

Itove stanice jetre u zdravlju i bolesti

Klemenčić, Antonio

Master's thesis / Diplomski rad

2014

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, School of Medicine / Sveučilište u Zagrebu, Medicinski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:105:084786>

Rights / Prava: [In copyright](#) / [Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-04-25**



Repository / Repozitorij:

[Dr Med - University of Zagreb School of Medicine
Digital Repository](#)



**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
MEDICINSKI FAKULTET**

Antonio Klemenčić

Itove stanice jetre u zdravlju i bolesti

DIPLOMSKI RAD



Zagreb, 2014.

Ovaj diplomski rad izrađen je na Katedri za histologiju i embriologiju Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu pod vodstvom prof. dr. sc. Ljerke Banek i predan je na ocjenu u akademskoj godini 2013./2014.

Mentor: Prof. dr. sc. Ljerka Banek

POPIS I OBJAŠNJENJE KRATICA KORIŠTENIH U RADU:

α -SMA - aktin (engl. alpha-smooth muscle actin)

BMP-7 - koštani morfogogenetski protein 7 (engl. bone morphogenetic protein 7)

CB-1, CB-2 - receptori za kanabinoide (engl. cannabinoid receptors)

CTGF - čimbenik rasta vezivnog tkiva (engl. connective tissue growth factor)

EGF - epidermalni čimbenik rasta (engl. epidermal growth factor)

ELF - embrionalni jetreni foderin (engl. embryonic liver foderin)

ET-1 - endotelin-1 (engl. endothelin-1)

FGF – fibroblastni čimbenik rasta (engl. fibroblast growth factor)

GFAP - glijalni fibrilarni kiseli protein (engl. glial fibrillary acidic protein)

HGF - čimbenik rasta hepatocita (engl. hepatocyte growth factor)

HSC - zvjezdolika stanica jetre (engl. hepatic stellate cell)

IL-6 - interleukin 6 (engl. interleukine 6)

I κ B – inhibitor kapa B (engl. inhibitor of kappa B)

MCP-1 - čimbenik koji privlači monocite (engl. monocyte chemoattractant protein-1)

MMP - metaloproteinaze matriksa (engl. matrix metalloproteinases)

M-CSF - čimbenik koji potiče stvaranje kolonija makrofaga (engl. macrophage colony-stimulating factor)

N-CAM - adhezijska molekula živčane stanice (engl. neural cell adhesion molecule)

NF κ B – čimbenik jezgre kapa B (engl. nuclear factor kappa B)

NK stanice - prirodno ubilačke stanice (engl. natural killer cells)

NO - dušični oksid (engl. nitrous oxide)

PAF - čimbenik aktivacije trombocita (engl. platelet activating factor)

PDGF - čimbenik rasta trombocita (engl. platelet derived growth factor)

PPAR (PPAR- β , PPAR- γ i PPAR- δ) - receptori za aktivaciju proliferacije peroksisoma (engl. peroxisome proliferators activated receptors)

RBP - bjelančevina koja veže retinol (engl. retinol binding protein)

RAR- α , RAR- β , RAR- γ - receptori za retinoičnu kiselinu (engl. retinoic acid receptor)

RXR- α , RXR- β , RXR- γ - retinoidni X receptori (engl. retinoid X receptor)

TGF- α - transformacijski čimbenik rasta α (engl. transforming growth factor alpha)

TGF- β - transformacijski čimbenik rasta β (engl. transforming growth factor beta)

TGF- β 1 - transformacijski čimbenik rasta β 1 (engl. transforming growth factor beta 1)

T β RI, T β RII, T β RIII - receptori za transformacijski čimbenik rasta β (engl. TGF- β receptors)

TIMP - tkivni inhibitori metaloproteinaza (engl. tissue inhibitors of metalloproteinases)

TLR - „carinski” receptori (engl. toll-like receptors)

TNFR-1 - receptor čimbenika nekroze tumora 1 (engl. tumor necrosis factor receptor 1)

VEGF - vaskularni endotelni čimbenik rasta (engl. vascular endothelial growth factor)

YFP - žuti fluorescentni protein (engl. yellow fluorescent protein)

SADRŽAJ:

SAŽETAK

SUMMARY

1. UVOD.....	1
2. POVIJEST OTKRIĆA ITOVIH STANICA I NJIHOVO NAZIVLJE.....	3
3. GRAĐA I POLOŽAJ ITOVIH STANICA JETRE.....	4
4. ZVJEZDOLIKE STANICE SMJEŠTENE IZVAN JETRE.....	7
5. PODRIJETLO ITOVIH STANICA JETRE.....	9
6. FUNKCIJA ITOVIH STANICA U NORMALNOJ JETRI.....	11
6.1 METABOLIZAM RETINOIDA.....	11
6.1.1 Prijenos i metabolizam vitamina A u organizmu.....	12
6.2 IZLUČIVANJE ČIMBENIKA RASTA, CITOKINA I LIPOPROTEINA.....	12
6.2.1 Sekrecija čimbenika rasta i citokina.....	12
6.2.2 Apolipoproteini i lipidi.....	15
6.3 ULOGA U IMUNOSNIM REAKCIJAMA	15
6.4 ULOGA U RAZVOJU I REGENERACIJI JETRE.....	16
7. STANIČNI RECEPTORI I REGULACIJA PREPISIVANJA U ITOVIM STANICAMA.....	17
7.1 RECEPTORI STANIČNE MEMBRANE	17
7.1.1 Receptori transformacijskog čimbenika rasta β (TGF- β) i unutarstanična signalizacija.....	17
7.1.2 Drugi receptori stanične membrane.....	18
7.2 RECEPTORI JEZGRE	20
7.2.1 Receptori za retinoide.....	20
7.2.2 Receptori za aktivaciju proliferacije peroksisoma (PPARs).....	20

7.3	TRANSKRIPCIJSKA REGULACIJA STANIČNOG PONAŠANJA.....	21
8. ULOGA ITOVIH STANICA KOD OŠTEĆENJA JETRE – AKTIVACIJA		
	ITOVIH STANICA.....	23
8.1	POKRETANJE AKTIVACIJE ITOVIH STANICA.....	24
8.2	NASTAVAK I TRAJANJE AKTIVACIJE ITOVIH STANICA.....	25
8.2.1	Proliferacija aktiviranih Itovih stanica.....	25
8.2.2	Fibrogeneza aktiviranih Itovih stanica.....	25
8.2.3	Razgradnja izvanstaničnog matriksa.....	26
8.2.4	Kemotaksija.....	27
8.2.5	Kontraktilnost.....	27
8.2.6	Gubitak retinoida.....	27
9. ODNOS ADIPOKINA I ITOVIH STANICA JETRE.....		
9.1	LEPTIN.....	29
9.2	ADIPONEKTIN.....	30
10. EPITELNO - MEZENHIMSKA I MEZOTELNO - MEZENHIMSKA		
	PRETVORBA U OZLJEDI JETRE.....	30
11. MOGUĆNOSTI LIJEČENJA FIBROZE JETRE.....		
12. ZAKLJUČAK.....		
13. ZAHVALE.....		
14. POPIS LITERATURE.....		
15. ŽIVOTOPIS.....		

SAŽETAK:

ITOVE STANICE JETRE U ZDRAVLJU I BOLESTI

Antonio Klemenčić

Zvjezdolike ili Itove stanice jetre smještene su u subendotelnom, perikapilarnom Disseovom prostoru. S njihova tijela pružaju se stanični nastavci koji sadrže mikrotubule i aktinske filamente. Pomoću svojih nastavaka Itove stanice ostvaruju kontakt s hepatocitima i endotelnim stanicama sinusoidnih kapilara.

Itove stanice pohranjuju 50 do 80 % vitamina A u našem tijelu. Zato značajan dio njihove citoplazme sadrži vitamin A u obliku lipidnih kapljica. Osim što imaju ključnu ulogu u metabolizmu vitamina A, one izlučuju citokine i čimbenike rasta, te imaju važnu ulogu u modulaciji imunog odgovora jetre. Također sudjeluju u regeneraciji jetre, izlučuju sastojke izvanstaničnog matriksa te omogućuju kontrolu protoka krvi kroz sinusoidne kapilare jetrenog reznjica.

Ove složene funkcije omogućuje im interakcija s njihovim mikrookolišem pomoću različitih vrsta receptora na površini stanične membrane i u jezgri stanica. Među ovim receptorima osobito su zanimljivi receptori za transformacijski čimbenik rasta β i retinoidni receptori.

Prilikom oštećenja jetre, Itove stanice se aktiviraju pri čemu se mijenjaju morfološki i funkcionalno, te dobivaju karakteristike miofibroblasta. U tom obliku, one aktivno sudjeluju u procesu fibroze jetre, što u konačnici dovodi do ciroze i zatajenja jetre. Budući da su terapijske mogućnosti ciroze jetre za sada vrlo ograničene, provodi se niz istraživanja kojima se nastoji pronaći adekvatno terapijsko mjesto djelovanja upravo na Itove stanice, a s ciljem povlačenja same fibroze.

Ključne riječi: zvjezdolike stanice jetre, funkcija zvjezdolikih stanica jetre, aktivacija zvjezdolikih stanica jetre, fibroza jetre.

SUMMARY:

ITO CELLS OF LIVER IN HEALTH AND DISEASE

Antonio Klemenčić

Hepatic stellate cells or Ito cells are located in subendothelial, pericapillary space of Disse. Cellular processes, that contain microtubules and actin filaments, extend from cell body. They make contact with neighboring hepatocytes and endothelial cells of sinusoidal capillaries.

Ito cells store 50 to 80 % of vitamin A in organism. That's why significant part of their cytoplasm is consisted of vitamin A in form of lipid droplets. Beside that, they have key role in the metabolism of vitamin A, they secrete cytokines and growth factors and play an important role in modulating the immune response in the liver. They are also involved in the regeneration of the liver, production of extracellular matrix components and control of the blood flow through the sinusoidal capillaries of liver lobules.

These complex functions are enabled by interactions of these cells and their microenvironment through different types of receptors that are located on surface of cell membrane and in nucleus of cell. Among these receptors, especially interesting are receptors for transforming growth factor β (TGF- β) and retinoid receptors.

During liver damage, Ito cells are activated with the functional and morphological change, and receive characteristics of myofibroblasts. In this form, they actively participate in the process of liver fibrosis, which ultimately leads to cirrhosis and liver failure. Since the therapeutic options for liver cirrhosis are still very limited, the aim of series of studies that are currently conducted is to find an adequate therapeutic site of action on Ito cells in order to withdraw the fibrosis.

Key words: hepatic stellate cell, function of hepatic stellate cell, activation of hepatic stellate cell, liver fibrosis.

1. UVOD

Osnovna građevna jedinica jetre je jetreni režnjić ili lobulus hepatis. Unutar jetrenog režnjića, jetrene stanice ili hepatociti tvore tračke ili ploče koje su međusobno povezane čineći složenu tvorbu nalik na labirint. Trački hepatocita su raspoređeni radijalno oko vene centralis, koja se nalazi u sredini režnjića. Između tračaka hepatocita su sinusoidne kapilare. To su nepravilno proširene krvne žile, građene od isprekidanog sloja fenestriranih endotelnih stanica. Sinusoidne kapilare sadržavaju i makrofage, koji se nazivaju Kupfferovim stanicama, a nalaze se na luminalnoj površini endotelnih stanica. Sinusoidne kapilare dijeli od hepatocita perikapilarni Disseov prostor i isprekidana bazalna lamina. U Disseov prostor strše mikrovili hepatocita. Također, upravo u Disseovom prostoru nalaze se Itove stanice, često opisivane i kao perisinusoidalne jetrene zvjezdolike stanice.

Danas su upravo ove stanice cilj brojnih istraživanja. Naime, novija istraživanja pokazuju da Itove stanice imaju veliki broj različitih funkcija, kako u zdravoj, tako i u bolesnoj jetri. U zdravoj jetri imaju važnu ulogu u pohranjivanju i metabolizmu retinoida, izlučivanju različitih čimbenika rasta, citokina i u regeneraciji jetre. Također reguliraju veličinu promjera lumena sinusoidnih kapilara te izlučuju i razgrađuju izvanstanični matriks [Senoo 2004; Friedman 2008]. U različitim patološkom stanjima, Itove stanice se aktiviraju. Tada prolaze kroz morfološku i funkcionalnu preobrazbu te se iz mirnih stanica pretvaraju u stanice sa svojstvima fibroblasta, odnosno miofibroblasta. Tada imaju glavnu ulogu u razvoju fibroze i ciroze jetre, što u konačnici rezultira razvojem insuficijencije jetre i smrću. Upravo zato ove stanice su danas predmet intenzivnog istraživanja i cilj su terapije kod fibroze jetre [Senoo 2004; Friedman 2008; Senoo i sur. 2010; Kisseleva & Brenner 2011; Cohen-Naftaly & Friedman 2011; Kisseleva i sur. 2012].

