

# CELULELE STELATE HEPATICE ȘI TERAPIA ANTIFIBROTICĂ DIN BOALA CRONICĂ HEPATICĂ

## *Hepatic stellate cells and antifibrotic therapy in chronic liver disease*

*Dr. Alin Gabriel Ionescu, Conf. Dr. Cristin Constantin Vere,  
Dr. Costin Teodor Streba, Prof. Dr. Ion Rogoveanu  
Universitatea de Medicină și Farmacie, Craiova*

### REZUMAT

Fibroza hepatică este un proces complex cu consecințe negative asupra funcției și morfologiei hepatice, putând determina apariția insuficienței hepatice și a hipertensiunii portale. Totodată, fibroza hepatică este considerată o stare precanceroasă. Activarea celulelor stelate hepatice (CSH) reprezintă principalul fenomen în apariția fibrozei hepatice, astfel încât cele mai importante strategii antifibrotice vizează activitatea acestor celule prin inhibarea activării, neutralizarea răspunsului sau stimularea apoptozei lor, dar și prin creșterea degradării matrixului extracelular (MEC). Strategiile terapeutice viitoare urmăresc utilizarea de preparate orale, bine tolerate la administrare îndelungată, care previn apariția fibrozei și favorizează remanierea țesutului cicatriceal. De asemenea, se are în vedere descoperirea de agenți terapeutici noi a căror administrare parenterală poate produce efecte benefice și sigure.

**Cuvinte cheie:** fibroza hepatică, celule stelate hepatice, terapie antifibrotică

### ABSTRACT

Liver fibrosis is a complex process with negative outcomes regarding liver function and morphology, which may lead to hepatic insufficiency and portal hypertension. Liver fibrosis is also considered a precancerous state. Hepatic stellate cells (HSC) activation represents the main event in the development of liver fibrosis; therefore the most important antifibrotic strategies target these cells by inhibiting their activation, neutralizing their response or their apoptosis stimulation, while also increasing the degradation of the extracellular matrix (ECM). Future therapeutic strategies target the use of oral medication, well tolerated after long administration, which prevents the development of liver fibrosis and favorise the regression of scar tissue. Also, new therapeutic agents are to emerge, whose parenteral administration may produce benefic and sure effects.

**Key words:** liver fibrosis, hepatic stellate cells, antifibrotic therapy

### INTRODUCERE

Fibroza hepatică este un proces dinamic apărut ca urmare a producerii în exces și a reducerii degradării proteinelor MEC. Apariția fibrozei hepatice duce la diminuarea schimburilor metabolice dintre

sinusoidele hepatice și hepatocite, la formarea șunturilor porto-venoase, la înlocuirea parenchimului prin mezenchim, acestea având drept consecințe reducerea funcției hepatocitare, apariția hipertensiunii portale, a varicelor esofagiene, a tulburărilor

Adresa de corespondență:

Conf. Dr. Cristin Constantin Vere, Universitatea de Medicină și Farmacie, Str. Petru Rareș, Nr. 2-4, Cod 200349, Craiova, Dolj

de coagulare, ascitei, edemelor, hemoragiei digestive superioare și instalarea encefalopatiei.

Totodată, fibroza hepatică este considerată ca o stare ce precede apariția carcinomului hepatocelular (CHC), în profilaxia căruia un element fundamental îl reprezintă controlul și reversibilitatea acesteia (1,2).

CSH sunt localizate în spațiul Disse, între hepatocite și sinusoidale hepatice. În ficatul sănătos, rolul lor principal este depozitarea vitaminei A, precum și sinteza câtorva componente ale MEC. Lezarea hepatică determină eliberarea de citokine de către celulele inflamatorii, celulele Kupffer și hepatocitele displastice. Activarea CSH reprezintă fenomenul principal în apariția fibrozei hepatice, fiind totodată principala țintă terapeutică a strategiilor antifibrotice (3,4,5).

## STRATEGIILE TERAPEUTICE

### ANTIFIBROTICE

Exceptând terapia bolii primare și prevenirea lezării hepatocitare, majoritatea strategiilor antifibrotice

vizează inhibarea activității CSH prin: reducerea inflamației sau a răspunsului inflamator imun al gazdei; reducerea activării CSH; neutralizarea răspunsului proliferativ, fibrogenetic contractil și/sau proinflamator; inducerea apoptozei CSH.

