

STRESUL OXIDATIV ÎN FIBROGENEZA HEPATICĂ

DOI: 10.5281/zenodo.3631339

CZU: 577.1:616.36-002

Doctorandă **Maria TROHIN**

E-mail: marika_stratu@yahoo.com

Doctor în științe chimice, conferențiar universitar **Pavel GLOBA**

E-mail: pavel.globa@usmf.md

Doctor în științe medicale, conferențiar universitar **Elina BERLIBA**

E-mail: elina.berliba@usmf.md

Doctor habilitat în științe medicale, conferențiar universitar **Eugen TCACIUC**

E-mail: eugen.tcaciuc@usmf.md

Doctor habilitat în științe medicale, conferențiar universitar **Olga TAGADIUC**

E-mail: olga.tagadiuc@usmf.md

Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”

OXIDATIVE STRESS IN LIVER FIBROGENESIS

Summary. Oxidative stress has an important role in chronic liver diseases pathogenesis and liver fibrogenesis. Persistent and increased production of ROS (reactive oxygen species), induces the activation of hepatic stellate cells, by TGF- β , angiotensin II, PDGF and others pro-oxidant and pro-inflammatory cytokines mediated signals. The biggest liver fibrogenesis source of ROS are NOX1, NOX2 and NOX4, which determine HSC proliferation, migration, survival and also stimulation of hepatocyte apoptosis, activating multiple pathways. Hence, from initially fibrosis stages to liver cirrhosis, by supporting the excessive production of extracellular matrix compounds, oxidative stress is a determinant of liver fibrogenesis.

Keywords: oxidative stress, liver fibrogenesis, ROS.

Rezumat. Stresul oxidativ are un rol important în patogeneza bolilor hepatice cronice și fibrogena hepatică. Producerea sporită și persistentă a speciilor reactive ale oxigenului (ROS) induce activarea celulelor hepatice stelate prin semnale mediate de TGF- β , angiotensina II, PDGF și alte citokine pro-oxidante și pro-inflamatorii. Cel mai mare generator al ROS în fibrogena hepatică sunt NOX1, NOX2 și NOX4 care, activând multiple căi de semnalizare, determină atât proliferarea, migrarea și supraviețuirea HSC, cât și stimularea apoptozei hepatocitului. Astfel, de la stadii inițiale ale fibrozei, până la ciroză hepatică, stresul oxidativ, prin susținerea producerii excesive a compușilor matricei extracelulare este un determinant al fibrogenezei hepatice.

Cuvinte-cheie: stres oxidativ, fibrogenă hepatică, ROS.

INTRODUCERE

Fibroza hepatică (FH) este procesul patologic comun tuturor afecțiunilor hepatice cronice, care se caracterizează prin acumularea excesivă a matricei extracelulare [1]. Setul factorilor declanșatori ai fibrogenezei hepatice cuprinde: infecțiile cronice cu virusurile hepatice B și/sau C, dereglări legate de utilizarea abuzivă a alcoolului, acțiunea compușilor hepatotoxici, steatohepatita non-alcoolică, afecțiuni autoimune ca hepatita autoimună, colangita biliară primară, colangita sclerozantă primară, afecțiuni metabolice (hemocromatoza, boala Wilson) [2].

Persistența cronică a factorilor de risc menționați determină implicarea diferitor tipuri de celule ale ficatului

în fibrogena hepatică. Evenimentul cheie este activarea celulelor hepatice stelate (HSC), care rezidă în transformarea HSC statice în miofibroblaste proliferative, fibrogenice și contractile, care pot sintetiza fibrile formatoare de colagen. HSC sunt stimulate paracrin de celulele vecine: celulele Kupffer, hepatocitele lezate și leucocite, prin citokinele pro-inflamatorii (TNF- α , INF- γ , IL-6), factorii de creștere (TGF- β , PDGF), speciile reactive ale oxigenului (ROS) etc. [3].

FH este condiționată de sinteza excesivă a componentelor matricei extracelulare (ECM): colagen (mai ales tip I, III), elastină, laminină, fibronectină, proteoglicani etc., și insuficiența mecanismelor fiziologice de degradare a compușilor ECM, în cadrul unei microambianțe pro-inflamatorii și pro-oxidative [2].

