C virus regulates transforming growth factor beta1 production through the generation of reactive oxygen species in a nuclear factor kappaB-dependent manner. *Gastroenterology* 2010; 138:2509-18, 2518.e1.
33. **Brenner D.A.** – Molecular pathogenesis of liver fibrosis. *Trans Am Clin Climatol Assoc* 2009; 120:361-8.
34. **Gressner A.M., Lotfi S., Gressner G., et al.** – Synergism between hepatocytes and Kupffer cells in the activation of fat storing cells (perisinusoidal lipocytes). *J Hepatol* 1993; 19:117-32.
35. **Matsuoka M., Tsukamoto H.** – Stimulation of hepatic lipocyte collagen production by Kupffer cell-derived transforming growth factor beta: implication for a pathogenetic role in alcoholic liver fibrogenesis. *Hepatology* 1990; 11:599-605.
36. **Winwood P.J., Schuppan D., Iredale J.P., et al.** – Kupffer cell-derived 95 kd type IV collagenase/gelatinase B: characterization and expression in cultured cells. *Hepatology* 1995; 22:304-15.
37. **Bataler R., Schwabe R.F., Choi Y.H., et al.** – NADPH oxidase signal transduces angiotensin II in hepatic stellate cells and is critical in hepatic fibrosis. *J Clin Invest* 2003; 112:1383-94.
38. **Pinzani M., Gesualdo L., Sabbah G.M., et al.** – Effects of platelet-derived growth factor and other polypeptide mitogens on DNA synthesis and growth of cultured rat liver fat-storing cells. *J Clin Invest* 1989; 84:1786-93.
39. **Wang J., Leclercq I., Brymora J.M., et al.** – Kupffer cells mediate leptin-induced liver fibrosis. *Gastroenterology* 2009; 137:713-23.
40. **Elinav E., Ali M., Bruck R., et al.** – Competitive inhibition of leptin signaling results in amelioration of liver fibrosis through modulation of stellate cell function. *Hepatology* 2009; 49:278-86.
41. **Liu J., Ding X., Tang J., et al.** – Enhancement of Canonical Wnt/ β -Catenin Signaling Activity by HCV Core Protein Promotes Cell Growth of Hepatocellular Carcinoma Cells. *PLoS One* 2011; 6:e27496.
42. **Isao I., Takayuki I., Gakuji H., Hiroyuki E., et al.** – Connective tissue growth factor binds vascular endothelial growth factor (VEGF) and inhibits VEGF-induced angiogenesis. *FASEB J* 2002; 16(2):219-21.
43. **Meurer S.K., Esser M., Tihaa L., et al.** – BMP-7/TGF- β 1 signaling in myoblasts: Components involved in signalling and BMP-7-dependent blockage of TGF- β -mediated CTGF expression. *Eur J Cell Biol* 2011.
44. **Wang B., Haldar S.M., Lu Y., et al.** – The Kruppel-like factor KLF15 inhibits connective tissue growth factor (CTGF) expression in cardiac fibroblasts. *J Mol Cell Cardiol* 2008; 45:193-7.
45. **Walter K., Omura N., Hong S.M., et al.** – Overexpression of smoothened activates the sonic hedgehog signaling pathway in pancreatic cancer-associated fibroblasts. *Clin Cancer Res* 2010; 16:1781-9.
46. **Kluwe J., Pradere J.P., Gwak G.Y., et al.** – Modulation of hepatic fibrosis by c-Jun-N-terminal kinase inhibition. *Gastroenterology* 2010; 138:347-59.
47. **Matsuzaki K., Murata M., Yoshida K., et al.** – Chronic inflammation associated with hepatitis C virus infection perturbs hepatic transforming growth factor beta signaling, promoting cirrhosis and hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 2007; 46:48-57.
48. **Paik Y.H., Schwabe R.F., Bataler R., et al.** – Toll-like receptor 4 mediates inflammatory signaling by bacterial lipopolysaccharide in human hepatic stellate cells. *Hepatology* 2003; 37:1043-55.
49. **Szabo G., Dolganiuc A., Mandrekar P.** – Pattern recognition receptors: a contemporary view on liver diseases. *Hepatology* 2006; 44:287-98.
50. **Roth C.L., Elfers C.T., Figlewicz D.P., et al.** – Vitamin D deficiency in obese rats exacerbates NAFLD and increases hepatic resistin and toll-like receptor activation. *Hepatology* 2011.