2. POVIJEST OTKRIĆA ITOVIH STANICA I NJIHOVO NAZIVLJE

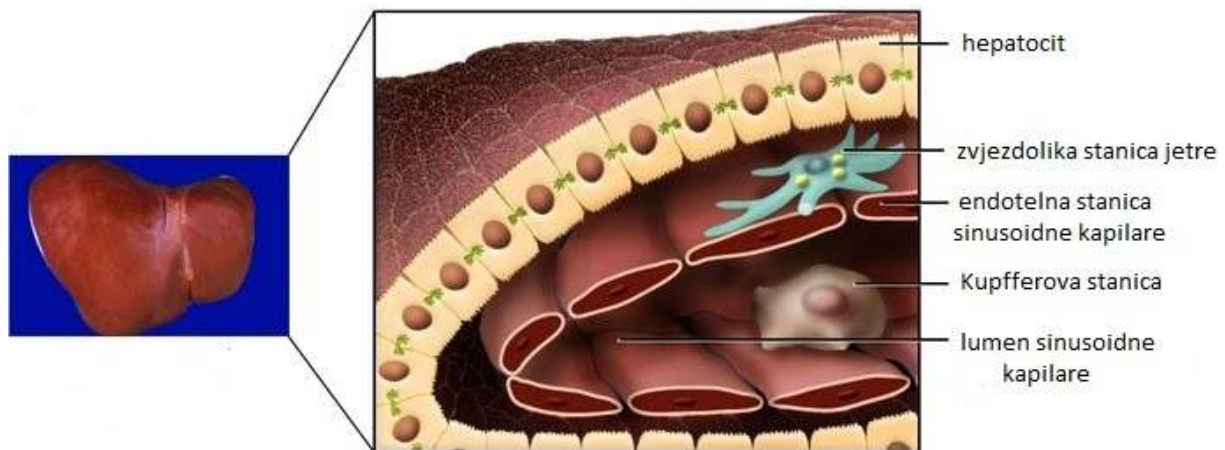
Kao što je često slučaj sa značajnim otkrićima u medicini, Itove stanice jetre otkrivene su slučajno. Tako je još davne 1876. godine neuroanatom Kupffer istraživao sastavnice živčanog sustava u jetri pokusnih životinja i čovjeka. Tada je uz pomoć bojenja zlatnim kloridom slučajno otkrio zvjezdolike stanice koje su bile istaknute među ostalim stanicama jetre. Zbog njihova oblika nazvao ih je zvjezdolikim stanicama (njem. Sternzellen). Već je tada točno opisao da se ove stanice nalaze u prostoru između hepatocita i endotelnih stanica sinusoidnih kapilara jetre. Njegova zapažanja o ovim stanicama u jetri čovjeka i drugih sisavaca potvrdio je Rothe već 1882.godine. Međutim, sam je Kupffer 1898.godine „ispravio“ svoje otkriće i opis zvjezdolikih stanica jetre te je zaključio da se tu radi o posebnoj vrsti endotelnih stanica koje fagocitiraju strani materijal. Od datuma te korekcije, naziv zvjezdolike stanice jetre (njem. Sternzellen) nestao je iz uporabe sve do 1971.godine. Tada je Wake, koristeći originalnu Kupfferovu metodu sa zlatnim kloridom, ponovo otkrio da se ove stanice nalaze u prostoru između sinusoidnih kapilara i hepatocita. One su biološki različite od Kupfferovih stanica koje su makrofazi, a nalaze se u lumenu sinusoidnih kapilara jetre.

Također, u razdoblju od 1898. do 1971.godine, ipak su mnogi istraživači uočili ove stanice, te su ih imenovali različitim nazivima. Neki od tih naziva su Itove stanice, granularne stanice, periciti, perisinusoidalne stanice, parasinusoidne stanice, metalofilne stanice, intersticijske stanice, stanice mezenhima, lipociti, stanice koje skladište mast, stanice koje pohranjuju vitamin A, stanice Disseovog prostora itd. Ti nazivi unosili su zbrku i bili su prepreka njihovom kvalitetnom istraživanju, čak i nakon njihovog ponovnog otkrića 1971.godine. Kako bi se riješio problem nazivlja i terminologije ovih stanica, 1996.godine vodeći

istraživači iz područja stanične biologije i fibroze jetre su se usuglasili da će se koristiti naziv zvjezdolike stanice jetre (HSC, engl. hepatic stellate cell) [Friedman 2008; Senoo i sur. 2010]. Ipak, u klasičnim udžbenicima histologije i patologije, ove stanice se često i dalje opisuju kao Itove stanice [Kummar i sur. 2000; Mescher 2013].

3. GRAĐA I POLOŽAJ ITOVIH STANICA JETRE

Zvjezdolike ili Itove stanice jetre su smještene u subendotelnom, perikapilarnom Disseovom prostoru, između bazolateralne površine hepatocita i stražnje strane endotelnih stanica sinusoidnih kapilara [Friedman 2008].



Slika 1: Zdrava jetra. Odnos zvjezdolikih stanica s drugim stanicama jetrenog reznjica. Prema: Bataller i Brenner (2005). Uz dopuštenje autora.

Tijela ovih stanica su vretenasta, a jezgra im je ovalna ili izdužena [Senoo i sur. 2010]. Tijela, čiji je volumen oko $700\mu\text{m}^3$, leže u udubljenjima između susjednih hepatocita. Od tijela ili perikariona se pružaju dendritični izdanci ovih stanica, a dugi su oko $20\text{--}30\mu\text{m}$. Ovi izdanci obuhvaćaju endotelne stanice sinusoidnih kapilara [Gressner & Weiskirchen 2006]. Neki od njih prolaze kroz tračke hepatocita te dolaze i do susjednih sinusoidnih kapilara. Na taj način, jedna zvjezdolika stanica jetre je zahvaljujući svojim nastavcima u kontaktu s dvije ili tri, pa nekad i četiri sinusoidne kapilare. U jetri štakora je izmjereno da ukupna duljina sinusoidne kapilare okružene s jednom zvjezdomlikom stanicom iznosi oko $60\text{ do }140\mu\text{m}$ [Senoo i sur. 2010].

Subendotelni nastavci Itovih stanica građeni su tako da imaju tri strane: unutrašnju, vanjsku i lateralnu. Unutrašnja je glatka i priliježe na bazalnu laminu endotelnih stanica sinusoidnih kapilara [Senoo i sur. 2010]. Između Itovih stanica i endotela sinusoidnih kapilara nalazi se i isprekidana bazalna lamina građena od kolagena tipa IV i laminina. Vanjska površina izdanaka Itovih stanica usmjerena je prema Disseovom prostoru i sadrži kratke mikrovile. Lateralni pak rubovi nastavaka Itovih stanica sadrže brojne šiljaste izdanke, čiji vrhovi imaju kontakt sa mikrovilima 20 do 40 hepatocita. Zato, s jedne strane Itove stanice prijanjaju na bazalnu laminu endotelnih stanica sinusoidnih kapilara, a s druge strane stvaraju točkaste kontakte s hepatocitima [Senoo i sur. 2010].

Zahvaljujući ovoj povezanosti kompleks hepatociti - zvjezdolika stanica - endotelne stanice mogu formirati funkcionalnu jedinicu koja se naziva **jedinica zvjezdolike stanice** ili **stelon** (prema engl. stellon) [Wake 2006]. Jedinica zvjezdolike stanice preklapa se s drugim sličnim jedinicama u jetrenom tkivu. Smatra se da funkcionalna povezanost stanica ove jedinice može olakšavati međustanični transport i parakrinu stimulaciju [Wake 2006; Senoo i sur. 2010].

Ultrastruktura Itovih stanica jetre

Itove stanice zdrave jetre pohranjuju najveći dio vitamina A u tijelu. Zato značajan dio citoplazme ovih stanica sadrži lipidne kapljice ispunjene vitaminom A [Senoo i sur. 2010]. Opisano je da lipidi prisutni u lipidnim kapljicama zvjezdolikih stanica jetre štakora uključuju ester retinila, trigliceride, ester kolesterila, kolesterol, fosfolipide i slobodne masne kiseline. Ester retinila i trigliceridi čine otprilike tri četvrtine ukupne količine lipida u lipidnim kapljicama [Blaner i sur. 2009]. U ovim stanicama opisane su dvije vrste lipidnih kapljica. Dio lipidnih kapljica omeđen je membranom građenom od dvosloja fosfolipida. Za razliku od toga, drugi dio kapljica nije okružen membranom [Wake 1974; 1975; 1980; Yamada i sur. 1987]. Međutim, iako se za postojanje tih dvaju oblika kapljica zna već niz godina, veza među

njima nije potpuno razjašnjena. Misli se da lipidne kapljice okružene membranom nastaju iz multivezikularnih tjelešaca, koja su dio sustava endosom-lizosom, a da kapljice koje nisu okružene membranom nastaju od njih [Wake 1974; 1975; 1980]. S druge strane, neki autori misle da su lipidne kapljice obavijene membranom zapravo autofagosomi kapljica bez membrane [Yamamoto & Ogawa 1983].

Osim lipidnih kapljica, u citoplazmi Itovih stanica nalazi se i dobro razvijena hrapava endoplazmatska mrežica. Za razliku od toga, glatka endoplazmatska mrežica je slabo zastupljena. Prisutnost veće količine hrapave endoplazmatske mrežice u citoplazmi zvjezdolikih stanica jetre ukazuje na značajnu biosintetsku aktivnost ovih stanica.

U Itovim stanicama postoje lizosomi te one imaju sposobnost fagocitoze. U njihovoj citoplazmi nalaze se također rani i kasni endosomi te multivezikularna tjelešca. Misli se da su multivezikularna tjelešca osnovna organela za formiranje lipidnih kapljica koje sadrže vitamin A. U citoplazmi zvjezdolikih stanica nalazi se i mala količina glikogena [Senoo i sur. 2010].

Jezgra Itovih stanica je okrugla ili ovalna. Na svojoj površini može imati udubine zbog lipidnih kapljica u citoplazmi, što se može jasno vidjeti na elektronskomikroskopskim snimkama. U jezgri se nalazi jedna ili više jezgrica [Senoo i sur. 2010].

Izdanci citoplazme zvjezdolikih Itovih stanica sadrže aktinske filamente i mikrotubule. Oni imaju odlučujuću ulogu u rastezanju i uvlačenju nastavaka [Sato & Senoo 1998]. Istraživanja su pokazala da središte nastavaka sadrži mikrotubule, a rubni dijelovi F-aktin. Uloga citoskeleta u strukturnoj potpori izdanaka pokazana je i nakon dodatka tvari koje razgrađuju citoskelet [Miura i sur. 1997; Sato i sur. 1998]. Nakon dodatka kolhicina (alkaloida izoliranog iz biljke *Colchicum autumnale*) dolazi do uvlačenja izduženih nastavaka zvjezdolikih stanica te one postaju okrugle. Ovaj učinak alkaloida kolhicina ovisan je o dozi i vremenu.

4. ZVJEZDOLIKE STANICE SMJEŠTENE IZVAN JETRE

Nakon što su zvjezdolike ili Itove stanice jetre detaljno opisane, postalo je jasno da slične stanice postoje i u drugim organima. Brojna morfološka i ultrastrukturalna istraživanja su pokazala da stanice koje skladište vitamin A postoje i izvan jetre i to u plućima, probavnom sustavu, slezeni, nadbubrežnoj žlijezdi, testisu, maternici, limfnim čvorovima, timusu, koštanoj srži, mokraćnom mjehuru i tonzilama. Pretpostavlja se da zvjezdolike stanice koje su smještene izvan jetre zajedno s Itovim stanicama jetre, tvore **sustav zvjezdolikih stanica**, koji regulira cjelokupnu homeostazu vitamina A u tijelu. Zanimljivo je da zvjezdolike stanice koje su smještene izvan jetre mogu sintetizirati i izlučivati komponente međustanične tvari, što je također i osobina zvjezdolikih stanica jetre [Senoo i sur. 2010].

Među zvjezdolikim stanicama koje su smještene izvan jetre, detaljno su proučene zvjezdolike stanice gušterače. One se smatraju odgovornim za nastanak kroničnog pankreatitisa i fibroze ovog organa. Nalaze u rahlom vezivu oko egzokrinih acinusa gušterače i čine oko 4 % ukupnog broja stanica u gušterači [Apte i sur. 1998; Bachem i sur. 1998]. Direktnom analizom transkriptoma, uočeno je da se zvjezdolike stanice jetre i gušterače razlikuju samo u 29 mRNA [Buchholz i sur. 2005]. Pretpostavlja se da je ova razlika među stanicama u jetri i gušterači posljedica različitog mikrookoliša u kojem su stanice smještene. Međutim, upravo bi te razlike u mikrookolišu između ovih dviju vrsti zvjezdolikih stanica mogle izazvati različit odgovor na normalnu homeostatsku kontrolu i ozljedu. Primjer tih razlika je činjenica da je ozljeda gušterače često udružena s raspadom zimogenih zrnaca, koja sadrže proteolitičke enzime, što nije slučaj prilikom oštećenja u jetri [Bachem i sur. 2006]. Unatoč tome, u kulturi stanica zvjezdolike stanice gušterače pokazuju slične funkcionalne i fenotipske promjene kao

i zvjezdolike stanice jetre, te se zbog toga smatraju također ciljnim stanicama u terapiji upale i fibroze jetre [Wells & Crawford 1998; Pinzani 1999; 2006].