Alte strategii antifibrotice urmăresc creșterea degradării MEC, atât prin stimularea celulelor care produc matrix-metaloproteaze (MMPs), cât și prin blocarea inhibitorilor tisulari de metaloproteaze (TIMPs) sau prin administrarea directă de MMPs (vezi Tabelul 1).

## INHIBAREA ACTIVĂRII CELULELOR

### STELATE HEPATICE

Inhibarea transformării CSH inactive în miofibroblaști activați reprezintă o țintă terapeutică atât în boala hepatică, cât și în răspunsul fibrotic.

Deoarece stresul oxidativ are rol în stimularea activării CSH, reducerea acestuia ar reprezenta o posibilă strategie terapeutică.

O serie de studii experimentale, efectuate atât *in vivo*, cât și *in vitro*, au evidențiat rolul inhibitor al

**Tabelul 1. CSH și strategiile terapeutice antifibrotice**

<b>Inhibarea activării celulelor stelate hepatice</b>			
Antioxidanți: vitamina E, fosfatidilcolina, silimarină, resveratrol			
IGF-1			
Citokine: $\gamma$ -interferon, factorul hepatocitar de creștere			
Liganzi PPAR gamma			
Inhibitori de leptină			
Adiponectina antagonist de TNF- $\alpha$			
Antagonist Smad7 de TGF- $\beta$			
Inhibitor de tirozinkinază PTK/ZK pentru PDGF și TGF- $\beta$			
Pentoxifilina			
Antagonist DKK-1 al căii de semnalizare Wnt			
Inhibitori de histone diacetilază (HDAC)			
<b>Neutralizarea răspunsului celulelor stelate hepatice</b>			
<b>Antiproliferative</b>		<b>Antifibrinogenice</b>	
Antagoniști ai receptorilor citokinelor (ex. PDGF)	Inhibitori ai sintezei de collagen	Anticorpi umanizați	Antagoniști ai receptorilor de endotelină
Inhibitori de Tirozin-kinază	Halofuginone	Inhibitori ai sistemului renină-angiotensină	Oxid nitric agonist/donor
Inhibitori de Lipoxigenază	Inhibitori prolii hidroxilază	Factorul de creștere hepatocitar	-
Simvastatin	Antagoniști TGF- $\beta$	Interleukina-10	-
Pentoxifilina	Receptori solubili	Inhibitori de collagen translațional	-
PI3K	Inhibitori de tirozin kinază (camostat mesilatul)	Relaxina	-
Rapamicina	Decorin, manozo 6 fosfat solubil	Inhibitor HSP47	-
-	Inhibitori Rho	Antisens al lanțului B al PDGF	-
<b>Stimularea apoptozei celulelor stelate hepatice</b>			
Antagoniști TIMPs			
Celulele natural killer			
Glitoxina			
Bortezomibul			
Factorul de creștere hepatocitar			
<b>Creșterea degradării matrixului cicatriceal</b>			
Antagoniști TGF- $\beta$			
Activatorul plasminogen de tip urokinază			
Relaxina			
Administrare de matrix metaloproteaze			

unor antioxidanți precum vitamina E, silimarina, fosfatidilcolina și S-adenosyl-L-metionina în activarea CSH (6,7,8). Acești antioxidanți asigură protecția hepatocitelor împotriva apoptozei și reducerea fibrozei hepatice.

Au fost descriși numeroși factori care scad gradul fibrozei hepatice. Astfel, Canturk și colab. au evidențiat reducerea fibrogenezei ca urmare a diminuării stresului oxidativ prin experimente pe șobolani cărora li s-a indus ciroză hepatică prin ligaturarea ductului biliar comun, și ulterior li s-a administrat IGF-1, un reglator important al metabolismului intermediar (9).

Efectele inhibitorii ale citokinelor interferon- $\gamma$  și ale factorului de creștere hepatocitar (HGF) asupra CSH au fost observate pe modele experimentale animale, unde gradul de activare al CSH a fost redus semnificativ (10). Mecanismul antifibrotic al HGF este incert, dar se pare că acționează prin inhibarea activității factorului de creștere hepatocitar (TGF- $\beta$ 1) (11).