51. **Sène D., Lévassieur F., Abel M., et al.** – Hepatitis C virus (HCV) evades NKG2D-dependent NK cell responses through NS5A-mediated imbalance of inflammatory cytokines. *PLoS Pathog* 2010; 6:e1001184.
52. **Wu J., Lu M., Meng Z., et al.** – Toll-like receptor-mediated control of HBV replication by nonparenchymal liver cells in mice. *Hepatology* 2007; 46:1769-78.
53. **Szabo G., Bala S.** – Alcoholic liver disease and the gut-liver axis. *World J Gastroenterol* 2010; 16:1321-9.
54. **Machida K., Tsukamoto H., Mkrtychyan H., et al.** – Toll-like receptor 4 mediates synergism between alcohol and HCV in hepatic oncogenesis involving stem cell marker Nanog. *Proc Natl Acad Sci USA* 2009; 106:1548-53.
55. **Zhao X.J., Dong Q., Bindas J., et al.** – TRIF and IRF-3 binding to the TNF promoter results in macrophage TNF dysregulation and steatosis induced by chronic ethanol. *J Immunol* 2008; 181:3049-56.
56. **Csak T., Velayudham A., Hritz I., et al.** – Deficiency in myeloid differentiation factor-2 and toll-like receptor 4 expression attenuates nonalcoholic steatohepatitis and fibrosis in mice. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2011; 300:G433-41.
57. **Yu L.X., Yan H.X., Liu Q., et al.** – Endotoxin accumulation prevents carcinogen-induced apoptosis and promotes liver tumorigenesis in rodents. *Hepatology* 2010; 52:1322-33.
58. **Capuron L., Miller A.H.** – Immune system to brain signaling: Neuropsychopharmacological implications. *Pharmacology and Therapeutics* 2011; 130:226-238.
59. **Laye S., Gheusi G., Cremona S., et al.** – Endogenous brain IL-1 mediates LPS induced anorexia and hypothalamic cytokine expression. *Am J Physiol Regulatory Integrative Comp Physiol* 2000; 279:R93-8.
60. **Liu C., Tao Q., Sun M., et al.** – Kupffer cells are associated with apoptosis, inflammation and fibrotic effects in hepatic fibrosis in rats. *Lab Invest* 2010; 90:1805-16.
61. **Saile B., Matthes N., El Armouche H., et al.** – The bcl, NFkappaB and p53/p21WAF1 systems are involved in spontaneous apoptosis and in the anti-apoptotic effect of TGF-beta or TNF-alpha on activated hepatic stellate cells. *Eur J Cell Biol* 2001; 80:554-61.
62. **Kühnel F., Zender L., Paul Y., et al.** – NFkappaB mediates apoptosis through transcriptional activation of Fas (CD95) in adenoviral hepatitis. *J Biol Chem* 2000; 275:6421-7.
63. **Schwabe R.F., Brenner D.A.** – Mechanisms of Liver Injury. I. TNF-alpha-induced liver injury: role of IKK, JNK, and ROS pathways. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2006; 290:G583-9.
64. **Russo M.P., Schwabe R.F., Sartor R.B., et al.** – NF-kappaB-inducing kinase restores defective I kappaB kinase activity and NF-kappaB signaling in intestinal epithelial cells. *Cell Signal* 2004; 16:741-50.
65. **Factor P.** – Role and regulation of lung Na,K-ATPase. *Cell Mol Biol (Noisy-le-grand)* 2001; 47:347-61.
66. **Calvisi D.F., Pascale R.M., Feo F.** – Dissection of signal transduction pathways as a tool for the development of targeted therapies of hepatocellular carcinoma. *Rev Recent Clin Trials* 2007; 2:217-36.
67. **Kaisho T., Takeda K., Tsujimura T., et al.** – I kappaB kinase alpha is essential for mature B cell development and function. *J Exp Med* 2001; 193:417-26.
68. **Oakley F., Meso M., Iredale J.P., et al.** – Inhibition of I kappaB kinases stimulates hepatic stellate cell apoptosis and accelerates recovery

- from liver fibrosis. *Gastroenterology* 2005; 128:108-20.
69. **Czaja M.J.** – JNK/AP-1 regulation of hepatocyte death. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2003; 284:G875-9.
70. **Wong L., Yamasaki G., Johnson R.J., Friedman S.L.** – 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 (4):1563-9.
71. **Schnabl B., Bradham C.A., Bennett B.L., et al.** – TAK1/JNK and p38 have opposite effects on rat hepatic stellate cells. *Hepatology* 2001; 34:953-63.