5. PODRIJETLO ITOVIH STANICA JETRE

Podrijetlo Itovih stanica jetre danas je još uvijek velika zagonetka te se mišljenja različitih istraživača trenutno veoma razlikuju.

Većina istraživača smatra da one potječu od mezoderma poprečne pregrade (septum transversum) [Senoo i sur. 2010]. Naime, između trećeg i petog tjedna razvoja u čovjeka, proliferira jetreni pupoljak endodermalnog podrijetla, te u obliku jetrenih tračaka urasta u mezodermalnu ploču poprečne pregrade. Šireći se dalje, ovi endodermalni epitelni tračci urastaju među ogranke žumanjčanih i pupčanih vena, od kojih nastaju sinusoidne kapilare jetre. Sami epitelni tračci se diferenciraju u hepatocyte. Misli se da pri tome neke od stanica mezenhima poprečne pregrade ostaju zarobljene u subendotelnom prostoru, odnosno u prostoru između tračaka hepatocita i sinusoidnih kapilara. Ove subendotelne stanice bile bi preteče Itovih stanica jetre [Sadler 2013; Enzan i sur. 1997; Senoo i sur. 2010].

Za razliku od toga, drugi istraživači drže da su zvjezdolike stanice jetre endodermalnog podrijetla kao i jetreni divertikul, odnosno hepatociti. Naime, u obje vrste stanica primjećena je prolazna pojava citokeratina tijekom njihovog razvoja, odnosno diferencijacije [Vassy i sur. 1993; Kiassov i sur. 1995].

Suprotno pak gore navedenim mišljenjima, treća grupa istraživača misli da Itove stanice potječu od stanica neuralnog grebena, jer sadrže glijalni fibrilarni kiseli protein (GFAP, engl. glial fibrillary acidic protein) [Neubauer i sur. 1996] kao i nestin [Niki i sur. 1999]. Također, stanice neuralnog grebena mogu se diferencirati i u miofibroblaste koji sadrže aktin (α -SMA, engl. alpha-smooth muscle actin), marker aktiviranih Itovih stanica [Carlson 1999]. Nadalje, u

Itovim stanicama postoji izražaj adhezijske molekule živčane stanice (N-CAM, engl. neural cell adhesion molecule), sinaptofizina te neurotrofina, a to su molekule koje se karakteristično javljaju u živčanim stanicama. Osim toga, Itove stanice se mogu bojati po Golgiju, što se obično koristi za bojenje neurofilamenata [Wake 1980]. Ipak, podrijetlo Itovih stanica od stanica neuralnog grebena nije sigurno dokazano. Naime, otkriveno je da jetra u razvoju kao ni Itove stanice nisu pozitivne na žuti fluorescentni protein (YFP, engl. yellow fluorescent protein), koji je inače izražen u svim stanicama koje potječu od neuralnog grebena [Cassiman i sur. 2006].

Konačno, predloženo je i hematopoetsko podrijetlo ovih stanica [Baba i sur. 2004]. Dokazano je da koštana srž doprinosi povećanju broja zvjezdolikih stanica jetre. Naime, u miša sa cirotičnom jetrom, dio aktiviranih zvjezdolikih stanica ima podrijetlo iz matičnih stanica koštane srži [Russo i sur. 2006]. Međutim, u različitim modelima ozljede jetre ovaj rezultat nije konzistentan [Kisseleva i sur. 2006]. Zato je vjerojatno da je doprinos koštane srži repopulaciji zvjezdolikih stanica jetre različit kod različitih uzroka njene bolesti.

Zanimljiva je i mogućnost da zvjezdolike Itove stanice i endotelne stanice sinusoidnih kapilara potječu od iste vrste stanica. U prilog tome idu činjenice da su blizu smještene, imaju sličan mezenhimalni fenotip i izražavaju slične molekule na površini stanične membrane, kao što je npr. receptor za vaskularni endotelni čimbenik rasta (VEGF, engl. vascular endothelial growth factor) [Friedman 2008].

6. FUNKCIJA ITOVIH STANICA U NORMALNOJ JETRI

6.1 METABOLIZAM RETIONIDA

Vitamin A se može pojaviti u više oblika. Razlikujemo tri aktivna oblika (retinol, retinal, retinoična kiselina) te oblik u kojem je pohranjen (a koji se naziva ester retinila). Vitamin A u ljudskom organizmu ima više funkcija. Među njegovim značajnijim funkcijama ističe se uloga u fiziologiji vida jer sudjeluje u stvaranju vidnog pigmenta rodopsina. Također, djeluje kao antioksidans, sudjeluje u regulaciji prepisivanja gena, u reprodukciji, embrionalnom razvoju, potiče aktivnost imunostnog sustava itd. [Blomhoff & Blomhoff 2006].

U normalnim uvjetima, zvjezdolike Itove stanice imaju ključnu ulogu u metabolizmu vitamina A. One pohranjuju 50 do 80 % ukupne količine vitamina A u tijelu, a reguliraju i njegovo prenošenje i pohranu [Blomhoff & Blomhoff 2006]. Više od 95 % vitamina A u Itovim stanicama je prisutno u lipidnim kapljicama u obliku estera retinil palmitata. Normalne količine estera retinila u Itovim stanicama predstavljaju dovoljnu zalihu vitamina A za razdoblje od nekoliko tjedana ili mjeseci [Blomhoff i sur. 1990]. Ove zalihe estera retinila osiguravaju normalnu koncentraciju njegovog metabolita retinola u krvnoj plazmi na razini od 0.3 do 0.9 µg/ml, unatoč varijacijama u dnevnom unosu vitamina.

Sami retinodi su lipofilne molekule, i nisu stabilni u vodenom mediju stanice i krvi. Zato važnu ulogu u njihovom metabolizmu ima skupina bjelančevina koje vežu retinoide. One čine retinoide topljivima i stabiliziraju njihov hidrofobni i labilni dio u vodenom mediju. Također, ove specifične bjelančevine koje vežu retinoide, imaju i druge funkcije u regulaciji prijenosa, metabolizma i djelovanja retinoida s kojima se udružuju [Senoo i sur. 2010].

Glavni oblik vitamina A, sve-trans-retinol (engl. all-trans-retinol), cirkulira u krvi vezan za bjelančevinu koja veže retinol (RBP, engl. retinol binding protein) [Kanai i sur. 1968]. Unutar stanica u organizmu, sve-trans-retinol i njegov oksidacijski produkt, sve-trans-retinal, vezani

su za bjelančevinu koja veže retinol, a koja se nalazi u tri izoformna oblika [Zizola i sur. 2008].

6.1.1 Prijenos i metabolizam vitamina A u organizmu

Prije nego ih apsorbiraju enterociti, esteri retinila iz hrane se u lumenu crijeva hidroliziraju do retinola. Za razliku od toga, karotenoidi se apsorbiraju i onda djelomično prerađuju u retinol u enterocitima. Retinol u enterocitima ulazi u reakciju s masnim kiselinama pri čemu ponovo nastaju esteri retinila, koji se zatim ugrađuju u hilomikrone. Hilomikroni najprije ulaze u limfe žile, a zatim dopijevaju u krv. Hepatociti zatim apsorbiraju gotovo sve estere retinila koji su putem hilomikrona ušli u krv. U hepatocitima, esteri retinila se brzo hidroliziraju do retinola, koji se onda veže za bjelančevinu koja veže retinol. Hepatociti izlučuju kompleks retinol-bjelančevina koja veže retinol, a nakon toga ovaj se kompleks prenosi do Itovih stanica, u koje ulazi putem endocitoze posredovane receptorima. Zvezdolike Itove stanice pohranjuju pak vitamin A uglavnom kao retinil palmitat, a u krv izlučuju kompleks retinol-bjelančevina koja veže retinol. Jedan dio ovog kompleksa se u krvi reverzibilno veže sa bjelančevinom plazme transtiretinom, dok preostali dio nevezanog kompleksa retinol-bjelančevina koja veže retinol iskorištavaju razne stanice u tijelu i to pomoću svojih receptora smještenih na staničnoj membrani [Senoo i sur. 2010].

6.2 IZLUČIVANJE ČIMBENIKA RASTA, CITOKINA I LIPOPROTEINA

6.2.1. Sekrecija čimbenika rasta i citokina

Itove stanice izlučuju različite vrste citokina i čimbenika rasta koje mogu djelovati autokrino i parakrino. Parakrino znači da postoji djelovanje na susjedne stanice, dok se autokrino djelovanje očituje u činjenici da čimbenici koje izluči Itova stanica djeluju na nju samu. Itove

stanice izlučuju čitav niz citokina, kako u normalnoj jetri, tako i prilikom njene ozljede. U ovom poglavlju će biti spomenuti neki od njih.

Itove stanice izlučuju transformacijski čimbenik rasta α (TGF- α , engl. transforming growth factor alpha), epidermalni čimbenik rasta (EGF, engl. epidermal growth factor) i čimbenik rasta hepatocita (HGF, engl. hepatocyte growth factor). Pretpostavlja se da ovi čimbenici imaju važnu ulogu u procesu regeneracije jetre zbog stimulirajućeg učinka na proliferaciju hepatocita, što je primjer parakrine stimulacije [Meyer i sur. 1990; Mullhaupt i sur. 1994]. Sličan učinak na regeneraciju jetre ima i fibroblastni čimbenik rasta (FGF, engl. fibroblast growth factor) koji također izlučuju zvjezdolike Itove stanice jetre [Mardsen i sur. 1992]. Ovi mitogeni, osim čimbenika rasta hepatocita, imaju stimulirajući učinak i na Itove stanice.

Itove stanice izlučuju i čimbenik rasta trombocita (PDGF, engl. platelet derived growth factor). To je molekula s najjačim mitogenim djelovanjem na Itove stanice. Izlučivanje te molekule, kao i brojnost njenih receptora na površini ovih stanica, se značajno povećava nakon ozljede jetre [Pinzani i sur. 1989; Pinzani i sur. 1994b].

Kao odgovor na ozljedu, Itove stanice izlučuju i transformacijski čimbenik rasta $\beta 1$ (TGF- $\beta 1$, engl. transforming growth factor $\beta 1$). To je citokin koji potiče Itove stanice da izlučuju kolagen tipa I, pa nastaje fibroza. Taj učinak se ostvaruje autokrinim i parakrinim djelovanjem. Osim ovog učinka, autokrino djelovanje ovog čimbenika ima veoma važnu ulogu u pretvorbi Itovih stanica u miofibroblaste [Bissel i sur. 1995; Gressner i sur. 2002].

Itove stanice izlučuju i čimbenik koji potiče stvaranje kolonija makrofaga (M-CSF, engl. macrophage colony-stimulating factor) [Pinzani i sur. 1992], čimbenik koji privlači monocite (MCP-1, engl. monocyte chemoattractant protein-1) [Czaja i sur. 1994] te čimbenik aktivacije trombocita (PAF, engl. platelet activating factor) [Pinzani i sur. 1994a]. Izlučivanje navedenih čimbenika je pojačano nakon ozljede jetre, zbog čega oni imaju bitnu ulogu u aktivaciji Itovih

stanica, te nakupljanju upalnih stanica. To pojačava upalu i stvaranje veziva u jetri. Ovaj proces podupire i izlučivanje interleukina 6 (IL-6, engl. interleukine 6) od strane Itovih stanica [Greenwel i sur. 1993].

Itove stanice jetre sadrže i ključne enzime za sintezu kateholamina (kao što je dopamin-B-hidroksilaza) te izlučuju noradrenalin i druge kateholamine. Utvrđeno je da i one same sadrže receptore za kateholamine te da koriste kateholamine za autoregulaciju vlastitog rasta. Blokadom receptora za kateholamine na ovim stanicama α - ili β - antagonistima, dolazi do pojačane apoptoze zvjezdolikih stanica jetre i smanjenja njihovog broja. Također, dodatkom egzogenih kateholamina u kulturu ovih stanica dolazi do značajne proliferacije Itovih stanica koja je ovisna i o dozi. Na temelju ovih saznanja, došlo se do zaključka da blokada djelovanja kateholamina na zvjezdolike Itove stanice predstavlja potencijalno mjesto sprječavanja fibroze jetre prilikom njezine ozljede [Oben i sur. 2004; Sigala i sur. 2013].