Thiazolidindionele, o clasă de medicamente utilizate în diabet, în special cele din generațiile a II-a și a III-a (troglitazonele), care prezintă hepatotoxicitate redusă, au avut efecte benefice în boala hepatică (12). Thiazolidindionele sunt liganzi sintetici ai receptorilor nucleari PPAR gamma identificați la nivelul CSH și acționează prin reducerea activării CSH (13,14).

Insulinorezistența intervine în patogeneza și progresia bolii hepatice non-alcoolice și a hepatitei cronice virale, prin intermediul leptinei și adiponectinei.

Leptina, o adipocitokină cu rol în metabolismul glucidic și în procesul de vindecare, prezintă mai multe proprietăți profibrogenetice (15,16,17), prin stimularea sintezei de collagen I  $\alpha$ 2 (18,19), a cărui acumulare excesivă reprezintă trăsătura definitorie a fibrozei hepatice. Leptina inhibă sinteza și activitatea MMP-1 și stimulează producerea de TIMP-1 (20, 21, 22). De asemenea, leptina menține CSH în stadiul activat prin stimularea proliferării și prin inhibarea apoptozei. Saxena și colab. au evidențiat reducerea leziunilor și a fibrozei hepatice la animalele de laborator cu deficit de leptină (23).

Nivelurile serice de adiponectină, un hormon proteic secretat de adipocite, sunt reduse la obezi, ducând la apariția insulinorezistenței. Adiponectina poate contracara insulinorezistența prin antagonizarea TNF- $\alpha$  și scăderea nivelului seric al glucozei și al trigliceridelor (24). Un studiu efectuat pe șoareci a arătat că administrarea adiponectinei determină o reducere a leziunilor hepatice cauzate de alcool, prin diminuarea veziculelor lipidice de la

nivelul hepatocitelor induse de consumul de etanol (25). Terapia antifibrotică din boala hepatică poate viza aceste căi patogenice.

Importanța căilor de semnalizare mediate de TGF- $\beta$  și de factorul de creștere derivat din trombocite (PDGF), caracteristice apariției fibrozei hepatice și tumorogenezei, a fost relevată de mai multe studii (26). Astfel, Mikula și colab. au demonstrat că intervenția genetică la nivelul căii de semnalizare mediate de către TGF- $\beta$  din hepatocite prin intermediul antagonistului Smad7 determină o reducere a gradului fibrozei hepatice și a progresiei tumorale după interacțiunea cu CSH (27).

Liu și colab. au arătat că PTK/ZK, un puternic inhibitor de tirozinază, blochează căile de semnalizare mediate de PDGF și TGF- $\beta$  la nivelul CSH și inhibă astfel fibrogeneza la nivel hepatic (28).

În condiții fiziologice, CSH sintetizează collagen III, IV și cantități mici de collagen I (29). În timpul procesului de fibrogeneză hepatică, CSH devin principalele celule producătoare de matrix extracelular, cu o pondere semnificativă în producția de collagen I (30, 31). Pentoxifilina este un derivat metilxantinic cu proprietăți antifibrotice care determină reducerea sintezei de  $\alpha$  I collagen de către CSH activate prin inhibarea degradării de I kappa b  $\alpha$ , care la rândul său blochează activarea factorului nuclear kappa-B (NF-kB) (32).

O serie de autori au arătat că o altă cale de semnalizare posibil implicată în apariția fibrozei hepatice este calea Wnt, care intervine în fibroza pulmonară și renală. Cheng și colab. au evidențiat că prin blocarea acestei căi de semnalizare cu ajutorul Dickkopf-1 (DKK-1), un antagonist al coreceptorului Wnt, se realizează o reducere a gradului fibrozei hepatice (33).

Mai multe studii ce au vizat înțelegerea reglării transcripționale au evidențiat posibilitatea inhibării CSH activate prin blocarea activității histon-diacetilazei (HDACs), enzimă cu rol major în modificarea cromatinei în timpul transcripției genetice. Inhibitorii cu mare specificitate pentru HDACs oferă o modalitate selectivă de blocare a activării CSH (34).