MATERIALE ȘI METODE

Au fost identificate articole științifice în baza de date HINARI, utilizându-se termenii de căutare *oxidative stress* și *liver fibrogenesis*. 38 de articole consacrate stresului oxidativ și/sau fibrogenezei hepatice au fost considerate relevante pentru prezenta lucrare și au fost studiate.

REZULTATE ȘI DISCUȚII

Rolul stresului oxidativ în fibrogeneza hepatică

Stresul oxidativ are un rol determinant în patogeneza fibrozei hepatice, producând un dezechilibru dintre sistemul oxidant și cel antioxidant cu formarea speciilor reactive ale oxigenului (ROS). ROS sunt definite, în general, ca un set larg de molecule și radicali ce conțin oxigen și care include: superoxid anion radicalul ($O_2^{\bullet-}$), radicalul hidroxil (OH^{\bullet}), ionul hidroxil (OH^-), peroxidul de hidrogen (H_2O_2), oxigenul singlet (1O_2), ozonul (O_3) [4].

În condiții fiziologice, formarea ROS este reglată fin de către sistemul antioxidant, ceea ce contribuie la menținerea homeostaziei și evitarea efectelor nocive ale stresului oxidativ. Însă persistența factorilor cauzali ai injuriei hepatice determină acumularea ROS, care datorită reactivității sporite interacționează cu toate macromoleculele celulare [4; 5].

Astfel, stresul oxidativ deteriorează biomoleculele, precum acizii nucleici, proteinele, lipidele și implică ROS, ca mesageri secundari, în numeroase căi de semnalizare, inclusiv cele implicate în reglarea transcripției, diferențierii, proliferării și activării morții celulare programate [6; 7].

A fost demonstrată contribuția semnificativă a radicalilor liberi ai oxigenului în fibrogeneza hepatică de etiologie alcoolică, virală, metabolică și cea din colestaza cronică [8; 9]. ROS pot stimula producția colagenului tip I și pot funcționa ca mediatori intracelulari ai acțiunii fibrogenice a TGF- β [10].

NOX – cea mai importantă sursă a ROS în fibroza hepatică

Speciile reactive ale oxigenului pot fi generate de multiple surse, printre care lanțul respirator mitocondrial, citocromul P450 2E1, peroxizomii și NADPH oxidazele (NOX) din ficat [8]. ROS pot fi produse pe cale enzimatică sau non-enzimatică. În cazul celor produse pe cale enzimatică, cel mai important rol revine NADPH oxidazelor. NOX reprezintă un complex enzimatic flavoproteic transmembranar ce generează peroxidul de hidrogen (H_2O_2) și superoxid anion radicalul $O_2^{\bullet-}$ din oxigenul molecular, utilizând NADPH ca donor de electroni, atât în celulele fagocitare, cât și în cele non-fagocitare. Familia NOX cuprinde 7 izoforme: NOX1, NOX2, NOX3, NOX4, NOX5, DUOX1 și DUOX2 [11]. În ficat NOX1, NOX2 și NOX4 sunt exprimate în celule specifice, ca celulele Kupffer, celulele endoteliale, hepatocite și leucocitele infiltrate în ficat [12; 13]. NOX generează ROS ca răspuns la numeroși stimuli: angiotensina II, TGF- β , TNF- α , IL-1 β , lipopolizaharidele, PDGF etc. (tabelul 1).

Efectele ROS sunt dependente de tipul lor, concentrație și tipul celulei. Concentrațiile înalte de ROS pot fi citotoxice, în timp ce concentrațiile joase pot fi implicate în semnalizarea celulară ca răspuns la stimuli fiziologici. Nivelurile non-toxice de ROS sau produși ai peroxidării lipidelor stimulează activarea, proliferarea și producerea colagenului de către HSC, dar concentrația înaltă determină moartea HSC [14].

HSC, tipul celular fibrogenic major din ficat, prezintă multiple izoforme NOX (NOX1, NOX2 și NOX4) și toate componentele lor reglatorii (Rac1, p67 phox, p47 phox, p40 phox, și p22 phox). Prin analiza comparativă a ratei producerii ROS de către NOX-1 și, respectiv NOX-2, în condițiile în care fiecare dintre acestea sunt deficiente izolat, s-a dovedit că izoforma non-fagocitară NOX-1 este mai importantă în generarea ROS în HSC. Cea din urmă induce proliferarea HSC, prin acțiunea $O_2^{\bullet-}$ [15].