Nadalje, ove stanice izlučuju i endotelin (ET-1, engl. endothelin-1), koji na njih same djeluje putem odgovarajućeg receptora. Endotelin izaziva kontrakciju kako Itovih stanica u mirovanju, tako i miofibroblasta, što vjerojatno pridonosi razvoju portalne hipertenzije kod ciroze jetre [Marra & Pinzani 2002]. Također, zvjezdolike stanice jetre izlučuju i dušični oksid (NO, engl. nitrous oxide), koji je prirodni antagonist endotelina [Rockey & Chung 1995]. Pretpostavlja se da je izlučivanje dušičnog oksida kompenzacijski odgovor ovih stanica na izlučivanje endotelina što omogućuje održavanje protoka krvi kroz jetru.

6.2.2 Apolipoproteini i lipidi

Zvjezdolike Itove stanice izlučuju i određene apolipoproteine, kao što je npr. apolipoprotein E. Međutim, funkcionalno značenje izlučivanja apolipoproteina Itovih stanica za sada nije poznato [Ramadori i sur. 1991].

Osim lipoproteina, ove stanice izlučuju i druge lipidne molekule, kao što su prostaglandini. Oni igraju određenu ulogu u metabolizmu jetre. Također, zvjezdolike Itove stanice otpuštaju neke vrste prostaglandina kada im se u *in vitro* uvjetima doda noradrenalin. Za razliku od toga, aktivirane Itove stanice štakora izlučuju pak druge vrste prostaglandina. Međutim, kao što je slučaj i sa apolipoproteinima, funkcija izlučivanja prostaglandina Itovih stanica do sada nije dovoljno proučena [Athari i sur. 1994].

6.3 ULOGA U IMUNOSNIM REAKCIJAMA

Zvjezdolike Itove stanice jetre imaju važnu ulogu u imunosnim reakcijama. Izlučuju čimbenike kao što su: čimbenik koji potiče stvaranje kolonija makrofaga (M-CSF), čimbenik koji privlači monocite (MCP-1) i čimbenik aktivacije trombocita (PAF). Zbog toga one prilikom oštećenja jetre pojačavaju njen upalni odgovor stimulirajući infiltraciju monocita i neutrofilnih granulocita. Također djeluju i kao predočne stanice te mogu predočiti peptidne antigene prirodnoubilačkim stanicama (NK, engl. natural killer cells) i T-limfocitima [Winau i sur. 2007]. Zvjezdolike Itove stanice sadrže i tzv. „carinske” receptore (TLR, engl. toll-like receptors) pomoću kojih mogu prepoznati bakterijske lipopolisaharide [Brun i sur. 2005]. Stimulacija „carinskog” receptora izaziva ekspresiju adhezijskih molekula i izlučivanje niza proupalnih čimbenika koji djeluju na upalne stanice i pojačavaju upalni odgovor protiv patogenih bakterija. Čimbenici koji se izlučuju u sklopu ovog upalnog odgovora mogu opet djelovati poticajno na Itove stanice. Tako se stvara začarani krug između upalnog i fibrogennog djelovanja [Maher 2001].

6.4 ULOGA U RAZVOJU I REGENERACIJI JETRE

Itove stanice imaju važnu funkciju u razvoju i regeneraciji jetre. To je potvrđeno istraživanjima u kulturi stanica fetalne jetre miša. Dokazano je da ove stanice, za koje je

karakteristično da sadrže aktin, dezmin i vimentin, potiču sazrijevanje preteča hepatocita [Baba i sur. 2004]. Također, one svojom parakrinom stimulacijom omogućuju razvoj intrahepatičnih žučnih vodova [Libbrecht i sur. 2002; Kinnman i sur. 2003; Kruglov i sur. 2006]. Što se tiče njihove uloge u regeneraciji jetre, u prilog tome govori niz čimbenika koje izlučuju, a koji djeluju na hepatocyte u kulturi. Među njima se ističu čimbenik rasta hepatocita (HGF) i epidermalni čimbenik rasta (EGF) [Schirmacher i sur. 1992; Mullhaupt i sur. 1994]. Njihova uloga u regeneraciji dokazana je također i u *in vivo* uvjetima, nakon odstranjenja dijela jetre. Nakon što se u štakora odstrani 70 % jetre, dolazi do proliferacije hepatocita i aktivacije Itovih stanica, pojačanog izražaja dezmina u njima i smanjenja količine vitamina A u njihovoj citoplazmi [Higashi i Senoo 2003; Mabuchi i sur. 2004].

7. STANIČNI RECEPTORI I REGULACIJA PREPISIVANJA U ITOVIM STANICAMA

7.1 RECEPTORI STANIČNE MEMBRANE

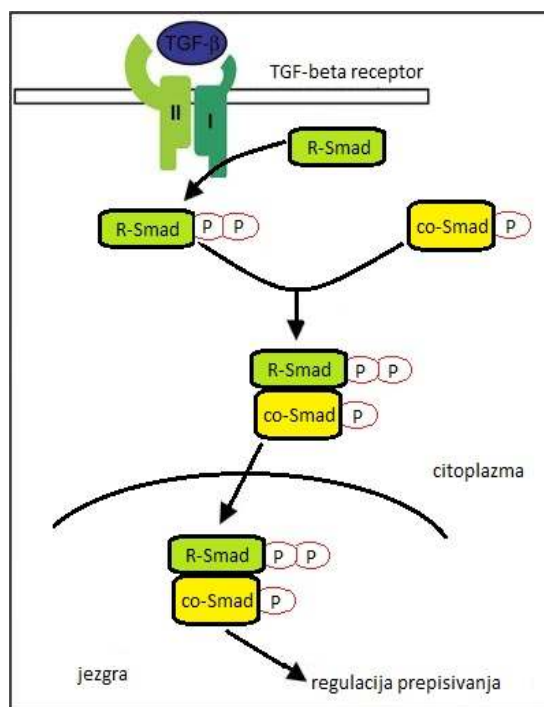
Ponašanje i aktivnost Itovih stanica određuje njihova interakcija s okolinom. Ključnu ulogu u tome imaju receptori na površini njihovih staničnih membrana. Vezanjem odgovarajućeg liganda na receptore ostvaruju se specifični unutarstanični učinci. Važan učinak na regulaciju biologije Itovih stanica imaju citokini. Do sada je identificirano nekoliko receptora za citokine i to kako u mirnim, tako i u aktiviranim Itovim stanicama. Osim receptora za citokine, na njihovoj površini otkriven je također niz drugih receptora (npr. integrini) [Friedman 2008].

7.1.1 Receptori za transformacijski čimbenik rasta β (TGF- β) i unutarstanična signalizacija

U Itovim stanicama su detaljno opisani receptori za transformacijski čimbenik rasta β (TGF- β , engl. transforming growth factor beta). Na površini stanične membrane ovih stanica nalaze se tri vrste receptora: T β RI, T β RII i T β RIII. Receptori T β RI i T β RII su strukturno slični serin/treonin kinazi koja se sastoji od izvanstanične domene, zatim hidrofobnog transmembranskog dijela te unutarstaničnog dijela s aktivnošću kinaze. Osim tih receptora, bitnu ulogu u prijenosu signala imaju i signalne molekule Smad (Feng & Derynck 2005). Postoje 3 skupine Smad molekula: R-Smad molekule (Smad vezane na receptore), co-Smad molekule (Smad posredničke molekule) i I-Smad molekule (Smad inhibitorne molekule).

Nakon stimulacije T β RII receptora odgovarajućim ligandom, on fosforilira T β RI. To uzrokuje fosforilaciju R-Smad molekule te stvaranje heterodimera sa co-Smad molekulom. Nastali kompleks putuje u jezgru i pojačava ekspresiju gena za kolagen tipa I (vidi sliku 2). Nakon prijenosa signala dolazi do aktivacije I-Smad molekula koje se vežu na T β RI i na taj način spriječavaju daljnju fosforilaciju R-Smad molekula. Što se tiče T β RIII receptora, oni

sudjeluju u signalizaciji indirektno, regulirajući signalizaciju putem T β RI i T β RII receptora [Gressner & Weichkirchen 2006].



Slika 2: Prikaz unutarstanične signalizacije Itovih stanica potaknute s TGF- β

Osim navedenih molekula, važnu ulogu tijekom djelovanja TGF- β na Itove stanice imaju i adaptori ovog signalnog puta, kao što je embrionalni jetreni fodrin (ELF, engl. embryonic liver fodrin). Pretpostavlja se da ELF ima središnju ulogu u TGF- β signalizaciji. Blokiranje TGF- β signalizacije u Itovim stanicama predstavlja također jedan od načina potencijalnog liječenja fibroze jetre koji mnogo obećava [Wang i sur. 2012].

7.1.2 Drugi receptori stanične membrane

Receptor za čimbenik rasta trombocita (PDGF) je jedan od prvih receptora identificiranih na površini Itovih stanica. On je sastavljen od dvije podjedinice, α i β , koje mogu biti spojene u obliku homo- ili heterodimera. Aktivacijom PDGF receptora, dolazi do aktivacije signalnog

puta u kojem važnu ulogu imaju signalna molekula Ras, ERK/MAP kinazni put te fosfoinozitol 3-kinaza (PI 3-kinaza) [Friedman 2008].

Učinke endotelina omogućuju receptori vezani za G-protein. Receptori endotelina tipa A i B su otkriveni u mirnim, ali i u aktiviranim Itovim stanicama. Zastupljenost te dvije vrste receptora se mijenja aktivacijom Itovih stanica. Receptor tipa B je posrednik koji prevladava kod kontrakcije Itovih stanica [Friedman 2008].

Tijekom aktivacije Itovih stanica, dolazi i do indukcije receptora za vaskularni endotelni čimbenik rasta (VEGF), čija je stimulacija povezana s povećanom mitotskom aktivnošću Itovih stanica. Ovo otkriće sugerira da su Itove stanice uključene i u proces angiogeneze.

Kao što je ranije navedeno, osim receptora za citokine, Itove stanice sadrže i receptore za druge molekule. Primjer su integrini, koji su bitni za prijenos signala iz izvanstaničnog matriksa u samu stanicu. Osim integrina, postoje i drugi receptori koji omogućuju vezu s molekulama matriksa. Primjer je receptor hijaluronske kiseline (CD44) koji sudjeluje u staničnoj migraciji [Friedman 2008].

Zanimljivo je da na staničnoj membrani zvjezdolikih Itovih stanica postoje i kanabinoidni receptori (CB1 i CB2, engl. cannabinoid receptors). Aktivacija, odnosno stimulacija CB2 receptora rezultira apoptozom Itovih stanica, i ima antifibrogeni učinak. Obrnuto, tijekom pretvorbe Itovih stanica u miofibroblaste dolazi do aktivacije receptora CB1. Blokiranje CB1 receptora ima za posljedicu promjenu unutarstaničnih signalnih puteva. To se očituje smanjenim izražajem aktivnosti transformacijskog čimbenika rasta β (TGF- β), kao i smanjenom proliferacijom Itovih stanica, a to sve zajedno dovodi do regresije fibroze [Friedman 2008].

U zadnje vrijeme proučavaju se i receptori za angiotenzin. Ustanovljeno je da aktivacija tih receptora ima važnu ulogu u procesu aktivacije Itovih stanica. Zato, potencijalni antagonisti

ovih receptora također predstavljaju moguće mjesto za djelovanje antifibrozne terapije [Friedman 2008].

Osim ovih receptora, postoji još niz drugih receptora, čijom bi se aktivacijom i prijenosom signala moglo ostvariti djelovanje na aktivnost i fenotip ovih stanica.

7.2 RECEPTORI JEZGRE

Unutarstanični receptori su dio natporodice (engl. superfamily) receptora jezgre. Oni u prisutnosti specifičnih liganda migriraju u jezgru stanice i djeluju kao čimbenici prepisivanja. Među njima najbolje su proučeni receptori za retinoide te receptori za aktivaciju proliferacije peroksisoma (PPARs, engl. peroxisome proliferators activated receptors).

7.2.1 Receptori za retinoide

Obzirom da Itove stanice imaju važnu ulogu u metabolizmu retinoida, receptori za retinoide su u njima detaljno istraženi. Zvjezdolike Itove stanice jetre sadrže ukupno šest vrsta receptora za retinoide i to: tri vrste receptora za retinoičnu kiselinu (RAR- α , RAR- β , RAR- γ), i tri vrste retinoidnih X receptora (RXR- α , RXR- β , RXR- γ). Zanimljivo je da različite vrste retinoida izazivaju različite učinke na Itovu stanicu. Tako agonisti retinoidnih X receptora smanjuju proliferaciju Itovih stanica, sintezu kolagena tipa I i fibronektina. Za razliku od toga, agonisti receptora za retinoičnu kiselinu, iako nemaju utjecaj na proliferaciju ovih stanica, smanjuju sintezu kolagena tipa I, tipa III i fibronektina. Također, primjena tvari koje specifično blokiraju receptore za retinoičnu kiselinu dovodi do pojačane diobe zvjezdolikih Itovih stanica. Na temelju toga se može zaključiti da receptori za retinoide tvore kompleksan sustav signaliziranja koji može imati dvojaki učinak na Itove stanice [Friedman 2008].