72. **Reif S., Lang A., Lindquist J.N., et al.** – The role of FAK-PI3-K-Akt signaling in hepatic stellate cell proliferation and type I collagen expression. *J Biol Chem* 2003; 278:8083-90.
73. **Jablonska E., Markart P., Zakrzewicz D., et al.** – Transforming growth factor- β 1 induces expression of human coagulation factor XII via Smad3 and JNK signaling pathways in human lung fibroblasts. *J Biol Chem* 2010; 285:11638-51.
74. **Hanczko R., Fernandez D.R., Doherty E., et al.** – Prevention of hepatocarcinogenesis and increased susceptibility to acetaminophen-induced liver failure in transaldolase-deficient mice by N-acetylcysteine. *J Clin Invest* 2009; 119:1546-57.
75. **Kodama Y., Kisseleva T., Iwaisako K., et al.** – c-Jun N-terminal kinase-1 from hematopoietic cells mediates progression from hepatic steatosis to steatohepatitis and fibrosis in mice. *Gastroenterology* 2009; 137:1467-1477.e5.
76. **Thevananthar S., Sun H., Li D., et al.** – Extracellular ATP activates c-jun N-terminal kinase signaling and cell cycle progression in hepatocytes. *Hepatology* 2004; 39:393-402.
77. **Kanematsu M., Osada S., Amaoka N., et al.** – Expression of vascular endothelial growth factor in hepatocellular carcinoma and the surrounding liver: correlation with MR imaging and angiographically assisted CT. *Abdom Imaging* 2006; 31:78-89.
78. **Limaye P.B., Bowen W.C., Orr A.V., et al.** – Mechanisms of hepatocyte growth factor-mediated and epidermal growth factor-mediated signaling in transdifferentiation of rat hepatocytes to biliary epithelium. *Hepatology* 2008; 47:1702-13.
79. **Milani S., Herbst H., Schuppan D., et al.** – Transforming growth factors beta 1 and beta 2 are differentially expressed in fibrotic liver disease. *Am J Pathol* 1991; 139:1221-9.
80. **Sedlacek N., Jia J.D., Bauer M., et al.** – Proliferating bile duct epithelial cells are a major source of connective tissue growth factor in rat biliary fibrosis. *Am J Pathol* 2001; 158:1239-44.
81. **Chu A.S., Diaz R., Hui J.J., et al.** – Lineage tracing demonstrates no evidence of cholangiocyte epithelial-to-mesenchymal transition in murine models of hepatic fibrosis. *Hepatology* 2011; 53:1685-95.
82. **Zhai B., Yan H.X., Liu S.Q., et al.** – Reduced expression of E-cadherin/catenin complex in hepatocellular carcinomas. *World J Gastroenterol* 2008; 14:5665-73.
83. **Théret N., Musso O., Turlin B., et al.** – Increased extracellular matrix remodeling is associated with tumor progression in human hepatocellular carcinomas. *Hepatology* 2001; 34:82-8.
84. **Wirz W., Antoine M., Tag C.G., et al.** – Hepatic stellate cells display a functional vascular smooth muscle cell phenotype in a three-dimensional co-culture model with endothelial cells. *Differentiation* 2008; 76:784-94.
85. **Corpechot C., Barbu V., Wendum D., et al.** – Hypoxia-induced VEGF and collagen I expressions are associated with angiogenesis and fibrogenesis in experimental cirrhosis. *Hepatology* 2002; 35(5):1010-21.
86. **Olaso E., Salado C., Egilegor E., et al.** – Proangiogenic role of tumor-activated hepatic stellate cells in experimental melanoma metastasis. *Hepatology* 2003; 37:674-485.
87. **Torimura T., Sata M., Ueno T., et al.** – Increased expression of vascular endothelial growth factor is associated with tumor progression in hepatocellular carcinoma. *Hum Pathol* 1998; 29:986-991.
88. **Shimizu S., Yamada N., Sawada T., et al.** – In vivo and in vitro interactions between human colon carcinoma cells and hepatic stellate cells. *Jpn J Cancer Res.* 2000; 91:1285-1295.
89. **Giannelli G., Fransvea E., Bergamini C., et al.** – Laminin-5 chains are expressed differentially in metastatic and nonmetastatic hepatocellular carcinoma. *Clin. Cancer Res.* 2003; 9:3684-3691.