## NEUTRALIZAREA RĂSPUNSULUI PROLIFERATIV, FIBROGENIC CONTRACTIL ȘI/SAU PROINFLAMATOR AL CELULELOR STELATE

O altă țintă a terapiei antifibrotice urmărește blocarea etapelor de proliferare, de fibrogeneză sau a răspunsului contractil al CSH cu ajutorul antago-

niștilor receptorilor citokinici. Progresele realizate în descifrarea rolului factorului de creștere au dus la descoperirea antagoniștilor citokinelor și a receptorilor lor. Evidențierea importanței unor citokine proliferative în patogenia fibrozei hepatice ce intervin în căile de semnalizare ale CSH, precum PDGF, factorul de creștere al fibroblaștilor, și al intervenției TGF- $\alpha$  pe receptorii tirozinkinazei au dus la apariția unor inhibitori care să blocheze aceste căi de semnalizare. În acest fel au fost descoperiți inhibitori ai acidului gamma-linoleic, ai lipooxi-genezei și ai receptorilor PPAR gamma (35, 36).

Okuno și colab. au observat că administrarea camostat mesylatului, care determină scăderea TGF- $\beta$  activat, duce la o diminuare a progresiei fibrozei hepatice la șobolani (37). Un studiu ulterior, efectuat pe șoareci, a arătat că imatinib mesilatul, un inhibitor de receptor de tirozinkinază, determină o reducere a gradului fibrozei hepatice prin scăderea semnificativă a proliferării și a migrației CSH, induse de PDGF-BB, precum și o diminuare atât a  $\alpha$ -SMA, cât și a expresiei  $\alpha$ 2-(I)-procologen mRNA în celulele stelate hepatice activate (38).

Utilizarea antagoniștilor TGF- $\beta$  de tipul anticorpilor monoclonali și inhibitorilor de proteaze determină atât inhibiția producției de MEC, cât și accelerarea degradării lui. Dintre inhibitorii proteazici s-a folosit manozo-6-fosfat (M-6-P) recombinat solubil care se fixează pe receptorul M-6-P ce leagă TGF pe suprafața CSH în timpul activării lor de la stadiul latent (39). Administrarea pe termen lung a antagoniștilor TGF- $\beta$  la oameni poate favoriza apariția carcinomului hepatocelular, prin alterarea modulării inflamației și a răspunsului imun, cu pierderea inhibiției de creștere controlată de TGF- $\beta$  (40).

O altă strategie terapeutică ar putea fi reprezentată de inhibarea sistemului renină-angiotensină. Inhibitorii de renină-angiotensină sunt utilizați ca agenți antifibrotici în cazul pacienților cu boală cronică renală și cardiacă, fără a determina apariția efectelor adverse la administrarea pe perioade îndelungate. Un studiu efectuat pe două loturi de pacienți cu hepatită cronică virală C și steatohepatită non-alcoolică a evidențiat efectele benefice ale inhibitorilor de renină-angiotensină în prevenirea apariției fibrozei hepatice (41).

Son și colab. au demonstrat că CSH supuse acțiunii unui adenovirus ce codifică o formă negativă dominantă de fosfatidilinozitol 3-kinază (PI3K), controlată de un promotor de  $\alpha$ -SMA, prezintă o diminuare a proliferării, migrației, sintezei de colagen, precum și reducerea activității unor gene constituente profibrogenetice adiționale. Acest adenovirus induce, totodată, apoptoza celulară (42).

Cho și colab. au evidențiat, prin experimente pe șobolani, efectul benefic al unor vasodilatatoare de tipul prostaglandinei E2 și oxidului nitric în terapia antifibrotică. Acestea acționează prin blocarea receptorilor endotelinei-A, determinând reducerea gradului de fibroză hepatică prin blocarea sintezei și a depunerii de colagen (43).

În ultimii ani s-a urmărit descoperirea de molecule cu greutate mică care, prin blocarea receptorilor citokinelor sau a căilor de semnalizare intracelulară inhibă fibrogeneza hepatică. Astfel de molecule sunt un inhibitor selectiv al adeziunii focale Rho mediate (44) și un antisens al lanțului B al PDGF care reduc fibroza hepatică indusă experimental (45).

HSP 47 este o caperonă de colagen prezentă în CSH activate, a cărei concentrație în reticulul endoplasmic se corelează semnificativ cu creșterea sintezei de colagen (46, 47). Administrarea de lipozomi ce conțin vitamina A și ARN, care inhibă HSP 47, blochează sinteza de colagen de către CSH activate (48).

O altă posibilitate terapeutică în vederea reducerii progresiei fibrozei hepatice ar putea fi reprezentată de utilizarea rapamicinei, un imunosupresor administrat posttransplant hepatic, care inhibă proliferarea CSH (49), însă care are dezavantajul creșterii riscului de apariție a trombozei arterei hepatice după administrarea îndelungată (50).