7.2.2 Receptori za aktivaciju proliferacije peroksisoma (PPARs)

Receptori za aktivaciju proliferacije peroksisoma (PPARs, engl. peroxisome proliferators activated receptors) su porodica čimbenika prepisivanja u jezgri koji su široko rasprostranjeni, a neki njihovi članovi, kao naprimjer PPAR- β , PPAR- γ i PPAR- δ , su pronađeni u Itovim stanicama jetre. Istraživanjima na kulturama stanica te na životinjama, utvrđeno je da je aktivnost PPAR- γ smanjena tijekom aktivacije Itovih stanica. Zato stimulacija receptora za aktivaciju proliferacije peroksisoma njegovim ligandom može usporiti proces aktivacije ovih stanica. Ta otkrića su temelj kliničkim istraživanjima u kojima se u terapiji primjenom PPAR- γ liganda nastoji omesti proces fibroze jetre u različitim bolestima, kao što su npr. masna jetra, fibroza jetre udružena s metaboličkim sindromom i kronično oštećenje jetre izazvano infekcijom virusom hepatitisa C [Friedman 2008].

U Itovim stanicama postoje i brojni drugi receptori jezgre, kao što su npr. receptori za glukokortikoide, estrogene, vitamin D, ali je njihova uloga daleko slabije istražena.

7.3 TRANSKRIPCijsKA REGULACIJA STANIČNOG PONAŠANJA

Kontrola prepisivanja gena DNA u zvjezdolikim stanicama vrši se na više razina i to: na razini prepisivanja, prevođenja, posttranslacije i epigenetskim mehanizmima. Proces aktivacije uključuje promjene u složenoj unutarstaničnoj signalizaciji i obuhvaća promjene niza čimbenika prepisivanja koji mijenjaju aktivnost pojedinih gena u stanici. Najbolje su istraženi čimbenici prepisivanja koji reguliraju aktivnost gena za: kolagen tipa I, receptore za TGF- β , enzime kao što su metaloproteinaze matriksa (MMP, engl. matrix metalloproteinases) i njihove tkivne inhibitore (TIMP, engl. tissue inhibitors of metalloproteinases).

Načini djelovanja pojedinih čimbenika prepisivanja su različiti. Primjer su Foxf1 i JunD, predstavnici tzv. aktivacijskih čimbenika prepisivanja čiji je pojačani izražaj potreban za aktivaciju zvjezdoolikih stanica jetre [Friedman 2008].

S druge strane, čimbenici prepisivanja kao što je KLF6 (engl. kruppel-like factor 6) mogu imati dvojak učinak na prepisivanje u smislu stimuliranja ili inhibiranja proliferacije. Koji će od ta dva učinka prevladati, ovisi o procesu posttranslacijskih preinaka kojem podliježe ovaj čimbenik. Zbog posttranslacijske preinake tijekom aktivacije zvjezdolikih stanica, postoji dominacija kratkih oblika čimbenika i oni stimuliraju proliferaciju stanica. Dulji oblici istog čimbenika pak inhibiraju proliferaciju zvjezdolikih Itovih stanica [Friedman 2008].

Nadalje, neki čimbenici, kao što je na primjer čimbenik jezgre kapa B (NF κ B, engl. nuclear factor kappa B), prolaze proces epigenetske regulacije. Tu dolazi do procesa metilacije u promotorskom području gena, zbog čega se smanjuje njegova aktivnost. Prilikom aktivacije Itovih stanica dolazi do pojačane metilacije inhibitora kapa B (I κ B, engl. inhibitor of kappa B), glavnog utišivača kompleksa NF κ B. Zato dolazi do smanjenja aktivnosti I κ B i njegove smanjene inhibicije na NF κ B. To dakle izaziva porast aktivnosti NF κ B i omogućuje preživljenje Itovih stanica. Nadalje, podupire se fibrogeneza i izlučivanje upalnih kemokina, koji pak djeluju na aktivnost samih Itovih stanica mehanizmom autoregulacije [Friedman 2008; Zhao i sur. 2013].

I konačno, neki čimbenici prepisivanja djeluju tako da omogućuju održavanje Itovih stanica u njihovom mirnom fenotipu [Friedman 2008].

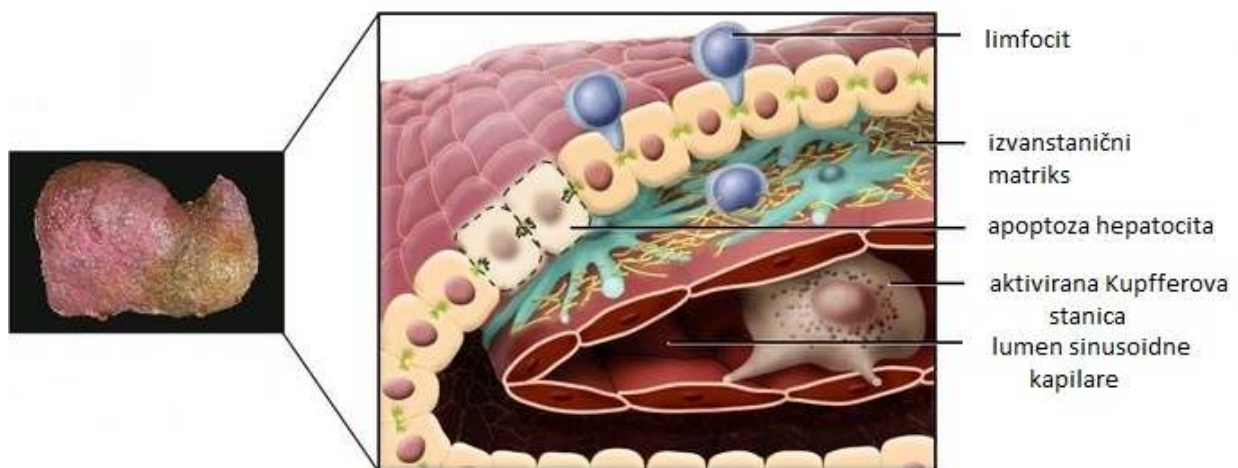
Već i ovaj kratki uvid u djelovanje nekih od čimbenika prepisivanja gena jasno ukazuje na kompleksnost procesa kontrole biologije Itovih stanica.

8. ULOGA ITOVIH STANICA KOD OŠTEĆENJA JETRE –

AKTIVACIJA ITOVIH STANICA

Perisinusoidalne zvjezdolike Itove stanice imaju ključnu ulogu u fibrozi jetre. To je proces koji nastaje kao odgovor na kronično oštećenje ovog organa. Pri tom dolazi do nesrazmjera između stvaranja i razgradnje međustanične tvari, a normalni parenhim se zamjenjuje vezivnim tkivom. Time se narušava građa i normalna funkcija jetre te dolazi do aktivacije Itovih stanica [Xu i sur. 2012].

„Aktivacija“ Itovih stanica odnosi se na njihovu morfološku i funkcionalnu preobrazbu iz stanica bogatih vitaminom A u miofibroblaste. Miofibroblasti imaju veliku sposobnost proliferacije, kontrakcije, kao i veliki potencijal u izlučivanju izvanstaničnog matriksa [Friedman 2008]. Utvrđeno je da su izvori miofibroblasta tijekom fibroze također i stanice podrijetlom iz koštane srži, kao i fibroblasti iz perifernog djela jetrenog reznjića. Novija istraživanja potvrđuju da epitelno-mezenhimska, odnosno mezotelno-mezenhimska pretvorba također predstavlja izvor miofibroblasta [Xu i sur. 2012].



Slika 3: Fibroza jetre. Disseov prostor sadrži znatno povećanu količinu izvanstaničnog matriksa. Apoptoza dijela hepatocita. Infiltracija limfocita.

Prema Bataller i Brenner (2005). Uz dopuštenje autora.

8.1 POKRETANJE AKTIVACIJE ITOVIH STANICA

Pokretanje aktivacije Itovih stanica je stadij prije početka upale, a odnosi se na promjene u njihovom genotipu i fenotipu. Pri tome ključnu ulogu imaju brojni čimbenici, kao na primjer slobodni radikali kisika, apoptotična tjelešca hepatocita i lipopolisaharidi. Također, važna je međusobna parakrina stimulacija između Itovih stanica i endotela sinusoidnih kapilara te hepatocita, Kupfferovih stanica te trombocita [Xu i sur 2012].

Kupfferove stanice aktiviraju Itove stanice svojim izlučivanjem citokina (među kojima je najznačajniji TGF- β) i slobodnim radikalima kisika [Bilzer i sur. 2006]. Blokada infiltracije makrofaga na mjesto ozljede sprječava pretvorbu Itovih stanica u miofibroblaste i suprimira fibrozu [Imamura i sur. 2005]. Endotelne stanice pretvaraju TGF- β iz latentnog u aktivni oblik te izlučuju fibronektin, što također potiče aktivaciju Itovih stanica. Hepatociti potiču ovaj proces aktivacije na više načina. S jedne strane, oni su izvor lipidnih peroksida. S druge strane, apoptoza hepatocita i njihovi apoptotični fragmenti također imaju jak utjecaj na Itove stanice. Zvezdolike stanice i Kupfferove stanice fagocitiraju ova apoptotična tjelešca i to ih potiče na izlučivanje TGF- β [Canbay i sur. 2002; Canbay i sur. 2004]. Doprinos trombocita pokretanju aktivacije Itovih stanica očituje se u njihovom parakrinom djelovanju, prvenstveno izlučivanjem čimbenika: PDGF, EGF i TGF- β [Bachem i sur. 1989].

8.2 NASTAVAK I TRAJANJE AKTIVACIJE ITOVIH STANICA

Nastavak i trajanje aktivacije ovih stanica se očituje u nekoliko karakterističnih promjena staničnog ponašanja. To uključuje njihovu proliferaciju, kemotaksiju, kontraktilnost, fibrogenezu, degradaciju međustanične tvari, nestanak retinoida iz citoplazme i otpuštanje citokina. Dok je pokretanje aktivacije Itovih stanica rezultat uglavnom parakrine stimulacije od strane susjednih stanica, u nastavku i trajanju njihove aktivacije ključnu ulogu ima, uz parakrinu, i autokrina stimulacija [Friedman 2008].

8.2.1 Proliferacija aktiviranih Itovih stanica

Citokin s najjačim učinkom na mitozu Itovih stanica je čimbenik rasta trombocita (PDGF). Njihova osjetljivost na PDGF se povećava prilikom aktivacije ovih stanica zbog povećanog izražaja receptora za PDGF na staničnoj membrani, kao i zbog pojačane sinteze ovog čimbenika. Izlučuju ga i same Itove stanice, ali i druge stanice, kao npr. trombociti [Bachem i sur. 1989; Pinzani i sur. 1994b]. To je primjer autokrinog, ali i parakrinog djelovanja. Druge tvari koje stimuliraju proliferaciju Itovih stanica su: VEGF, EGF, TGF- α [Yoshiji i sur. 2003; Steiling i sur. 2004].

8.2.2 Fibrogeneza aktiviranih Itovih stanica

Fibrogeneza je proces stvaranja i umnažanja veziva. Nakon što budu aktivirane, Itove stanice proizvode povećanu količinu komponenti izvanstaničnog matriksa, kao što su kolageni, proteoglikani te glikoproteini. Kolageni su najzastupljenija i najbolje proučena komponenta izvanstaničnog matriksa. Udio različitih vrsta kolagena u izvanstaničnom matriksu aktiviranih Itovih stanica je slijedeći: kolagen tipa I 88.2 %, kolagen tipa III 10.4 %, a kolagen tipa IV 1.4 % [Senoo 2004]. Rezultati istraživanja pokazuju da je ključan proces koji dovodi do fibroze jetre poremećaj regulacije gena za kolagen u jezgrama Itovih stanica [Davis i sur. 1996]. Kao povratni učinak, i promjene u građi izvanstaničnog matriksa djeluju stimulirajuće na Itove stanice i potiču njihovu fibrogenezu. Kolagen tipa IV, fibrinogen i aktivator plazminogena stimuliraju Itove stanice aktiviranjem citokina kao što je TGF- β [Gressner i sur. 2002]. Citokin TGF- β , kao i hiperglikemija i hiperinzulinemija kod pretilih te dijabetesa tipa 2 potiču Itove stanice na izlučivanje čimbenika rasta vezivnog tkiva (CTGF, engl. connective tissue growth factor), koji je također ključna molekula u patogenezi kronične fibroze jetre. Na taj način ciroza jetre može biti izazvana pretilošću, kao i dijabetesom tipa 2.