Tabelul 1

Caracteristica izoformelor NADPH oxidazelor implicate în fibrogeneza hepatică conform Yong-Han Paik et al. [42]

Izoforma	Componente	Agoniști majori	Localizarea subcelulară
NOX1	NOX1, p22phox, NOXO1/p47phox, NOXA1/p67phox, Rac1	Angiotensina II, TNF- α , IL-1 β , lipopolizaharide, PDGF/PGF2 α , EGF, IFN- γ , endotelina-1	Membrana plasmatică, endozomii perinucleari
NOX2	NOX2, p22phox, p40phox, p47phox, p67pho, Rac1/Rac2	Angiotensina II, lipopolizaharide, IFN- γ	Membrana plasmatică, nucleu
NOX4	NOX4, p22phox, POLDIP2	TGF- β , TNF- α , IFN- γ	Reticulul endoplasmatic
DUOX1/DUOX2	DUOX1/DUOX2		Membrana plasmatică

Totuși, rolul izoformei fagocitare NOX-2 nu este de neglijat, dat fiind faptul că aceasta exercită, prin $O_2^{\bullet-}$, acțiune inhibitorie asupra expresiei MMP-2 și MMP-9 și activează direct promotorul genei ce codifică sinteza lanțului $\alpha 1$ al colagenului [14; 16].

Studiul realizat de Lan T., Kisseleva T. și Brenner D. A. (2013) a elucidat importanța semnalelor NOX-mediate în fibrogenza hepatică. Ei au demonstrat că nivelurile hepatice ale NOX1/NOX4 la pacienții cu ciroză hepatică sunt mai mari decât la pacienții fără ciroză, iar deficiența NOX1/NOX4 blochează activarea HSC [17].

NADPH oxidazele sunt studiate și ca potențiale ținte terapeutice. Utilizarea GKT137831 – inhibitor dual al NOX1/NOX4, a atenuat fibroza hepatică atât în modelul indus de CCl_4 , cât și în cel indus prin ligaturarea ductului biliar (ambele modelate la șoareci), prin diminuarea expresiei genelor pro-fibrogenice ale HSC și apoptozei hepatocitelor [18; 17].

Căi de semnalizare ROS-dependente implicate în fibrogenza hepatică

În procesul fibrogenzei hepatice, ROS constituie un determinant critic al disfuncției endoteliale. Din cauza producerii intense a $O_2^{\bullet-}$, oxidul nitric (NO) este legat de acest radical și se formează cel mai potent oxidant – peroxinitritul ($ONOO^-$), care cauzează injurie hepatică oxidativă, nitrarea proteinelor și S-nitrozilarea biomoleculilor, precum proteinele, lipidele și ADN-ul. De asemenea, peroxinitritul determină oxidarea tetrahidrobiopterinei (cofactor al sintezei oxidului nitric) în radical trihidrobiopterinic, transformând enzima funcțională într-un generator de ROS. Astfel, stresul oxidativ contribuie la disfuncția endotelio-citelor cu hipertensiune portală, prin diminuarea disponibilității NO și întreținerea injuriei hepatice [19; 20].

Un rol important în medierea semnalelor stresului oxidativ joacă sistemul renină-angiotensină. Angiotensina II – elementul cheie al acestui sistem, este implicată în patogenia diverselor afecțiuni cronice, inclusiv în fibrogenza hepatică. Acest peptid pro-oxidant cauzează disfuncție endotelială, generarea ROS, mediatori inflamatori și citokine pro-fibrogenice. Angiotensina II declanșează formarea ROS atât pe calea NOX-dependantă (fiind legată funcțional de NOX1, NOX2 și variabil de NOX4 din vase), cât și la nivelul mitocondriilor. Radicalii liberi ai oxigenului activează inflamasomul NLRP3 (NOD-like receptor protein 3), care prin intermediul caspazei-1 induce sinteza mediatorilor pro-inflamatorii IL-1 β și IL-18. Ulterior, IL-1 β declanșează calea pro-fibrogenică prin sporirea sintezei TIMP-1 (inhibitorul tisular al metaloproteinazei tip 1) și a IL-17. Ultimul, prin ca-

lea Stat3 (proteina transductoare a semnalului și activatoare a transcripției tip 3), determină transformarea HSC statice în celule miofibroblast-like. Această cascadă de citokine demonstrează interrelația verigilor inflamației și stresului oxidativ în patogeneza fibrozei hepatice, ceea ce necesită a fi remarcat în contextul identificării unor agenți terapeutici [21; 20].