Bennett și colab. au observat că administrarea relaxinei, un hormon peptidic natural cu receptori prezenți pe suprafața mai multor celule, inclusiv CSH (51), are ca efect atât scăderea sintezei de colagen de către CSH activate, cât și creșterea degradării matrixului extracelular atât *in vivo*, cât și *in vitro*.

## STIMULAREA APOPTOZEI CELULELOR STELATE HEPATICE

Apoptoza este mecanismul principal responsabil de reducerea numărului de CSH activate în timpul vindecării leziunii hepatice (52). Mai mulți mediatori ai apoptozei de tipul Fas/FasL, receptori TNF, precum și Bcl/Bax, au fost identificați în CSH, astfel încât o posibilă țintă terapeutică ar putea viza declanșarea apoptozei prin intermediul acestor mediatori (53, 54).

Studii experimentale și noi dovezi clinice au arătat că atât fibroza, cât și ciroza hepatică sunt potențial reversibile prin inițierea apoptozei CSH, îndepărtându-se astfel celula responsabilă atât de producerea de MEC, cât și de protecția MMPs prin producerea de TIMPs.

Acumularea de MEC și afectarea remanierii acestuia reprezintă cauza principală a progresiei fibrozei hepatice. MMP-1 este principala protează care poate degrada colagenul de tip I, principala formă de colagen din ficatul fibrotic (55). Inactivarea MMPs se realizează prin legarea de TIMPs (56). CSH activate sintetizează în exces TIMP-1 și TIMP-250 care inhibă colagenazele interstițiale, ducând la reducerea degradării de MEC și la acumularea acestuia. TIMP-1 are și un efect antiapoptotic asupra CSH (57).

Antagoniștii TIMPs reprezintă o țintă terapeutică pentru a inhiba sinteza de colagen I și a declanșa apoptoza CSH activate. TIMP-1 are un rol major în supraviețuirea CSH prin blocarea directă a apoptozei acestor celule, astfel încât antagoniștii TIMP determină o diminuare a fibrozei (58).

Celulele natural killer (NK) intervin în imunitatea înăscută și au rol în limitarea fibrozei hepatice prin neutralizarea CSH activate (59, 60) și prin eliberarea a două citokine antifibrotice  $INF\alpha$  și  $INF\gamma$  (61, 62). Consumul de alcool reduce eficacitatea NK, ceea ce are ca efect o accelerare în progresia fibrozei hepatice (63).

Administrarea glitoxinei, un metabolit fungic, la șobolan a indus apoptoza CSH, în absența stresului oxidativ, prin eliberarea citocromului *c* mitochondrial și prin activarea caspazei-3 și depleția de ATP, responsabile de reducerea fibrogenezei (64).

Anan și colab. au demonstrat că bortezomibul, un inhibitor de protează, induce apoptoza CSH prin blocarea activității  $NF\kappa B$ , crescând timpul de înjumătățire al inhibitorilor acestuia (65).

O altă potențială țintă terapeutică este reprezentată de terapia cu citokine. Astfel, administrarea experimentală a factorilor de creștere prin intermediul te-

rapiei genice a dus la o reducere a fibrozei hepatice. Într-un studiu efectuat pe șobolani cărora li s-a indus ciroză hepatică prin intermediul dimetilnitrozaminei, s-a observat că administrarea HGF a dus la reducerea proliferării și inițierea apoptozei celulelor hepatice  $\alpha$ -SMA pozitive (66).

## STIMULAREA ȘI INTENSIFICAREA DEGRADĂRII MATRIXULUI CICATRICEAL

Un rol major în terapia antifibrotică este reprezentat de resorbția MEC deja existent, prevenind astfel progresia fibrozei. Antagoniștii  $TGF-\beta$ , care stimulează sinteza de MEC prin stimularea CSH, produc degradarea matrixului prin reglarea TIMPs și prin creșterea activității colagenazei interstițiale. Un studiu *in vivo* efectuat pe animale de laborator ce a urmărit activatorul plasminogen de tip urokinază a evidențiat resorbția MEC (67).