8.2.3 Razgradnja izvanstaničnog matriksa

Kod kroničnog oštećenja jetre, postoji neravnoteža između fibrogeneze, odnosno stvaranja izvanstaničnog matriksa, i fibrolize, odnosno njegove razgradnje. U remodeliranju matriksa ključnu ulogu imaju metaloproteinaze matriksa (MMP). To su enzimi koji razgrađuju molekule kolagena i druge molekule. Postoji veći broj metaloproteinaza matriksa, no u procesu fibroze jetre ključnu ulogu ima metaloproteinaza matriksa tip 1 (MMP-1). To je proteaza koja može razgraditi dominantan tip kolagena u fibrozi jetre, a to je kolagen tipa I. Nadalje, za vrijeme progresivne ozljede jetre, Itove stanice pojačano izlučuju tkivne inhibitore metaloproteinaza (TIMP). To su molekule koje reguliraju aktivnost MMP blokiranjem njihovog proteolitičkog djelovanja na izvanstanični matriks. Na taj način, pojačano izlučivanje TIMP dovodi do smanjene razgradnje izvanstaničnog matriksa, čija se količina zato i povećava tijekom ozljede jetre [Friedman 2008].

8.2.4 Kemotaksija

Važno obilježje aktivirane Itove stanice je i njeno svojstvo kemotaksije, tj. njezine migracije prema određenim citokinima koji ju privlače nasuprotno koncentracijskom gradijentu [Pinzani i sur. 1994b]. Mehanizam kemotaksije je dobro proučen na PDGF-u. Prilikom kemotaksije Itove stanice se šire na vrhu, tijelo im se pomiče prema citokinu, uz uvlačenje njihovih zaostalih izdanaka [Melton & Yee 2007].

8.2.5 Kontraktilnost

Kontraktilnost je jedna od glavnih značajki aktivacije Itovih stanica. Tijekom njihove aktivacije, značajno raste ekspresija aktina (α -SMA) u ovim stanicama što se također može koristiti kao marker kontraktilnog potencijala stanice [Jonhson i sur. 1992; Hinz i sur. 2001]. Povećana kontraktilnost Itovih stanica dovodi do stezanja sinusoidnih kapilara. Taj proces,

zajedno s pojačanim odlaganjem izvanstaničnog matriksa u Disseovom prostoru i oko središnje vene, dovodi do ometanja normalnog protoka krvi kroz jetru. Posljedica toga je povećani otpor i porast tlaka u portalnom sustavu [Rockey 2001a, 2001b].

8.2.6 Gubitak retinoida

Uloga retinoida u regulaciji aktivacije Itovih stanica nije u potpunosti razjašnjena. Tijekom procesa aktivacije dolazi do gubitka zaliha retinoida iz Itovih stanica. Međutim, nije poznato je li taj proces nužan za nastavak same aktivacije [Minato i sur. 1983; Friedman i sur. 1993]. Izvješća o učinku retinoida na Itove stanice i proces fibroze nisu u potpunosti usuglašena. U kulturi stanica ester retinila i retinoična kiselina suprimiraju proliferaciju Itovih stanica, pri čemu je retinoična kiselina 1000 puta učinkovitija od estera retinila [Davis i sur. 1990]. Nasuprot tome, određeni derivati retinoične kiseline, kao što je npr. 9,13-di-cis-retinoična kiselina, potiču fibrozu jetre stimulirajući aktivator plazminogena. Ovaj pak stimulira TGF- β , što konačno ima snažan profibrogeni učinak [Okuno i sur. 1999].

9. ODNOS ADIPOKINA I ITOVIH STANICA U OŠTEĆENJU

JETRE

Adipokini ili citokini masnog tkiva su polipeptidne molekule koje izlučuje masno tkivo. Među njima, najznačajniji su leptin i adiponektin.

9.1 Leptin

Leptin je polipeptid kojeg izlučuju masne stanice, adipociti. On djeluje kao signal sitosti u hipotalamusu. Njegova koncentracija raste eksponencijalno s količinom masnog tkiva, posebice potkožnog masnog tkiva. Receptori za leptin (takozvani Ob receptori) se nalaze u središnjem živčanom sustavu te brojnim perifernim tkivima, uključujući i jetru. Postoji 6 izoformi receptora za leptin (od ObRa do ObRf). Proučavanjem miševa kojima nedostaje funkcionalni leptin (leptin-defektni miševi), utvrđeno je da leptin djeluje profibrogeno u jetri [Marra i Bertolani 2009]. To se ostvaruje djelovanjem na nekoliko vrsti stanica, među kojima najvažniju ulogu imaju upravo Itove stanice. Leptin djeluje na zvjezdolike stanice jetre putem ObRb receptora. Njegova stimulacija pojačava gotovo sve značajke aktiviranih Itovih stanica. Leptin tako potiče proliferaciju, a potiskuje apoptozu ovih stanica. Nadalje stimulira: ekspresiju mRNA za prokolagen tipa I, tkivne inhibitore metaloproteinaza (TIMP-1), izlučivanje proupalnih citokina te pojačava sposobnost fagocitoze apoptotičnih tjelešaca. Osim snažnog direktnog djelovanja na Itove stanice, leptin aktivira Kupferove stanice, makrofage, a potiče i endotelne stanice na izlučivanje TGF- β . Sve to ima jak povratni učinak na Itove stanice. Učinak na endotelne stanice se očituje i činjenicom da leptin potiče Itove stanice na izlučivanje vaskularnog endotelnog čimbenika rasta (VEGF). To je primjer parakrinog djelovanja koji je jedna od karakteristika aktiviranih Itovih stanica [Marra i Bertolani 2009].

9.2 Adiponektin

Za razliku od leptina, koncentracije adiponektina su u obrnuto proporcionalnom odnosu s količinom masnog tkiva u organizmu. U eksperimentalnim istraživanjima je ustanovljeno da adiponektin ima antifibrotičan učinak na Itove stanice. Nakon kroničnog oštećenja jetre ugljikovim tetrakloridom (CCl_4), miševi s defektom adiponektina razvili su značajno izraženiju fibrozu od normalnih miševa [Kamada i sur. 2003]. Antifibrogeni učinak adiponektina se barem jednim djelom ostvaruje djelovanjem na Itove stanice. Među te učinke spada supresija njihove proliferacije koja je posredovana PDGF-om, kao i inhibicija ekspresije profibrogenih gena u njihovoj jezgri, koje inače inducira TGF- β . Nadalje, adiponektin inducira apoptozu Itovih stanica te inhibira NF κ B [Marra i Bertolani 2009].

10. EPITELNO-MEZENHIMSKA I MEZOTELNO-MEZENHIMSKA PRETVORBA U OZLJEDI JETRE

Određenu ulogu u fibrozi, koja nastaje prilikom ozljede jetre, mogla bi imati epitelno - mezenhimska pretvorba. To je proces u kojem stanice postupno gube svoja tipična epitelna obilježja npr. polarnost, te dobivaju svojstva mezenhima, kao što su invazivnost i sposobnost migracije [Choi & Diehl 2009]. Taj proces, kao i njegov obrat, imaju važnu ulogu u embriogenezi i razvoju karcinoma [Kalluri 2009; Kalluri & Weinberg 2009]. Ravnotežu ovog procesa određuju različiti signali koji dovode do postupne i složene promjene u genotipu stanica [Zeisberg & Nelson 2009]. Važnu ulogu u ovom procesu ima transformacijski čimbenik rasta $\beta 1$ (TGF- $\beta 1$). Za razliku od toga, koštani morfogenetski protein 7 (BMP-7, engl. bone morphogenetic protein 7) inhibira ovaj proces [Lamouille & Derynck 2007; Zeisberg i sur. 2007].

Stanice koje prolaze kroz proces pretvorbe u jetri su mezotelne stanice. Zato se ovaj proces naziva i mezotelno-mezenhimska pretvorba. Mezotelne stanice u normalnoj jetri izražavaju markere koji su jedinstveni za mezotelne stanice, zatim markere koji su karakteristični za epitelne stanice te markere koji su tipični za stanice mezenhima. To upućuje da mezotelne stanice imaju miješani genotip i fenotip. Tijekom ozljede jetre, u mezotelnim stanicama se smanjuje izražaj epitelnih i mezotelnih markera, a raste izražaj markera za mezenhim [Li i sur. 2013].

Uloga mezotelnih stanica istražena je u miša oštećenjem jetre izazvane ugljikovim tetrakloridom. Na tom je modelu dokazano da se mezotelne stanice koje migriraju s površine jetre najprije pretvaraju se u Itove stanice, a zatim u miofibroblaste. U navedenom istraživanju je ustanovljeno da oko 79 % miofibroblasta unutar 150 μ m od površine jetre potječe od mezotelnih stanica [Li i sur. 2013]. Može se pretpostaviti da mezotelne stanice vjerojatno

imaju značajnu ulogu u fibrozi jetre nastaloj uz njenu površinu. Zanimljivo je da je u tom istom istraživanju dokazano da blokiranjem TGF- β dolazi do značajnog pada broja mezotelnih stanica koje se diferenciraju u zvjezdolike stanice jetre, odnosno u miofibroblaste [Li i sur. 2013]. Time je potvrđeno da TGF- β ima profibrogenu ulogu kako u procesu mezotelno – mezenhimske pretvorbe, tako i u procesu aktivacije Itovih stanica.

11. MOGUĆNOSTI LIJEČENJA FIBROZE JETRE

Kao što je već ranije rečeno, fibroza jetre je proces koji nastaje kao odgovor na kronično oštećenje parenhima jetre. Najčešći uzroci koji dovode do kroničnog oštećenja jetre su kronični hepatitis uzrokovan virusom hepatitisa B (VHB) i virusom hepatitisa C (VHC), autoimunosni hepatitis, pretjerana konzumacija alkohola, hemokromatoza, poremećaj metabolizma glikogena, kolestaza, jako izražena pretilost. Napredovanjem fibroze dolazi do poremećaja građe i funkcije jetre, te konačno nastaje ciroza [Vrhovac i sur. 2008; Cohen-Naftaly & Friedman 2011]. Povećana količina izvanstaničnog matriksa, zajedno s pojačanom kontraktilnošću Itovih stanica, odnosno miofibroblasta, ometa normalan protok krvi kroz sinusoidne kapilare jetrenog reznjica. Zato dolazi do povećanog otpora u krvnim žilama. Osim toga, povećana količina izvanstaničnog matriksa u Disseovom prostoru dovodi do nestanka fenestri endotelnih stanica sinusoidnih kapilara, što povećava udaljenost između hepatocita i sinusoida pa metabolička izmjena tvari među njima postaje otežana. Tako se remeti normalna funkcija jetre. To sve zajedno dovodi do pojave komplikacija ciroze jetre kao što su portalna hipertenzija, ascites, hepatična encefalopatija, žutica, povećani rizik za razvoj hepatocelularnog karcinoma te konačno dolazi do zatajenja jetre. Zasada jedina mogućnost liječenja ciroze u njezinoj završnoj fazi je transplantacija organa [Vrhovac i sur. 2008].

Do danas, eliminacija uzroka fibroze je najučinkovitija terapija fibroze jetre. Pravovremenim uklanjanjem uzroka dolazi do povlačenja fibroze praćenog smanjenom proizvodnjom proupalnih i profibrogenih citokina te izvanstaničnog matriksa. Nestaju miofibroblasti, aktivnost kolagenaza se povećava, a smanjuje se količina umnoženog izvanstaničnog matriksa [Kisseleva & Brenner 2011]. Ovaj oblik terapije je dokazano učinkovit u većoj ili manjoj mjeri za niz bolesti jetre, kao što su sekundarna bilijarna fibroza, hepatitis C, hepatitis B,

nealkoholni steatohepatitis i autoimuni hepatitis. Do nestanka miofibroblasta dolazi zbog izražene apoptoze ranije aktiviranih zvjezdolikih Itovih stanica. Do apoptoze ovih stanica dolazi zbog aktivacije signalnih puteva koji vode u staničnu smrt, npr. signala koji se prenose putem Fas ili receptora čimbenika nekroze tumora (TNFR-1, engl. tumor necrosis factor receptor 1). Drugi razlog je pojačan izražaj proapoptotičkih gena i smanjen izražaj gena za preživljavanje Itovih stanica [Kisseleva & Brenner 2011].

Važnu ulogu u povlačenju fibroze ima povećana aktivnost kolagenaza. U ovoj fazi, izlučuju ih Kupfferove stanice i makrofazi. Kolagenaze jasno pridonose smanjenju količine izvanstaničnog matriksa. Međutim, još nije jasno može li se parenhim jetre s cirozom vratiti u potpuno normalno stanje [Kisseleva & Brenner 2011].

Dio aktiviranih Itovih stanica ipak preživljava apoptozu i ponovno dobiva mirni fenotip, koji je sličan fenotipu mirnih Itovih stanica koje nikad nisu ušle u proces aktivacije. Pri tom dolazi do smanjenog izražaja profibrogenih gena u jezgrama ovih stanica. Takve Itove stanice ponovo sadrže lipidne kapljice s vitaminom A. Dokazano je, međutim, da se prilikom stimulacije s transformacijskim čimbenikom rasta β ove Itove stanice ipak znatno brže aktiviraju i poprimaju svojstva miofibroblasta, za razliku od Itovih stanica koje nikad ranije nisu ušle u proces aktivacije. Zašto određen dio Itovih stanica izbjegne proces apoptoze, nije u potpunosti razjašnjeno [Kisseleva i sur. 2012].