Angiotensina II poate exercita și acțiune directă pro-fibrogenică asupra HSC, prin intermediul receptorului tip I al angiotensinei II, care mediază proliferarea, migrarea și contractia celulară [22]. Stimularea HSC de către angiotensina II rezultă în formarea colagenului tip I și a TGF- β . Angiotensina II sporește concentrația intracelulară a calciului și a ROS, stimulând numeroase căi patologice dependente de enzime, precum protein-kinaza C și protein-kinazele mitogen-activate (MAPK). Mai mult decât atât, angiotensina II induce replicarea ADN-ului în HSC activate [16].

Factorul de creștere derivat din trombocite (PDGF), cel mai potent mitogen al HSC, își exercită activitatea, preponderent, prin NOX [23]. PDGF induce sinteza ADN-ului și, respectiv, proliferarea HSC. De asemenea, acest factor de creștere cauzează hipertrofia miocitelor vaselor sangvine, determinată de inducerea NOX1, prin activarea proteinkinazei C δ și a factorului de transcripție ATF-1 (factorul 1 activator al transcripției). Izoforma NOX care determină efectul mitogen al PDGF nu se cunoaște [16].

Implicarea ROS în fibrogenza hepatică este relevantă și de rezultatele analizei ambianței necesare pentru activarea TGF- β 1 – citokina-cheie a programului transcripțional fibrogenic (figura 1). Transformarea citokinei latente în cea activă necesită, pe lângă un pH specific, trombospondina-1, metaloproteinaze matriceale și radicali liberi ai oxigenului. Pe de altă parte, activarea HSC mediată de TGF- β 1 este dependentă de ROS generate de NOX4. TGF- β 1 sporește nivelul ARNm, ce codifică pentru NOX4 pe calea Smad-dependantă sau Smad-independentă (3-fosfatidil-inozitol kinaza, c-Jun N-terminal kinaze), astfel induce producerea ROS. TGF- β se leagă și activează receptorii tip II și I, inducând fosforilarea Smad2 și Smad3, care sunt în complex cu Smad4. Complexele Smad activate pătrund în nucleu și inițiază transcripția genelor țintă ale TGF- β (α SMA, COL1A1), inclusiv a genei ce codifică sinteza NOX4 sau blochează genele epiteliale (codificatoare ale N-caderinei, citokeratinelor 8, 18 și 19) [24]. Astfel, speciile reactive ale oxigenului determină tranziția epitelial-mezenchimală (ECM) și acumularea excesivă a compușilor matricei extracelulare, inclusiv pe calea TGF- β 1 [25; 26; 4]. De asemenea, ROS generate de NOX4 pot determina translocarea factorului nuclear kappa B (NFkB) în nucleu și iniția

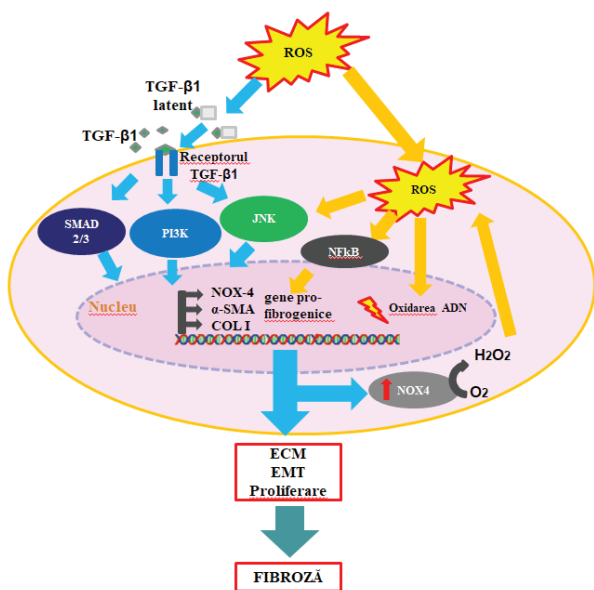


Figura 1. Contribuția ROS la inducerea și persistența fibrozei mediate de TGF-β conform J. Morry, W. Ngamcherdtrakul și W. Yantasee [27, p. 242].

oxidarea ADN-ului, declanșând cascada de evenimente ce conduc la diferențierea HSC statice în miofibroblaste, acumularea în exces a matricei extracelulare și, respectiv, progresarea fibrozei hepatice.