## STRATEGII TERAPEUTICE VIITOARE

Descoperirea de noi terapii antifibrotice se bazează pe aprofundarea cunoștințelor despre mecanismele fiziopatologice implicate în apariția leziunilor hepatice și în activarea CSH.

Terapia ideală ar trebui să fie reprezentată de preparate orale, bine tolerate la administrare îndelungată, care nu doar previn apariția fibrozei, ci determină și remanierarea țesutului cicatricial, ducând la stabilizarea sau la îmbunătățirea funcției hepatice.

Pe lângă terapia orală, se are în vedere și tratamentul parenteral, preferabil cu administrare săptămânală sau lunară în bolile cronice. În acest sens, se urmărește administrarea de anticorpi monoclonali care pot produce efecte benefice și sigure.

## BIBLIOGRAFIE

1. Farazi PA, DePinho RA. Hepatocellular carcinoma pathogenesis: from genes to environment. *Nat Rev Cancer* 2006; 6: 674–687.
2. Bruix J, Boix L, Sala M, et al. Focus on hepatocellular carcinoma. *Cancer Cell* 2004; 5: 215–219.
3. Wake K. Liver perivascular cells revealed by gold and silver impregnation methods and electron microscopy. In: Motta P (ed.) *Biopathology of the Liver, an Ultrastructural Approach*. Dordrecht: Kluwer, 1988; pp. 23–26.
4. Milani S, Herbst H, Schuppan D et al. In situ hybridization for procollagen types I, III and IV mRNA in normal and fibrotic rat liver: evidence for predominant expression in nonparenchymal liver cells. *Hepatology* 1989; 10: 84–92.
5. Burt AD. Cellular and molecular aspects of hepatic fibrosis. CL Oakley Lecture. *J Pathol* 1993; 170:105–114.
6. Pietrangelo A, Borella F, Casalgrandi G, et al. Antioxidant activity of silybin in vivo during long-term iron overload in rats. *Gastroenterology* 1995;109:1941–1949.
7. Brown KE, Poulos JE, Li L, et al. Effect of vitamin E supplementation on hepatic fibrogenesis in chronic dietary iron overload. *Am J Physiol* 1997;272:116–123.
8. Kawada N, Seki S, Inoue M, et al. Effect of antioxidants, resveratrol, quercetin, and N-acetylcysteine, on the functions of cultured rat hepatic stellate cells and Kupffer cells. *Hepatology* 1998;27:1265–1274.
9. Canturk NZ, 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.
10. Rockey DC, Chung JJ. Interferon gamma inhibits lipocyte activation and extracellular matrix mRNA expression during experimental liver injury: implications for treatment of hepatic fibrosis. *J Invest Med*. 1994;42:660–670.
11. Ueki T, Kaneda Y, Tsutsui H, et al. Hepatocyte growth factor gene therapy of liver cirrhosis in rats. *Nat Med*. 1999;5:226–230.
12. Galli A, Crabb DW, Ceni E, et al. Antidiabetic thiazolidinediones inhibit collagen synthesis and hepatic stellate cell activation in vivo and in vitro. *Gastroenterology* 2002;122(7):1924–1940.
13. Miyahara T, Schrum L, Rippe R, et al. Peroxisome proliferator-activated receptors and hepatic stellate cell activation. *J Biol Chem*. 2000;275:35715–35722.
14. Marra F, Efsen E, Romanelli RG, et al. Ligands of peroxisome proliferator-activated receptor gamma modulate profibrogenic and proinflammatory actions in hepatic stellate cells. *Gastroenterology* 2000; 119:466–478.
15. Bertolani C, Marra F. The role of adipokines in liver fibrosis. *Pathophysiology* 2008;15, 91–101.
16. Ikejima K, Takei Y, Honda H, et al. Leptin receptor-mediated signaling regulates hepatic fibrogenesis and remodeling of extracellular matrix in the rat. *Gastroenterology* 2002;122, 1399–1410.