Budući da je kronično oštećenje jetre značajan uzrok smrti u svijetu, i da u završnoj fazi ciroze nema druge terapije osim transplantacije organa, danas se provodi velik broj različitih istraživanja s ciljem pronalaska terapijskog sredstva kojim će se uspješno liječiti fibroza jetre. Idealna terapija protiv fibroze trebala bi djelovati specifično na jetru, te bi se morala dobro podnositi primjenom kroz duže vrijeme. Također, trebala bi učinkovito smanjiti odlaganje kolagena, bez da se pri tome utječe na stvaranje normalnog izvanstaničnog matriksa.

Ograničenje u današnjim terapijskim pristupima predstavlja slab unos terapijskog sredstva u aktivirane Itove stanice i moguće djelovanje tog sredstva i na druge stanice uz razvoj nuspojava. Obećavajući pristup predstavlja primjena nosača, koji se specifično vežu za receptore na membrani Itovih stanica [Bataller & Brenner 2005].

Istraživanja koja se danas provode uključuju primjenu različitih antioksidansa, protuupalnih lijekova, blokiranje renin-angiotenzinskog sustava, inhibiranje angiogeneze, repopulaciju jetre hepatocitima i stanicama koštane srži, gensku terapiju te primjenu monoklonalnih protutijela usmjerenih protiv receptora na staničnoj membrani Itovih stanica, itd. Neka od ovih istraživanja, iako pokazuju obećavajuće rezultate, još su daleko od primjene u praksi [Cohen-Naftaly & Friedman 2011].

12. ZAKLJUČAK

Perisinusoidalne zvjezdolike Itove stanice jetre su izrazito svestrane stanice koje imaju brojne funkcije kako u normalnoj jetri, tako i prilikom njenog oštećenja. Kada ih je Wake 1971.godine ponovno otkrio, teško da je mogao zamisliti o kako tajanstvenim stanicama se radi te da će one desetljećima zaokupljati interes istraživača.

Otkriće da u ozljedi jetre dolazi do pretvorbe ovih mirnih stanica u stanice sa svojstvima miofibroblasta potaknula je značajan napredak u razumijevanju razvoja i regresije fibroze jetre. Međutim, kako to obično biva u znanosti, dobivena saznanja su otvorila mnoga nova pitanja o ovom tipu stanica. Stoga, mnogo toga o njima nam još uvijek ostaje nepoznato i predstavlja značajan budući izazov za znanstvenike.

Iako sam u ovom radu iznio osnovno o onome što se zna o ovoj tajanstvenoj vrsti stanica, dosta toga o njima ostaje nam još uvijek nepoznato. Upravo zato smatram da se slavna izreka Isaaca Newtona „Ako ono što znamo je kap, tada ono što ne znamo je ocean“ može primijeniti i na Itove stanice jetre.

13. ZAHVALE

Hvala mojoj mentorici, prof. dr. sc. Ljerki Banek, na materijalima koji su mi bili od velike pomoći u pisanju ovoga rada, te na uloženom trudu i savjetima koji su mi olakšali ostvarenje mog zadnjeg zadatka na studiju.

Hvala mojoj obitelji na svestranoj potpori tijekom studiranja. Njihova podrška mi je uvelike olakšala proteklih šest godina.

14. POPIS LITERATURE

Apte MV, Haber PS, Applegate TL, Norton ID, McCaughan GW, Korsten MA (1998) Periacinar stellate shaped cells in rat pancreas: identification, isolation, and culture. *Gut* 43:128–133.

Athari A, Hanecke K, Jungermann K (1994) Prostaglandin F₂ alpha and D₂ release from primary Ito cell cultures after stimulation with noradrenaline and ATP but not adenosine. *Hepatology* 20:142–148.

Baba S, Fujii H, Hirose T, Yasuchika K, Azuma H, Hoppo T, Naito M, Machimoto T, Ikai I (2004) Commitment of bone marrow cells to hepatic stellate cells in mouse. *J Hepatol* 40:255–260.

Bachem MG, Melchior R, Gressner AM (1989) The role of thrombocytes in liver fibrogenesis: effects of platelet lysate and thrombocyte - derived growth factors on the mitogenic activity and glycosaminoglycan synthesis of cultured rat liver fat storing cells. *J Clin Chem Clin Biochem* 27:555–565.

Bachem MG, Schneider E, Grob H, Weidenbach H, Schmid RM, Menke A, Siech M, Berger H, Grunert A, Adler G (1998) Identification, culture, and characterization of pancreatic stellate cells in rats and humans. *Gastroenterology* 115:421–432.

Bachem MG, Zhou Z, Zhou S, Siech M (2006) Role of stellate cells in pancreatic fibrogenesis associated with acute and chronic pancreatitis. *J Gastroenterol Hepatol* 21 Suppl 3:S92-S96.

Battaller R, Brenner DA (2005) Liver fibrosis. *J Clin Invest* 115(2):209-218.

Bilzer M, Roggel F, Gerbes AL (2006) Role of Kupffer cells in host defense and liver disease. *Liver Int* 26:1175–1186.

Bissell DM, Wang SS, Jarnagin WR, Roll FJ (1995) Cell-specific expression of transforming growth factor-beta in rat liver. Evidence for autocrine regulation of hepatocyte proliferation. *J Clin Invest* 96:447–455.

Blaner WS, O'Byrne SM, Wongsiriroj N, Kluwe J, D'Ambrosio DM, Jiang H (2009) Hepatic stellate cell lipid droplets: a specialized lipid droplet for retinoid storage. *Biochim Biophys Acta Mol Cell Biol Lipids* 1791:467–473.

Blomhoff R, Green MH, Berg T, Norum RE (1990) Transport and storage of vitamin A. *Science* 250:399–404.

Blomhoff R, Blomhoff HK (2006) Overview of retinoid metabolism and function. *J Neurobiol* 66:606–630.

Brun P, Castagliuolo I, Pinzani M, Palu G, Martines D (2005) Exposure to bacterial cell wall products triggers an inflammatory phenotype in hepatic stellate cells. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 289:G571–G578.

Buchholz M, Kestler HA, Holzmann K, Ellenrieder V, Schneiderhan W, Siech M, Adler G, Bachem MG, Gress TM (2005) Transcriptome analysis of human hepatic and pancreatic stellate cells: organ-specific variations of a common transcriptional phenotype. *J Mol Med* 83(10):795-805.

Canbay A, Higuchi H, Bronk SF, Taniai M, Sebo TJ, Gores GJ (2002) Fas enhances fibrogenesis in the bile duct ligated mouse: a link between apoptosis and fibrosis. *Gastroenterology* 123:1323-1330.

Canbay A, Friedman S, Gores GJ (2004) Apoptosis: the nexus of liver injury and fibrosis. *Hepatology* 39:273-278.

Carlson BM (1999) *Human embryology & developmental biology*, 2nd ed. St. Louis: Mosby

Cassiman D, Barlow A, Borghot SV, Libbrecht L, Pachnis V (2006) Hepatic stellate cells do not derive from the neural crest. *J Hepatol* 44:1098–1104.

Choi SS, Diehl AM (2009) Epithelial-to-mesenchymal transitions in the liver. *Hepatology* 50(6):2007-2013.

Cohen-Naftaly M, Friedman SL (2011) Current status of novel antifibrotic therapies in patients with chronic liver disease. *Ther Adv Gastroenterol* 4(6):391-417.

Czaja MJ, Geerts A, Xu J, Schmiedeberg P, Ju Y (1994) Monocyte chemoattractant protein 1 (MCP-1) expression occurs in toxic rat liver injury and human liver disease. *J Leukoc Biol* 55:120–126.

Davis BH, Kramer RT, Davidson NO (1990) Retinoic acid modulates rat Ito cell proliferation, collagen, transforming growth factor beta production. *J Clin Invest* 86:2062–2070.

Davis BH, Chen A, Beno DWA (1996) Raf and mitogen activated protein kinase regulate stellate cell collagen gene expression. *J Biol Chem* 271:11039–11042.

Enzan H, Himeno H, Hiroi M, Kiyoku H, Saibara T, Onishi S (1997) Development of hepatic sinusoidal structure with special reference to the Ito cells. *Microsc Res Tech* 39:336–349.

Feng XH, Derynck R (2005) Specificity and versatility in TGF- β signalling through Smads. *Annu Rev Cell Dev Biol*. 21: 659–93.

Friedman SL, Wei S, Blaner WS (1993) Retinol release by activated rat hepatic lipocytes: regulation by Kupffer cell-conditioned medium and PDGF. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 264:G947–G952.

Friedman SL (2008) Hepatic stellate cells: Protean, multifunctional, and enigmatic cells of the liver. *Physiol Rev* 88:125–172.

Greenwel P, Rubin J, Schwartz M, Hertzberg EL, Rojkind M (1993) Liver fat-storing cell clones obtained from a CCl₄-cirrhotic rat are heterogeneous with regard to proliferation,

expression of extracellular matrix components, interleukin-6, connexin 43. *Lab Invest* 69:210–216.

Gressner AM, Weiskirchen R, Breitkopf K, Dooley S (2002) Roles of TGF-beta in hepatic fibrosis. *Front Biosci* 7:D793–D807.

Gressner AM, Weiskirchen R (2006) Modern pathogenetic concepts of liver fibrosis suggest stellate cells and TGF-beta as major players and therapeutic targets. *J Cell Mol Med* 10(1):76–99.

Higashi N, Senoo H (2003) Distribution of vitamin A-storing lipid droplets in hepatic stellate cells in liver lobules – a comparative study. *Anat Rec* 271A:240–248.

Hinz B, Celetta G, Tomasek J, Gabbiani G, Chaponnier C (2001) Alpha-Smooth Muscle Actin Expression Upregulates Fibroblast Contractile Activity. *Mol Biol Cell* 12(9):2730–2741.

Imamura M, Ogawa T, Sasaguri Y, Chayama K, Ueno H (2005) Suppression of macrophage infiltration inhibits activation of hepatic stellate cells and liver fibrogenesis in rats. *Gastroenterology* 128:138–146.

Johnson SJ, Beljaars L, Meijer DK, Poelstra K (2002) Targeting hepatic stellate cells for cell-specific treatment of liver fibrosis. *Front Biosci* 7:e214–e222.

Kalluri R (2009) EMT: When epithelial cells decide to become mesenchymal-like cells. *J Clin Invest* 119:1417–1419.

Kalluri R, Weinberg RA (2009) The basics of epithelial-mesenchymal transition. *J Clin Invest* 119:1420–1428.

Kamada Y, Tamura S, Kiso S, Matsumoto H, Saji Y, Yoshida Y, Fukui K, Maeda N, Nishizawa H, Nagaretani H, Okamoto Y, Kihara S, Miyagawa J, Shinomura Y, Funahashi T, Matsuzawa Y (2003) Enhanced carbon tetrachloride-induced liver fibrosis in mice lacking adiponectin. *Gastroenterology* 125(6):1796–1807.

Kanai M, Raz A, Goodman DW (1968) Retinol-binding protein: the transport protein for vitamin A in human plasma. *J Clin Invest* 47:2025–2044.

Kiassov AP, Van Eyken P, van Pelt JF, Depla E, Fevery J, Desmet VJ, Yap SH (1995) Desmin expressing nonhematopoietic liver cells during rat liver development: an immunohistochemical and morphometric study. *Differentiation* 59:253–258.

Kinnman N, Francoz C, Barbu V, Wendum D, Rey C, Hultcrantz R, Poupon R, Housset C (2003) The myofibroblastic conversion of peribiliary fibrogenic cells distinct from hepatic stellate cells is stimulated by platelet-derived growth factor during liver fibrogenesis. *Lab Invest* 83:163–173.

Kisseleva T, Uchinami H, Feirt N, Quintana-Bustamante O, Segovia JC, Schwabe RF, Brenner DA (2006) Bone marrow-derived fibrocytes participate in pathogenesis of liver fibrosis. *J Hepatol* 45:429–438.

Kisseleva T, Brenner DA (2011) Anti-fibrogenic Strategies and the regression of fibrosis. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 25(2):305–317.

Kisseleva T, Cong M, Paik Y, Scholten D, Jiang C, Benner C, Iwaisako K, Moore-Morris T, Scott B, Tsukamoto H, Evans SM, Dillmann W, Glass CK, Brenner DA (2012) Myofibroblasts revert to an inactive phenotype during regression of liver fibrosis. *Proc Natl Acad Sci USA* 109(24):9448–9453.

Kruglov EA, Nathanson RA, Nguyen T, Dranoff JA (2006) Secretion of MCP-1/CCL2 by bile duct epithelia induces myofibroblastic transdifferentiation of portal fibroblasts. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 290:G765–G771.

Kummar V, Cotran RS, Robbins SL (2000) Osnove patologije (prijevod prema desetom američkom izdanju), ur. Jukić S, Dominis M, Zagreb, Školska knjiga.

Lamouille S, Derynck R (2007) Cell size and invasion in TGF- β -induced epithelial to mesenchymal transition is regulated by activation of the mTOR pathway. *J Cell Biol* 138:437–451.