Acțiunea pro-fibrogenică a TGF-β1 este determinată și de supresia sistemului antioxidant [25], afectând superoxid dismutaza (SOD) și catalaza (CT), precum și sistemului glutationului: glutationul (GSH) și glutation peroxidaza (GPX). Glutacionul – un major antioxidant tripeptidic (γ-glutamil-L-cisteinil-glicină), ce asigură purjarea celulelor de ROS și menținerea homeostaziei redox, este sintetizat preferențial în ficat, în două etape catalizate de γ-glutamil-cistein ligaza (GCL) și GSH sintetaza, cea dintâi fiind enzima critică în acest proces. Astfel, TGF-β1 poate acționa ca un represor al sintezei glutacionului, prin inducerea microARN-433, care suprimă nivelul ARNm ce codifică expresia GCL [25; 27].

Superoxid dismutazele SOD1 (citolol), SOD2 (mitocondrii) și SOD3 (extracelular) sunt responsabile de convertirea $O_2 \cdot^-$ în H_2O_2 și O_2 . În procesul fibrogenezei hepatice, TGF-β1 inhibă expresia genelor ce codifică pentru sinteza SOD1, SOD2 și a catalazei, care, de asemenea reduce nivelul H_2O_2 . Toate acestea sugerează că acțiunea pro-fibrogenică a TGF-β1 este determinată de producerea unui dezechilibru redox, cu activarea sistemului generator al speciilor reactive ale oxigenului și blocarea sistemului antioxidant [28; 29].

Stresul oxidativ și inflamația se condiționează reciproc, formând o microambianță favorabilă fibrogenezei. Adițional acestei interrelații directe, puntea de legătură dintre inflamație și stresul oxidativ este asigurată de HSC activate. Astfel, căile patologice redox-sensibile

influențate de stresul oxidativ reglează statutul HSC și induc semnalele pro-inflamatorii prin citokine și chemokine. Iar HSC activate de mediatorii pro-inflamatori inhibă sistemul antioxidant și sporesc sinteza ROS [6].

Stresul oxidativ constituie un mecanism al diferitor tipuri de injurie hepatică cronică, inclusiv a celei etanolice, în cazul căreia rolul principal este atribuit citocromului P450 de tip 2E1 (CYP2E1) [16]. Rezultatele studiului realizat de Natalia Nieto, Scott L. Friedman și Arthur I. Cederbaum, publicate în "Journal of Biological Chemistry" (2002), au evidențiat acțiunea ROS și a produșilor peroxidării lipidelor citocrom P450 2E1 derivate asupra activității și sintezei proteinelor colagenice de către HSC. Pentru aceasta au fost utilizate două co-culturi ale celulelor stelate cu linii de celule de hepatocite de la șobolani, una care exprimă (celule E47) și alta care nu exprimă (celule C34) CYP2E1 uman. Activitatea catalitică a CYP2E1 a fost determinată prin oxidarea p-nitrofenolului în p-nitrocatecol. Dat fiind faptul că ROS, ca H_2O_2 , pot media efectele CYP2E1 asupra HSC, a fost măsurată concentrația intracelulară a acestora. S-a stabilit că nivelul ROS este de 3 ori mai mare în celulele E47 decât în celulele C34. Ulterior, prin analiza Western blot, a fost elucidat faptul că ROS și produșii peroxidării lipidelor au indus o sinteză de collagen tip I în HSC din co-cultura hepatocitară E47 de 4 ori mai mare decât în cele din co-cultura hepatocitară C34, însă mecanismul nu a fost determinat. Astfel, cercetarea respectivă a subliniat comunicarea intercelulară între hepatocite și HSC, precum și impactul ROS derivate de la citocromul P450 2E1 asupra fibrogenezei hepatice [30].

