

Stres oksydacyjny w patogenezie chorób wątroby: mechanizmy, konsekwencje i możliwości terapeutyczne

Oxidative stress in the pathogenesis of liver diseases: mechanisms, consequences, and therapeutic opportunities

Olga Obrzut , Violetta Krajka-Kuźniak

Katedra i Zakład Biochemii Farmaceutycznej, Uniwersytet Medyczny im. K. Marcinkowskiego w Poznaniu

Streszczenie

Wątroba jest narządem szczególnie narażonym na działanie reaktywnych form tlenu (RFT), które powstają nie tylko podczas funkcji metabolicznych, ale także podczas biotransformacji ksenobiotyków. Zaburzenie równowagi redoks powoduje stres oksydacyjny, który wpływa na pracę wątroby, moduluje szlaki zapalne i przyczynia się do powstawania chorób, takich jak stłuszczenie, zapalenie, marskość oraz rak wątroby. Artykuł analizuje mechanizmy tego procesu, wskazując na rolę uszkodzeń podstawowych biomolekuł komórek wątroby: DNA, białek oraz lipidów, które prowadzą do zaburzeń funkcji wątroby. Ponadto, analizuje mechanizmy przeciwdziałające stresowi oksydacyjnemu, obejmujące zarówno procesy fizjologiczne, jak i wpływ czynników zewnętrznych wspierających ochronę komórek. Artykuł koncentruje się na roli stresu oksydacyjnego w patogenezie wirusowego zapalenia wątroby, stłuszczeniowej choroby wątroby związanej z dysfunkcją metaboliczną, alkoholowego zapalenia wątroby, autoimmunologicznego zapalenia wątroby, zwłóknienia i marskości wątroby oraz nowotworu wątrobowokomórkowego w kontekście danych naukowych. (*Farm Współ* 2025; 18: 218-228) doi: 10.53139/FW.20251824

Słowa kluczowe: stres oksydacyjny, reaktywne formy tlenu, zapalenie wątroby, wirusowe zapalenie wątroby, stłuszczeniowa choroba wątroby związana z dysfunkcją metaboliczną, rak wątroby

Abstract

The liver is an organ particularly susceptible to the action of reactive oxygen species (ROS), which are generated not only during metabolic functions but also during the biotransformation of xenobiotics. An imbalance in redox homeostasis leads to oxidative stress, which affects liver function, modulates inflammatory pathways, and contributes to the development of diseases such as fatty liver, inflammation, cirrhosis, and hepatocarcinoma. This article analyzes the mechanisms of this process, highlighting the role of damage to the key biomolecules of liver cells: DNA, proteins, and lipids, which lead to liver dysfunction. Furthermore, it analyzes the mechanisms that counteract oxidative stress, encompassing both physiological processes and the influence of external factors that support cellular protection. The article focuses on the role of oxidative stress in the pathogenesis of viral hepatitis, metabolic dysfunction-associated steatotic liver disease, alcoholic hepatitis, autoimmune hepatitis, liver fibrosis, and cirrhosis, as well as hepatocellular carcinoma, in the context of scientific evidence. (*Farm Współ* 2025; 18: 218-228) doi: 10.53139/FW.20251824

Keywords: oxidative stress, reactive oxygen species, liver inflammation, viral hepatitis, metabolic dysfunction-associated steatotic liver disease, liver cancer