Li Y, Wang J, Asahina K (2013) Mesothelial cells give rise to hepatic stellate cells and myofibroblasts via mesothelial-mesenchymal transition in liver injury. *Proc Natl Acad Sci USA* 110(6):2324-2329.

Libbrecht L, Cassiman D, Desmet V, Roskams T (2002) The correlation between portal myofibroblasts and development of intrahepatic bile ducts and arterial branches in human liver. *Liver* 22:252–258.

Mabuchi A, Mullaney I, Sheard PA, Hessian PA, Mallard BL, Tawadrous MN, Zimmermann A, Senoo H, Wheatley AM (2004) Role of hepatic stellate cells in the early phase of liver regeneration in rat: formation of tight adhesions to parenchymal cells. *J Hepatol* 40:910–916.

Maher JJ (2001) Interactions between hepatic stellate cells and the immune system. *Semin Liver Dis* 21:417–426.

Marra F, Pinzani M (2002) Role of hepatic stellate cells in the pathogenesis of portal hypertension. *Nefrologia* 22 Suppl 5:34–40.

Marra F, Bertolani C (2009) Adipokines in liver diseases. *Hepatology* 50(3):957-969.

Marsden ER, Hu Z, Fujio K, Nakatsukasa H, Thorgeirsson SS, Evarts RP (1992) Expression of acidic fibroblast growth factor in regenerating liver and during hepatic differentiation. *Lab Invest* 67:427–433.

Melton AC, Yee HF (2007) Hepatic stellate cell protrusions couple platelet-derived growth factor-BB to chemotaxis. *Hepatology* 45:1446–1453.

Mescher AL (2013) Junqueira's Basic Histology 13th edition, McGraw Hill Education, Singapur.

Meyer DH, Bachem MG, Gressner AM (1990) Modulation of hepatic lipocyte proteoglycan synthesis and proliferation by Kupffer cell-derived transforming growth factors type beta 1 and type alpha. *Biochem Biophys Res Commun* 171:1122–1129.

Minato Y, Hasumura Y, Takeuchi J (1983) The role of fat-storing cells in Disse space fibrogenesis in alcoholic liver disease. *Hepatology* 3:559–566.

Miura M, Sato M, Toyoshima I, Senoo H (1997) Extension of long cellular processes of hepatic stellate cells cultured on extracellular type I collagen gel by microtubule assembly: observation utilizing timelapse video-microscopy. *Cell Struct Funct* 22:487–492.

Mullhaupt B, Feren A, Fodor E, Jones A (1994) Liver expression of epidermal growth factor RNA. Rapid increases in immediate-early phase of liver regeneration. *J Biol Chem* 269:19667–19670.

Neubauer K, Knittel T, Aurisch S, Fellmer P, Ramadori G (1996) Glial fibrillary acidic protein – a cell type specific marker for Ito cells in vivo and in vitro. *J Hepatol* 24:719–730.

Niki T, Penky M, Hellemans K, De Bleser P, Van den Berg K, Vaeyens F, Quartier E, Schuit F, Geerts A (1999) Class VI intermediate filament protein nestin is induced during activation of rat hepatic stellate cells. *Hepatology* 29:520–527.

Oben JA, Roskams T, Yang S, Lin H, Sinelli N, Torbenson M, Smedh U, Moran TH, Li Z, Huang J, Thomas SA, Diehl AM (2004) Hepatic fibrogenesis requires sympathetic neurotransmitters. *Gut* 53:438–445

Okuno M, Sato T, Kitamoto T, Imai S, Kawada N, Suzuki Y, Yoshimura H, Moriwaki H, Onuki K, Masushige S, Muto Y, Friedman SL, Kato S, Kojima S (1999) Increased 9,13-di-cis-retinoic acid in rat hepatic fibrosis: implication for a potential link between retinoid loss and TGF-beta mediated fibrogenesis in vivo. *J Hepatol* 30:1073–1080.

Pinzani M, Gesualdo L, Sabbah GM, Abboud HE (1989) 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* 84:1786–1793.

Pinzani M, Abboud HE, Gesualdo L, Abboud SL (1992) Regulation of macrophage colony-stimulating factor in liver fat-storing cells by peptide growth factors. *Am J Physiol Cell Physiol* 262:C876–C881.

Pinzani M, Carloni V, Marra F, Riccardi D, Laffi G, Gentilini P (1994a) Biosynthesis of platelet-activating factor and its 1O-acyl analogue by liver fat-storing cells. *Gastroenterology* 106:1301–1311.

Pinzani M, Milani S, Grappone C, Weber FJ, Gentilini P, Abboud HE (1994b) Expression of platelet-derived growth factor in a model of acute liver injury. *Hepatology* 19:701–707.

Pinzani M (1999) New kids on the block: pancreatic stellate cells enter the fibrogenesis world. *Gut* 44:451–452.

Pinzani M (2006) Pancreatic stellate cells: new kids become mature. *Gut* 55:12–14.

Ramadori G, Knittel T, Schwogler S, Bieber F, Rieder H, Meyer ZBK (1991) Dexamethasone modulates alpha 2-macroglobulin and apolipoprotein E gene expression in cultured rat liver fat storing (Ito) cells. *Hepatology* 14:875–882.

Rockey DC, Chung JJ (1995) Inducible nitric oxide synthase in rat hepatic lipocytes and the effect of nitric oxide on lipocyte contractility. *J Clin Invest* 95:1199–1206.

Rockey DC (2001a) Cellular pathophysiology of portal hypertension and prospects for management with gene therapy. *Clin Liver Dis* 5:851–865.

Rockey DC (2001b) Hepatic blood flow regulation by stellate cells in normal and injured liver. *Semin Liver Dis* 21:337–350.

Russo FP, Alison MR, Bigger BW, Amofah E, Florou A, Amin F, Bou-Gharios G, Jeffery R, Iredale JP, Forbes SJ (2006) The bone marrow functionally contributes to liver fibrosis. *Gastroenterology* 130:1807–1821.

Sadler TW (2013) Langman's Medical Embryology, 12th edition, Lippincott Williams & Wilkins, Baltimore.

Sato M, Kojima N, Miura M, Imai K, Senoo H (1998) Induction of cellular processes containing collagenase and retinoid by integrin-binding to interstitial collagen in hepatic stellate cell culture. *Cell Biol Int* 22:115–125.

Sato M, Senoo H (1998) Morphological regulation of cultured hepatic stellate cells by extracellular matrix through intracellular signaling. *Connective Tissue* 30:219–224.

Schirmacher P, Geerts A, Pietrangelo A, Dienes HP, Rogler CE (1992) Hepatocyte growth factor/hepatopoietin A is expressed in fat-storing cells from rat liver but not myofibroblast-like cells derived from fat-storing cells. *Hepatology* 15:5–11.

Senoo H (2004) Structure and function of hepatic stellate cells. *Med Electron Microsc* 37:3–15.

Senoo H, Yoshikawa K, Morii M, Miura M, Imai K, Mezaki Y (2010) Hepatic stellate cell (Vitamin A-storing cell) and its relative – past, present and future. *Cell Biol Int* 34:1247–1272.

Sigala B, McKee C, Soeda J, Pazienza V, Morgan M, Lin CI, Selden C, Vander Borgh S, Mazzocchi G, Roskams T, Vinciguerra M, Oben JA (2013) Sympathetic nervous system catecholamines and neuropeptide Y neurotransmitters are upregulated in human NAFLD and modulate the fibrogenic function of hepatic stellate cells. *PLoS One* 8(9):e72928. doi: 10.1371

Steiling H, Muhlbauer M, Bataille F, Scholmerich J, Werner S, Hellerbrand C (2004) Activated hepatic stellate cells express keratinocyte growth factor in chronic liver disease. *Am J Pathol* 165:1233–1241.

Vassy J, Rigaut JP, Briane D, Kraemer M (1993) Confocal microscopy immunofluorescence localization of desmin and other intermediate filament proteins in fetal rat livers. *Hepatology* 17:293–300.

Vrhovac B, Jakšić B, Reiner Ž, Vucelić B (2008) *Interna medicina*, Zagreb, Ljevak.

Wake K (1974) Development of vitamin A-rich lipid droplets in multivesicular bodies of rat liver stellate cells. *J Cell Biol* 63:683–691.

Wake K (1975) Lysosomes in the hypervitaminosis A rat liver, with special reference to storage of vitamin A in the perisinusoidal stellate cells. *Recent Adv RES Res* 15:83–92.

Wake K (1980) Perisinusoidal stellate cells (fat-storing cells, interstitial cells, lipocytes), their related structure in and around the liver sinusoids, and vitamin A-storing cells in extrahepatic organs. *Int Rev Cytol* 66:303–353.

Wake K (2006) Hepatic stellate cells: three-dimensional structure, localization, heterogeneity and development. *Proc Japan Acad Ser B* 82:155–164.

Wang Z, Liu F, Tu W, Chang Y, Yao J, Wu W, Jiang X, He X, Lin J, Song Y (2012) Embryonic liver fodrin involved in hepatic stellate cell activation and formation of regenerative nodule in liver cirrhosis. *J Cell Mol Med* 16(1):118–128.

Wells RG, Crawford J (1998) Pancreatic stellate cells. The new stars of chronic pancreatitis? *Gastroenterology* 115:491–493.

Winau F, Hegasy G, Weiskirchen R, Weber S, Cassan C, Sieling PA, Modlin RL, Liblau RS, Gressner AM, Kaufmann SH (2007) Ito cells are liver-resident antigen-presenting cells for activating T cell responses. *Immunity* 26:117–129.

Xu R, Zhang Z, Wang FS (2012) Liver fibrosis: mechanisms of immune-mediated liver injury. *Cell Mol Immunol* 9:296–301.

Yamada M, Blaner WS, Soprano DR, Dixon JL, Kjeldbye HM, Goodman DS (1987) Biochemical characteristics of isolated rat liver stellate cells. *Hepatology* 7:1224–1229.

Yamamoto K, Ogawa K (1983) Fine structure and cytochemistry of lysosomes in the Ito cells of the rat liver. *Cell Tissue Res* 233:45–57.

Yoshiji H, Kuriyama S, Yoshii J, Ikenaka Y, Noguchi R, Hicklin DJ, Wu Y, Yanase K, Namisaki T, Yamazaki M, Tsujinoue H, Imazu H, Masaki T, Fukui H (2003) Vascular endothelial growth factor and receptor interaction is a prerequisite for murine hepatic fibrogenesis. *Gut* 52:1347–1354.

Zeisberg M, Yang C, Martino M, Duncan MB, Fieder F, Tanjore H, Kalluri R (2007) Fibroblasts derive from hepatocytes in liver fibrosis via epithelial to mesenchymal transition. *J Biol Chem* 282:23337–23347.

Zeisberg M, Neilson EG (2009) Biomarkers for epithelial-mesenchymal transitions. *J Clin Invest* 119:1429–1437.

Zizola CF, Schwartz GJ, Vogel S (2008) Cellular retinol-binding protein type III is a PPAR target gene and plays a role in lipid metabolism. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 295:E1358–E1368.

Zhao Q, Qin CY, Zhao ZH, Fan YC, Wang K (2013) Epigenetic modifications in hepatic stellate cells contribute to liver fibrosis. *Tohoku J Exp Med* 229(1):35-43.

15. ŽIVOTOPIS

OSOBNİ PODACI

Ime i prezime: Antonio Klemenčić
Datum rođenja: 03. listopada 1989. godine
Mjesto rođenja: Zagreb, Hrvatska
Mjesto stanovanja: Kerestinec, 10 431 Sveta Nedelja

ŠKOLOVANJE I IZOBRAZBA

Fakultet: Sveučilište u Zagrebu, Medicinski fakultet (2008.-
Srednja škola: XI. gimnazija, Zagreb, Hrvatska (2004.-2008.)
Osnovna škola: Osnovna škola Sveta Nedelja, Sveta Nedelja, Hrvatska (1996.-2004.)

IZVANNASTAVNE AKTIVNOSTI PRI MEDICINSKOM FAKULTETU

2014. Studentska razmjena, Medicinsko sveučilište u Lodzu, Odjel za
bolesti uha, grla i nosa, Lodz, Poljska
2013. Studentska razmjena, Sveučilišna bolnica Sul Fluminense,
Odjel opće kirurgije, Vassouras, Rio de Janeiro, Brazil
2010./2011.- 2013/2014. Demonstrator na Katedri za histologiju i embriologiju
2011./2012., 2012/2013. Demonstrator na Katedri za patologiju
2010.- 2014. Aktivni član studentske organizacije `CroMSIC`

NAGRADE I PRIZNANJA

2009./2010. Dekanova nagrada za najboljeg studenta druge godine
Medicinskog fakulteta

POSEBNA ZNANJA I VJEŠTINE

Strani jezici: aktivno služenje engleskim i njemačkim jezikom
Poznavanje programa Microsoft Office
Vozačka dozvola; B kategorija