Reticulul endoplasmatic (ER) este un alt compartiment metabolic distinct implicat în fibrogeneza hepatică, responsabil preponderent de sinteza și foldingul proteinelor. Sistemul de control al ER este foarte sofisticat și permite ieșirea din el doar a proteinelor corect împachetate. Însă în condițiile injuriei hepatice cronice, acest proces poate fi întrerupt de diverse semnale intra-/extracelulare, ceea ce determină acumularea proteinelor neprocesate și inducerea mecanismului compensator, numit răspunsul proteinelor neîmpachetate. Stresul ER constă în disocierea conexiunii dintre proteina chaperon GRP78 și cele 3 proteine transmembranare: enzima necesitantă de inositol 1 (IRE1), kinaza reticulului endoplasmatic asemănătoare protein-kinazei R (PERK) și factorul 6 activator al transcripției (ATF6), numite senzori ai stresului ER. Activarea IRE1a determină fosforilarea JNK și translocarea NF-κB în nucleu, cu ulterioara inducere a expresiei genelor pro-inflamatorii și pro-fibrogenice și activarea HSC. De asemenea, IRE1 clivează micro-ARN 150, care are rol în prevenirea dezvoltării fibrozei hepatice prin reducerea αSMA. Așadar, stresul persistent al ER induce activarea genelor pro-in-

flamatorii și pro-fibrogeice, modulând programul transcripțional [31; 32].

ROS pot activa semnalele mediate de factorii de transcripție Janus kinaze și NF- κ B, intensificând expresia genelor asociate fibrozei, precum COL1A1, COL1A2, MCP1 și TIMP1 în HSC [33; 34; 35]. Nivelele sporite de ROS pot cauza deteriorarea ADN-ului gazdei, activarea semnalelor mediate de proteinkinazele mitogen activate (MAPK) și inactivarea, precum și degradarea MAPK fosfatazelor, care controlează durata de viață a celulelor și proliferarea lor [36]. Aceste căi patologice sunt activate în fibroza hepatică de etiologie virală, atunci când proteinele virale HBx și core (HBV), E1, E2, NS3/4A, NS4B, NS5A (HCV) inițiază formarea ROS [37]. Studii recente au conturat o nouă abordare a mecanismului prin care ROS induce fibrogeza hepatică. Conform acestuia, superoxid anionul activează HSC, fapt evidențiat de sinteza α -SMA, TGF- β 1 și a colagenului, după ce intră în ele, prin canalele de clor. Blocarea acestor canale împiedică activarea HSC. Așadar, canalele de clor pot constitui o țintă pentru noi medicamente anti-fibrotice [22].

CONCLUZII

Fibrogeza hepatică este un proces multicelular, care include semnale paracrine între celulele hepatice rezidente și cele imigrate, însă evenimentul central care inițiază acest răspuns este activarea HSC în locul inflamației în care ROS dețin un rol important. Dar, deoarece ROS constituie un grup heterogen de specii, cu o varietate largă a reactivității chimice și a proprietăților biologice, blocarea stresului oxidativ reprezintă o țintă terapeutică atractivă ce continuă a fi studiată [38].

BIBLIOGRAFIE

1. Friedman S.L. Mechanisms of hepatic fibrogenesis. In: *Gastroenterology*, 2008, no. 134 (6), p. 1655-69.
2. Bataller R., Brenner D. A. Liver fibrosis. In: *J. Clin. Invest* 2005, no. 115, p. 209-218.
3. Pinzani M., Marra F. Cytokine receptors and signaling in hepatic stellate cells. In: *Semin Liver Dis* 2001, no. 21 (3), p. 397-416.
4. Morry J., Ngamcherdtrakul W., Yantasee W. Oxidative Stress in Cancer and Fibrosis: Opportunity for Therapeutic Intervention with Antioxidant Compounds, Enzymes, and Nanoparticles. In: *Redox Biology* 2017, no. 11, p. 240-53.
5. Inoue M. Role of Oxidative Stress in Health and Disease. In: *Rinsho Byori. The Japanese Journal of Clinical Pathology* 1996, no. 44 (10), p. 911-14.
6. Li S., Hong M., Tan H. et al. Insights into the Role and Interdependence of Oxidative Stress and Inflammation in Liver Diseases. In: *Oxidative Medicine and Cellular Long-*

evity 2016. [on-line] <https://doi.org/10.1155/2016/4234061> (vizitat la 04.10.2019).

7. Bubici C., Papa S., Dean K., Franzoso G. Mutual cross-talk between reactive oxygen species and nuclear factor-kappa B: molecular basis and biological significance. In: *Oncogene* 2006, no. 25 (51), p. 6731-48.

8. Parola M., Robino G. Oxidative stress-related molecules and liver fibrosis. In: *J Hepatol* 2001, no. 35 (2), p. 297-306.