90. **Ju M.J., Qiu S.J., Fan J., et al.** – Peritumoral activated hepatic stellate cells predict poor clinical outcome in hepatocellular carcinoma after curative resection. *Am. J. Clin. Pathol* 2009; 131: 498-510.
91. **Giannelli G., Antonaci S.** – Biological and clinical relevance of laminin-5 in cancer. *Clin. Exp. Metastasis* 2001; 18:439-443.
92. **Giannelli G., Falk-Marzillier J., Schiraldi O., et al.** – Induction of cell migration by matrix metalloproteinase-2 cleavage of laminin-5. *Science* 1997; 277:225-228.
93. **Salo S., Haakana H., Kontusaari S., et al.** – Laminin-5 promotes adhesion and migration of epithelial cells: identification of a migration-related element in the γ 2 chain gene (LAMC2) with activity in transgenic mice. *Matrix Biol* 1999; 18:197-210.
94. **Giannelli G., Bergamini C., Marinosci F., et al.** – Clinical role of MMP-2/TIMP-2 imbalance in hepatocellular carcinoma. *Int. J. Cancer* 2002; 97:425-431.
95. **Giannelli G., Bergamini C., Fransvea E., et al.** – Laminin-5 with transforming growth factor- β 1 induces epithelial to mesenchymal transition in hepatocellular carcinoma. *Gastroenterology* 2005; 129:1375-1383.
96. **Tran M., Rousselle P., Nokelainen P., et al.** – Targeting a tumor-specific laminin domain critical for human carcinogenesis. *Cancer Res.* 2008; 68:2885-2894.
97. **Vinas O., Bataller R., Sancho-Bru P., et al.** – Human hepatic stellate cells show features of antigen-presenting cells and stimulate lymphocyte proliferation. *Hepatology* 2003; 38:919-929.
98. **Winau F., Hegasy G., Weiskirchen R. et al.** – Ito cells are liver-resident antigen-presenting cells for activating T cell responses. *Immunity* 2007; 26:117-129.
- Xia Y., Chen R., Ye S.L., et al.** – Inhibition of T-cell responses by intratumoral hepatic stellate cells contribute to migration and invasion of hepatocellular carcinoma. *Clin Exp Metastasis.* 2011 Oct; 28(7):661-74.
99. **Yu M.C., Chen C.H., Liang X., et al.** – Inhibition of T-cell responses by hepatic stellate cells via B7-H1-mediated T-cell apoptosis in mice. *Hepatology* 2004; 40:1312-1321.
100. **Kobayashi S., Seki S., Kawada N., et al.** – Apoptosis of T cells in the hepatic fibrotic tissue of the rat: a possible inducing role of hepatic myofibroblast-like cells. *Cell Tissue Res* 2003; 311:353-364.
101. **Yunhong X., Rongxin C., Sheng-Long Y., et al.** – Inhibition of T-cell responses by intratumoral hepatic stellate cells contribute to migration and invasion of hepatocellular carcinoma. *Clin Exp Metastasis* 2011; 28:661-674.
102. **Fabregat I., Roncero C., Fernandez M.** – Survival and apoptosis: a dysregulated balance in liver cancer. *Liver Int* 2007; 27:155-62.
103. **Honma N., Genda T., Matsuda Y., et al.** – MEK/ERK signaling is a critical mediator for integrin-induced cell scattering in highly metastatic hepatocellular carcinoma cells. *Lab Invest* 2006; 86:687-96.
104. **Arsura M., Cavin L.G.** – Nuclear factor-kappaB and liver carcinogenesis. *Cancer Lett* 2005; 229:157-69.
105. **Luedde T., Trautwein C.** – Intracellular survival pathways in the liver. *Liver Int* 2006; 26:1163-74.
106. **Qiao L., Zhang H., Yu J., et al.** – Constitutive activation of NF-kappaB in human hepatocellular carcinoma: evidence of a cytoprotective role. *Hum Gene Ther* 2006; 17:280-90.
107. **Calvisi D.F., Pinna F., Ladu S., et al.** – Aberrant iNOS signaling is under genetic control in rodent liver cancer and potentially prognostic for the human disease. *Carcinogenesis* 2008; 29:1639-47.
108. **Kubo F., Ueno S., Hiwatashi K., et al.** – Interleukin 8 in human hepatocellular carcinoma correlates with cancer cell invasion of vessels but not with tumor angiogenesis. *Ann Surg Oncol* 2005; 12:800-7.
109. **Heo S.K., Yun H.J., Noh E.K., et al.** – LPS induces inflammatory responses in human aortic vascular smooth muscle cells via Toll-like receptor 4 expression and nitric oxide production. *Immunol Lett* 2008; 120:57-64.