17. Frank S, Stallmeyer B, Kampfer H, et al. Leptin enhances wound re-epithelialization and constitutes a direct function of leptin in skin repair. *J Clin Invest*. 2000;106:501-509.
18. Saxena NK, Saliba G, Floyd JJ, et al. Leptin induces increased alpha2(I) collagen gene expression in cultured rat hepatic stellate cells. *J Cell Biochem*. 2003;89, 311-320.
19. Saxena NK, Ikeda K, Rockey DC, et al. Leptin in hepatic fibrosis: evidence for increased collagen production in stellate cells and lean littermates of ob/ob mice. *Hepatology* 2002;35, 762-771.
20. Lin S, Saxena NK, Ding X, et al. Leptin increases tissue inhibitor of metalloproteinase 1 (TIMP-1) gene expression by a specificity protein 1/ signal transducer and activator of transcription 3 mechanism. *Mol. Endo. Baltimore, Md*. 2006;20, 3376-3388.
21. Handy JA, Saxena NK, Fu P, et al. Adiponectin activation of AMPK disrupts leptin-mediated hepatic fibrosis via suppressors of cytokine signaling (SOCS-3). *J. Cell. Biochem*. 2010;110, 1195-1207.
22. Cao Q, Mak KM, Lieber CS. Leptin represses matrix metalloproteinase-1 gene expression in LX2 human hepatic stellate cells. *J. Hepatol*. 2007;46, 124-133.
23. Saxena NK, Titus MA, Ding X, et al. Leptin as a novel profibrogenic cytokine in hepatic stellate cells: mitogenesis and inhibition of apoptosis mediated by extracellular regulated kinase (Erk) and Akt phosphorylation. *Faseb J*. 2004;18, 1612-1614.
24. Balmer ML, Joneli J, Schoepfer A, et al. Significance of serum adiponectin levels in patients with chronic liver disease. *Clin. Sci*. 2010; 119, 431-436.
25. Chen X, Sebastian BM, Nagy LE. Chronic ethanol feeding to rats decreases adiponectin secretion by subcutaneous adipocytes. *J Physiol Endocrinol Metab* 2007; 292: 621-628
26. Liu X, Hu H, Yin JQ. Therapeutic strategies against TGFbeta signaling pathway in hepatic fibrosis. *Liver Int* 2006;26:8-22.
27. Mikula M, Proell V, Fischer AN, et al. Activated hepatic stellate cells induce tumor progression of neoplastic hepatocytes in a TGF-beta dependent fashion. *J Cell Physiol* 2006;209:560-567.
28. Liu Y, Wen XM, Lui EL, 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.
29. Milani S, Herbst H, Schuppan D et al. In situ hybridization for procollagen types I, III and IV mRNA in normal and fibrotic rat liver: evidence for predominant expression in nonparenchymal liver cells. *Hepatology* 1989;10, 84-92.
30. Milani S, Herbst H, Schuppan D et al. Cellular localization of laminin gene transcripts in normal and fibrotic human liver. *Am J Pathol* 1989;134, 1175-1182.
31. Maher JJ, McGuire RF. Extracellular matrix gene expression increases preferentially in rat lipocytes and sinusoidal endothelial cells during hepatic fibrosis in vivo. *J Clin Invest* 1990;86, 1641-1648.
32. 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.
33. Cheng JH, She H, Han YP, et al. Wnt antagonism inhibits hepatic stellate cell activation and liver fibrosis. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2007; Nov 15.
34. Niki T, Rombouts K, De Bleser P, et al. A histone deacetylase inhibitor, trichostatin A, suppresses myofibroblastic differentiation of rat hepatic stellate cells in primary culture. *Hepatology* 1999;29:858-867.
35. Beno DW, Mullen J, Davis BH. Lipoxigenase inhibitors block PDGF-induced mitogenesis: a MAPK-independent mechanism that blocks fos and egr. *Am J Physiol*. 1995;268:604-610.
36. 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.
37. 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.
38. 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.
39. de Bleser PJ, Jannes P, van Buul-Offers SC, et al. Insulinlike growth factor-II/mannose 6-phosphate receptor is expressed on CCl4-exposed rat fat-storing cells and facilitates activation of latent transforming growth factor-beta in cocultures with sinusoidal endothelial cells. *Hepatology*. 1995;21:1429-1437.
40. Matsuzaki K, Date M, Furukawa F, et al. Autocrine stimulatory mechanism by transforming growth factor beta in human hepatocellular carcinoma. *Cancer Res* 2000;60:1394-1402.