9. Poli G., Parola M. Oxidative damage and fibrogenesis. In: *Free Radic Biol Med* 1997, no. 22 (1-2), p. 287-305.

10. De Bleser P. J., Xu G., Rombouts K., Rogiers V., Geerts A. Glutathione levels discriminate between oxidative stress and transforming growth factor-beta signaling in activated rat hepatic stellate cells. In: *J Biol Chem* 1999, no. 274 (48), p. 33881-33887.

11. Bedard K., Krause K. H. The NOX family of ROS-generating NADPH oxidases: physiology and pathophysiology. In: *Physiol Rev* 2007, no. 87 (1), p. 245-313.

12. De Minicis S., Seki E., Paik Y. H., Osterreicher C. H., Kodama Y., Kluwe J., Torozzi L., Miyai K., Benedetti A., Schwabe R. F., Brenner D. A. Role and cellular source of nicotinamide adenine dinucleotide phosphate oxidase in hepatic fibrosis. In: *Hepatology* 2010, no. 52 (4), p. 1420-30.

13. Paik Y.H., Iwaisako K., Seki E., Inokuchi S., Schnabl B., Osterreicher C. H., Kisseleva T., Brenner D. A. The nicotinamide adenine dinucleotide phosphate oxidase (NOX) homologues NOX1 and NOX2/gp91(phox) mediate hepatic fibrosis in mice. In: *Hepatology* 2011, no.53 (5), p. 1730-1741.

14. Paik Y.H., Brenner D. A. NADPH oxidase mediated oxidative stress in hepatic fibrogenesis. In: *Korean J Hepatol* 2011, no. 17 (4), p. 251-257.

15. Mortezaee K. Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate (NADPH) Oxidase (NOX) and Liver Fibrosis: A Review. In: *Cell Biochemistry and Function* 2018, no. 36 (6), p. 292-302.

16. Paik Y. H., Kim J., Aoyama T., De Minicis S., Bataller R., Brenner D. A. Role of NADPH Oxidases in Liver Fibrosis. In: *Antioxid Redox Signal* 2014, no. 20 (17), p. 2854-2872.

17. Lan T., Kisseleva T., Brenner D. A. Deficiency of NOX1 or NOX4 Prevents Liver Inflammation and Fibrosis in Mice through Inhibition of Hepatic Stellate Cell Activation. In: *PLoS One* 2015, no. 10 (7):e0129743. DOI: 10.1371/journal.pone.0129743.

18. Aoyama T. et al. Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate oxidase in experimental liver fibrosis: GKT137831 as a novel potential therapeutic agent. In: *Hepatology* 2012, no. 56 (6), p. 2316-2327.

19. Ridnour L. A., Thomas D. D., Mancardi D., Espey M. G., Miranda K. M., Paolocci N., Feelisch M., Fukuto J., Wink D. A. The chemistry of nitrosative stress induced by nitric oxide and reactive nitrogen oxide species. Putting perspective on stressful biological situations. In: *Biol Chem* 2004, no. 385, p. 1-10.

20. Vairappan B. Endothelial dysfunction in cirrhosis: Role of inflammation and oxidative stress. In: *World J Hepatol* 2015, no. 7 (3), p. 443-459.

21. Ning Z., Luo X., Wang G. et al. MicroRNA-21 Mediates Angiotensin II-Induced Liver Fibrosis by Activating NLRP3 Inflammasome/IL-1 β Axis via Targeting Smad7 and Spry1. In: *Antioxid Redox Signal* 2017, no. 27 (1), p. 1-20.

22. Den Hartog G. J., Qi S., van Tilburg J. H., Koek G. H., Bast A. Superoxide anion radicals activate hepatic stellate cells after entry through chloride channels: a new target in liver fibrosis. In: *Eur J Pharmacol* 2014, no. 724, p. 140-144.

23. Adachi T., Togashi H., Suzuki A., Kasai S., Ito J., Sugahara K., Kawata. NAD(P)H oxidase plays a crucial role in PDGF-induced proliferation of hepatic stellate cells. In: *Hepatology* 2005, no. 41 (6), p. 1272-1281.

24. Jiang J. X., Chen X., Serizawa N., Szyndralewicz C., Page P., Schröder K., Brandes R. P., Devaraj S., Török N. J. Liver fibrosis and hepatocyte apoptosis are attenuated by GKT137831, a novel NOX4/NOX1 inhibitor in vivo. In: *Free Radic Biol Med* 2012, no. 53 (2), p. 289-296.