110. **Ren Y., Poon R.T., Tsui H.T., et al.** – Interleukin-8 serum levels in patients with hepatocellular carcinoma. Correlations with clinicopathological features and prognosis. *Clin Cancer Res* 2003; 9:5996-6001.
111. **Dong G., Chen Z., Li Z.Y., et al.** – Hepatocyte growth factor/scatter factor-induced activation of MEK and PI3K signal pathways contributes to expression of proangiogenic cytokines interleukin-8 and vascular endothelial growth factor in head and neck squamous cell carcinoma. *Cancer Res* 2001; 61:5911-8.
112. **Olaso E., Santisteban A., Bidaurrazaga J., et al.** – Tumor-dependent activation of rodent hepatic stellate cells during experimental melanoma metastasis. *Hepatology* 1997; 26:634-42.
113. **Yuki K., Hirohashi S., Sakamoto M., et al.** – Growth and spread of hepatocellular carcinoma: a review of 240 consecutive autopsy cases. *Cancer* 1990; 66:2174-2179.
114. **Poon R.T.-P., Fan S.T., Ng I.O., et al.** – Different risk factors and prognosis for early

- and late intrahepatic recurrence after resection of hepatocellular carcinoma. *Cancer* 2000; 89:500-507.
115. **Iizuka N., Oka M., Yamada-Okabe H., et al.** – Oligonucleotide microarray for prediction of early intrahepatic recurrence of hepatocellular carcinoma after curative resection. *Lancet*. 2003; 361:923-929.
 116. **Ju M.J., Qiu S.J., Fan J., et al.** – Peritumoral Activated Hepatic Stellate Cells Predict Poor Clinical Outcome in Hepatocellular Carcinoma After Curative Resection *American Journal of Clinical Pathology*, 2009; 131,498-510.
 117. **Levy M.T., McCaughan G.W., Abbott C.A., et al.** – Fibroblast activation protein: a cell surface dipeptidyl peptidase and gelatinase expressed by stellate cells at the tissue remodelling interface in human cirrhosis. *Hepatology*. 1999; 29:1768-1778.
 118. **Gao Q., Qiu S.J., Fan J., et al.** – Intratumoral balance of regulatory and cytotoxic T cells is associated with prognosis of hepatocellular carcinoma after resection. *J Clin Oncol*. 2007; 25:2586-2593.
 119. **Budhu A., Forgues M., Ye Q.H., et al.** – Prediction of venous metastases, recurrence, and prognosis in hepatocellular carcinoma based on a unique immune response signature of the liver microenvironment. *Cancer Cell*. 2006; 10:99-111.
 120. **Mantovani A., Sozzani S., Locati M., et al.** – Macrophage polarization: tumor-associated macrophages as a paradigm for polarized M2 mononuclear phagocytes. *Trends Immunol*. 2002; 23:549-555.
 121. **Zhu X.D., Zhang J.B., Zhuang P.Y., et al.** – High expression of macrophage colony-stimulating factor in peritumoral liver tissue is associated with poor survival after curative resection of hepatocellular carcinoma. *J Clin Oncol*. 2008; 26:2707-2716.
 122. **Chen C.H., Kuo L.M., Chang Y., et al.** – In vivo immune modulatory activity of hepatic stellate cells in mice. *Hepatology*. 2006; 44:1171-1181.
 123. **Marra F., Valente A.J., Pinzani M., et al.** – Cultured human liver fat-storing cells produce monocyte chemoattractant protein-1: regulation by proinflammatory cytokines. *J Clin Invest*. 1993; 92:1674-1680.
 124. **Canturk N.Z., Canturk Z., Ozden M., et al.** – Protective effect of IGF-1 on experimental liver cirrhosis-induced common bile duct ligation. *Hepatogastroenterology* 2003; 50:2061-2066.
 125. **Liu X., Hu H., Yin J.Q.** – Therapeutic strategies against TGFbeta signaling pathway in hepatic fibrosis. *Liver Int* 2006; 26:8-22.
 126. **Beno D.W., Mullen J., Davis B.H.** – Lipoygenase inhibitors block PDGF-induced mitogenesis: a MAPK-independent mechanism that blocks fos and egr. *Am J Physiol*. 1995; 268:604-610.