Wprowadzenie

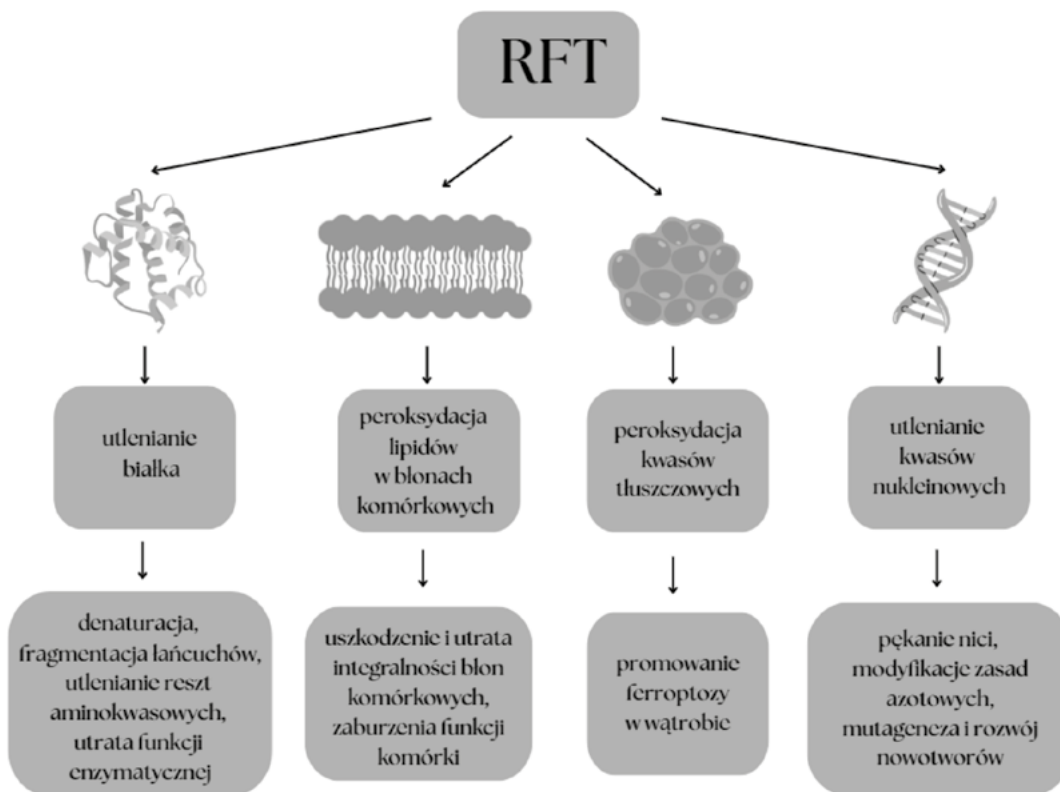
Wątroba jest kluczowym narządem metabolicznym organizmu, odgrywającym istotną rolę w detoksykacji, metabolizmie lipidów, węglowodanów i białek

oraz regulacji homeostazy energetycznej. Jednym z najważniejszych czynników patofizjologicznych wpływających na funkcjonowanie wątroby jest stres oksydacyjny, który powstaje w wyniku zaburzenia

równowagi między produkcją reaktywnych form tlenu (RFT) a zdolnością organizmu do ich neutralizacji [1,2]. W warunkach fizjologicznych wątroba posiada skuteczne mechanizmy obrony antyoksydacyjnej, jednak przy nadmiernym obciążeniu RFT może dojść do uszkodzenia struktur komórkowych wątroby. Stres oksydacyjny odgrywa kluczową rolę w inicjacji i progresji wielu chorób wątroby, takich jak wirusowe zapalenie wątroby, stłuszczeniowa choroba wątroby związana z dysfunkcją metaboliczną (ang. *metabolic dysfunction-associated steatotic liver disease*, MASLD), alkoholowe zapalenie wątroby (ang. *alcoholic hepatitis*, AH), autoimmunologiczne zapalenie wątroby (ang. *autoimmune hepatitis*, AIH) oraz rak wątrobowokomórkowy (ang. *hepatocellular carcinoma*, HCC) [3]. Celem niniejszego artykułu jest omówienie mechanizmów molekularnych stresu oksydacyjnego w kontekście uszkodzeń wątroby oraz przegląd aktualnych strategii terapeutycznych ukierunkowanych na jego redukcję.