25. Richter K., Konzack A., Pihlajaniemi T., Heljasvaara R., Kietzmann T. Redox-fibrosis: Impact of TGF β 1 on ROS generators, mediators and functional consequences. In: *Redox Biol* 2015, no. 6, p. 344-352.

26. Liu R., Desai L. Reciprocal Regulation of TGF- β and Reactive Oxygen Species: A Perverse Cycle for Fibrosis. In: *Redox Biology* 2015, no. 6, p. 565-577.

27. Blokhina O., Fagerstedt K.V. Oxidative metabolism, ROS and NO under oxygen deprivation. In: *Plant Physiol. Biochem.* 2010, no. 48, p. 359-373.

28. McCord J.M., Fridovich I. Superoxide dismutases: you've come a long way, baby. In: *Antioxid Redox Signal* 2014, no. 20, p. 1548-1549.

29. Samoylenko A., Hossain J.A., Mennerich D., Kellokumpu S., Hiltunen J. K., Kietzmann T. Redox-fibrosis: Impact of TGF β 1 on ROS generators, mediators and functional consequences. In: *Antioxid Redox Signal* 2013, no. 19, p. 2157-2196.

30. Nieto N. Cytochrome P450 2E1-derived Reactive Oxygen Species Mediate Paracrine Stimulation of Collagen I Protein Synthesis by Hepatic Stellate Cells. In: *Journal of Biological Chemistry* 2002, no. 277 (12), p. 9853-9864.

31. Rashi H., Kim H., Junjappa R. et al. Endoplasmic Reticulum Stress in the Regulation of Liver Diseases: Involvement of Regulated IRE1 α and β -Dependent Decay and MiRNA. *Journal of Gastroenterology and Hepatology (Australia)* 2017, no. 32 (5), p. 981-991.

32. Mannaerts I., Thoen LFR., Eysackers N., Cubero F. J., Batista Leite S., Coldham I., Colle I., Trautwein C., van Grunsven L. A. Unfolded protein response is an early, non-critical event during hepatic stellate cell activation. In: *Cell Death Dis.* 2019, no. 10 (2), p. 98. DOI: 10.1038/s41419-019-1327-5.

33. Moreno-Alvarez P., Sosa-Garrocho M., Briones-Orta M. A., González Espinosa C., Medina-Tamayo J., Molina-Jijón E., Pedraza-Chaverri J., Macías-Silva M. Angiotensin II increases mRNA levels of all TGF-beta isoforms in quiescent and activated rat hepatic stellate cells. In: *Cell Biol Int.* 2010, no. 34, p. 969-978.

34. Zhang F., Ni C., Kong D., Zhang X., Zhu X., Chen L., Lu Y., Zheng S. Ligustrazine attenuates oxidative stress-induced activation of hepatic stellate cells by interrupting platelet-derived growth factor- β receptor-mediated ERK and p38 pathways. In: *Toxicol Appl Pharmacol.* 2012, no. 265, p. 51-60.

35. Shah R., Reyes-Gordillo K., Arellanes-Robledo J., Lechuga C.G., Hernández-Nazara Z., Cotty A., Rojkind M., Lakshman M.R. TGF- β 1 up-regulates the expression of PDGF- β receptor mRNA and induces a delayed PI3K-, AKT-, and p70(S6K) -dependent proliferative response in activated hepatic stellate cells. In: *Alcohol Clin Exp Res.* 2013, no. 37, p. 1838-1848.

36. Valko M., Leibfritz D., Moncol J., Cronin M. T., Mazur M., Telser J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. In: *Int J Biochem Cell Biol.* 2007, no. 39 (1), p. 44-84.

37. Suhail M., Abdel-Hafiz H., Ali A., Fatima K., Damanhoury G. A., Azhar E., Chaudhary A. A., Chaudhary, Qadri I. Potential mechanisms of hepatitis B virus induced liver injury. In: *World J Gastroenterol.* 2014, no. 20 (35), p. 12462-12472.

38. Gülsüm Özlem Elpek. Cellular and molecular mechanisms in the pathogenesis of liver fibrosis. In: *World J Gastroenterol.* 2014, no. 20 (23), p. 7260-7276.



Eudochia Robu. *Flori albastre*, 2018, u. p., 450 × 370 mm