 127. **Galli A., Crabb D., Price D., et al.** – Peroxisome proliferator-activated receptor gamma transcriptional regulation is involved in platelet-derived growth factor-induced proliferation of human hepatic stellate cells. *Hepatology* 2000; 31:101-108.
 128. **Ueki T., Kaneda Y., Tsutsui H., et al.** – Hepatocyte growth factor gene therapy of liver cirrhosis in rats. *Nat Med*. 1999; 5:226-230.
 129. **Liu Y., Wen X.M., Lui E.L., et al.** – Therapeutic targeting of the PDGF and TGF-beta-signaling pathways in hepatic stellate cells by PTK787/ZK22258. *Lab Invest* 2009; 89:1152-1160.
 130. **Rockey D.C., Chung J.J.** – Interferon gamma inhibits lipocyte activation and extracellular matrix mRNA expression during experimental liver injury: implications for treatment of hepatic fibrosis. *J Investig Med*. 1994; 42:660-670.
 131. **Okuno M., Akita K., Moriwaki H., et al.** – Prevention of rat hepatic fibrosis by the protease inhibitor, camostat mesilate, via reduced generation of active TGFbeta. *Gastroenterology* 2001; 120:1784-1800.
 132. **Yoshiji H., Noguchi R., Kuriyama S., et al.** – Imatinib mesylate (STI-571) attenuates liver fibrosis development in rats. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2005; 288:907-913.
 133. **Anan A., Baskin-Bey E.S., Bronk S.F., et al.** – Proteasome inhibition induces hepatic stellate cell apoptosis. *Hepatology* 2006; 43:335-344.
 134. **Raetsch C., Jia J.D., Boig G., et al.** – Pentoxifylline downregulates profibrogenic cytokines and procollagen I expression in rat secondary biliary fibrosis. *Gut* 2002; 50(2):241-247.
 135. **Hernández E., Bucio L., Souza V., et al.** – Pentoxifylline downregulates alpha (I) collagen expression by the inhibition of I kappa b alpha degradation in liver stellate cells. *Cell Biol Toxicol* 2007; Oct 20
 136. **Iredale J.P., Benyon R.C., Pickering J., et al.** – Mechanisms of spontaneous resolution of rat liver fibrosis. Hepatic stellate cell apoptosis and reduced hepatic expression of metalloproteinase inhibitors. *J Clin Invest* 1998; 102(3):538-549.
 137. **Murphy F.R., Issa R., Zhou X., et al.** – Inhibition of apoptosis of activated hepatic stellate cells by tissue inhibitor of metalloproteinase-1 is mediated via effects on matrix metalloproteinase inhibition: implications for reversibility of liver fibrosis. *J Biol Chem* 2002; 277(13):11069-11076.
 138. **Parsons C.J., Bradford B.U., Pan C.Q., et al.** – Antifibrotic effects of a tissue inhibitor of metalloproteinase-1 antibody on established liver fibrosis in rats. *Hepatology* 2004; 40(5):1106-1115.
 139. **Oakley F., Trim N., Constantinou C.M., et al.** – Hepatocytes express nerve growth factor during liver injury: evidence for paracrine regulation of hepatic stellate cell apoptosis. *Am J Pathol* 2003; 163(5):1849-1858.
 140. **Fallowfield J.A., Iredale J.P.** – Targeted treatments for cirrhosis. *Expert Opin Ther Targets* 2004; 8(5):423-435.
 141. **Radaeva S., Sun R., Jaruga B., et al.** – Natural killer cells ameliorate liver fibrosis by killing activated stellate cells in NKG2D-dependent and tumor necrosis factor-related apoptosis inducing ligand-dependent manners. *Gastroenterology* 2006; 130(2):435-452.
 142. **Melhem A., Muhanna N., Bishara A., et al.** – Anti-fibrotic activity of NK cells in experimental liver injury through killing of activated HSC. *J Hepatol* 2006; 45(1):60-71.
 143. **Inagaki Y., Nemoto T., Kushida M., et al.** – Interferon alfa down-regulates collagen gene transcription and suppresses experimental hepatic fibrosis in mice. *Hepatology* 2003; 38(4):890-899.
 144. **Anselmi K., Stolz D.B., Nalesnik M., et al.** – Gliotoxin causes apoptosis and necrosis of rat Kupffer cells in vitro and in vivo in the absence of oxidative stress: exacerbation by caspase and serine protease inhibition. *J Hepatol* 2007; 47:103-113.

Vizitați site-ul

SOCIETĂȚII ACADEMICE DE MEDICINĂ A FAMILIEI

www.samf.ro