Stres oksydacyjny w wątrobie – mechanizmy i komórkowa odpowiedź

Wątroba, jako podstawowy narząd metabolizmu i detoksykacji, jest szczególnie podatna na działanie RFT, które powstają zarówno w warunkach fizjologicznych, jak i patologicznych [1]. Głównymi źródłami RFT w komórkach wątroby są mitochondria, peroksosomy, enzymy oksydacyjne oraz procesy biotransformacji ksenobiotyków. W warunkach zaburzonej równowagi między produkcją a eliminacją RFT dochodzi do stresu oksydacyjnego, który uszkadza struktury komórkowe i odgrywa kluczową rolę w patogenezie wielu chorób wątroby [4]. W mitochondriach, podczas oddychania komórkowego, dochodzi do niepełnej redukcji tlenu, prowadzącej do powstania anionorodnika ponadtlenkowego ($O_2^{\cdot-}$) i nadtlenku wodoru (H_2O_2). Nadmiar H_2O_2 w obecności jonów żelaza może ulegać reakcji Fentona, generując silnie reaktywny rodnik hydroksylowy ($OH^{\cdot}$) [2,5]. Równolegle, peroksosomy produkują H_2O_2 jako produkt uboczny β -oksydacji kwasów tłuszczowych [4]. Dodatkowym źródłem RFT są oksydazy NADPH (ang. *NADPH oxidases*, NOX),



Rycina 1. Wpływ RFT na białka, lipidy oraz kwasy nukleinowe [1,3]

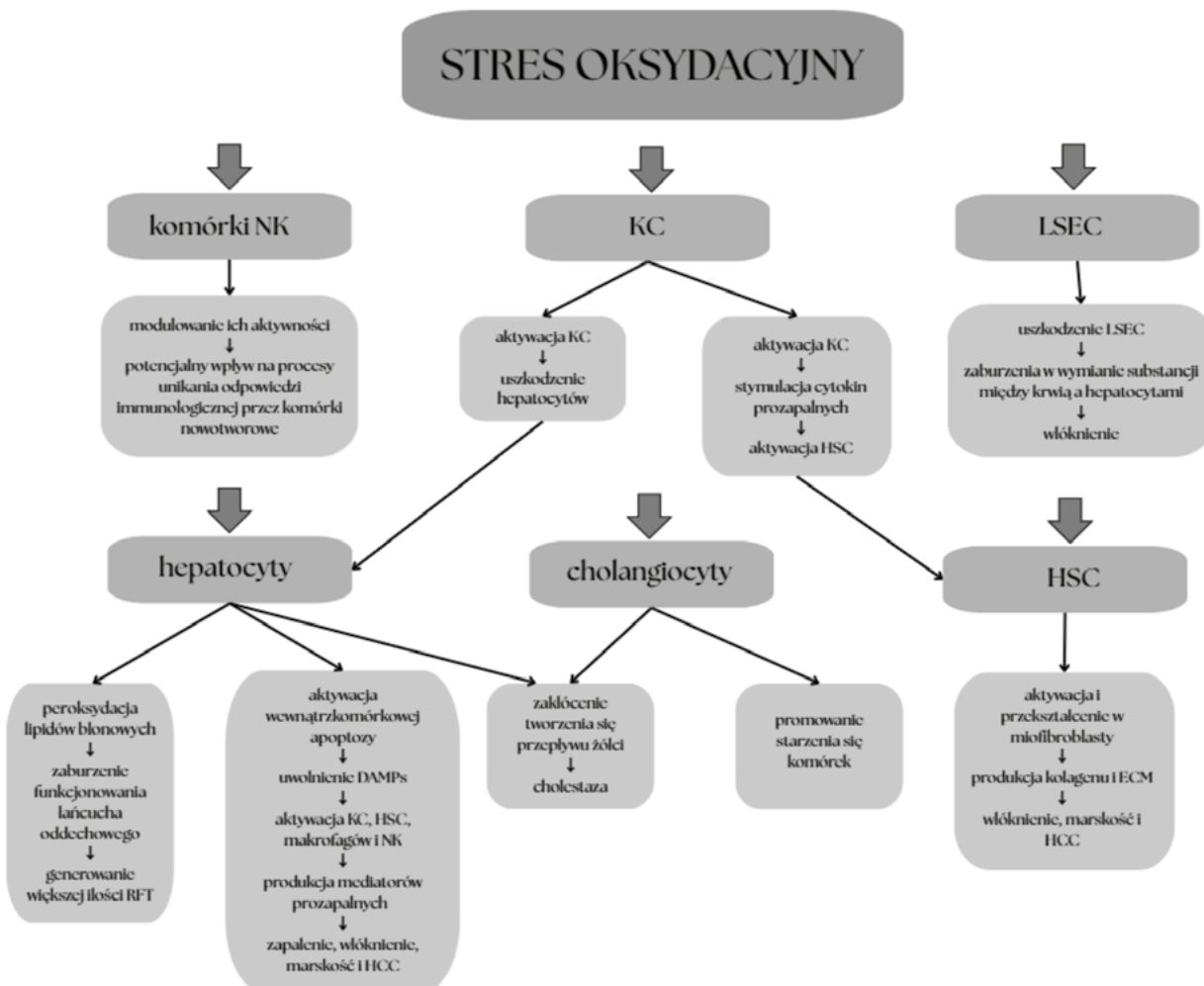
Figure 1. The effect of ROS on proteins, lipids, and nucleic acids [1,3]