41. Yokohama S, Yoneda M, Haneda M, et al. Therapeutic efficacy of an angiotensin II receptor antagonist in patients with nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatology* 2004;40:1222-1225.
42. Son G, Hines IN, Lindquist J, et al. Inhibition of phosphatidylinositol 3-kinase signaling in hepatic stellate cells blocks the progression of hepatic fibrosis. *Hepatology* 2009;50:1512-1523.
43. Cho JJ, Hocher B, Herbst H, et al. An oral endothelin-A receptor antagonist blocks collagen synthesis and deposition in advanced rat liver fibrosis. *Gastroenterology* 2000;118:1169-1178.
44. Tada S, Iwamoto H, Nakamura M, et al. A selective ROCK inhibitor, Y27632, prevents dimethylnitrosamine- induced hepatic fibrosis in rats. *J Hepatol* 2001;34(4):529-536.
45. Borkham-Kamphorst E, Stoll D, Gressner AM, et al. Antisense strategy against PDGF B-chain proves effective in preventing experimental liver fibrogenesis. *Biochem Biophys Res Commun* 2004;321(2):413-423.
46. Masuda H, Fukumoto M, Hirayoshi K, et al. Coexpression of the collagen-binding stress protein HSP47 gene and the alpha 1(I) and alpha 1(III) collagen genes in carbon tetrachloride induced rat liver fibrosis. *J Clin Invest* 1994;94(6):2481-2488.
47. Nagata K. Expression and function of heat shock protein 47: a collagen-specific molecular chaperone in the endoplasmic reticulum. *Matrix Biol* 1998;16(7):379-386.
48. Sato Y, Murase K, Kato J, et al. Resolution of liver cirrhosis using vitamin A-coupled liposomes to deliver siRNA against a collagen-specific chaperone. *Nat Biotechnol* 2008;26(4):431-442.
49. Zhu J, Wu J, Frizell E, et al. Rapamycin inhibits hepatic stellate cell proliferation in vitro and limits fibrogenesis in an in vivo model of liver fibrosis. *Gastroenterology* 1999;117(5):1198-1204.
50. Trotter JF. Sirolimus in liver transplantation. *Transplant Proc* 2003;35(3 Suppl):193-200.
51. Bennett RG, Mahan KJ, Gentry-Nielsen MJ, et al. Relaxin receptor expression in hepatic stellate cells and in cirrhotic rat liver tissue. *Ann N Y Acad Sci* 2005;1041:185-189.
52. Iredale JP, Benyon RC, 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.
53. Oakley F, Trim N, Constantinou CM, 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.
54. Fallowfield JA, Iredale JP. Targeted treatments for cirrhosis. *Expert Opin Ther Targets* 2004;8(5):423-435.
55. Milani S, Herbst H, Schuppan D, et al. Differential expression of matrix-metalloproteinase-1 and -2 genes in normal and fibrotic human liver. *Am J Pathol* 1994;144(3):528-537.
56. Iredale JP. Hepatic stellate cell behavior during resolution of liver injury. *Semin Liver Dis* 2001;21 (3):427-436.
57. Murphy FR, 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.
58. Parsons CJ, Bradford BU, Pan CQ, et al. Antifibrotic effects of a tissue inhibitor of metalloproteinase-1 antibody on established liver fibrosis in rats. *Hepatology* 2004;40(5):1106-1115.
59. 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.
60. 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.
61. Rockey DC, Chung JJ. Interferon gamma inhibits lipocyte activation and extracellular matrix mRNA expression during experimental liver injury: implications for treatment of hepatic fibrosis. *J Invest Med* 1994;42(4):660-670.
62. 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.
63. Jeong WI, Park O, Gao B. Abrogation of the antifibrotic effects of natural killer cells/interferongamma contributes to alcohol acceleration of liver fibrosis. *Gastroenterology* 2008;134(1):248-258.
64. Anselmi K, Stolz DB, 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.
65. Anan A, Baskin-Bey ES, Bronk SF, et al. Proteasome inhibition induces hepatic stellate cell apoptosis. *Hepatology* 2006;43:335-344.
66. Kim WH, Matsumoto K, Bessho K, et al. Growth inhibition and apoptosis in liver myofibroblasts promoted by hepatocyte growth factor leads to resolution from liver cirrhosis. *Am J Pathol* 2005;166:1017-1028.
67. Bueno M, Salgado S, Beas-Zarate C, et al. Urokinase-type plasminogen activator gene therapy in liver cirrhosis is mediated by collagens gene expression down-regulation and up-regulation of MMPs, HGF and VEGF. *J Gene Med* 2006;8:1291-1299.