w tym izoformy NOX1, NOX2, NOX4 i NOX5, które aktywnie uczestniczą w odpowiedzi immunologicznej oraz procesach zapalnych i włóknieniowych [6,7]. NOX2, obecna w komórkach Kupffera i śródbłonna, produkuje RFT w odpowiedzi na patogeny, jednak jego nadmierna aktywacja może prowadzić do uszkodzenia hepatocytów [8]. NOX1 i NOX5 również odgrywają rolę w zapaleniu i włóknieniu [8,9], zaś NOX4, generująca głównie H_2O_2 , może działać zarówno fizjologicznie, jak i patologicznie, wpływając na sygnalizację komórkową, rozwój włóknienia i kancerogenezę [6,7].

H_2O_2 , dzięki swojej zdolności do dyfuzji przez błony, moduluje szlaki sygnalizacyjne, ale jego przewlekły nadmiar prowadzi do peroksydacji lipidów,

uszkodzeń białek i DNA, nasilając przewlekłe zapalenie, włóknienie i transformację nowotworową [1,2]. Na rycinie 1 przedstawiono wpływ RFT na białka, lipidy oraz kwasy nukleinowe. Stres oksydacyjny zaburza również homeostazę wapniową i promuje śmierć komórek poprzez aktywację szlaków apoptotycznych oraz uwalnianie molekularnych wzorców uszkodzenia (ang. *damage-associated molecular patterns*, DAMPs) [5].

Wątroba składa się z różnych typów komórek, które w specyficzny sposób reagują na stres oksydacyjny (rycina 2). Główne komórki mięszsowe, hepatocyty, odpowiadają za metabolizm, produkcję białek osocza, żółci i detoksykację [10]. Są one zarówno źródłem, jak i celem działania RFT. Stres oksydacyjny zaburza funkcjonowanie mitochondriów, prowadząc



Rycina 2. Wpływ stresu oksydacyjnego na komórki NK, KC, LSEC, hepatocyty, cholangiocyty oraz HSC [2,3,5,12]
Figure 2. Effects of oxidative stress on NK cells, KC, LSEC, hepatocytes, cholangiocytes and HSC [2,3,5,12]

do uszkodzenia łańcucha transportu elektronów i nasilenia produkcji wolnych rodników [2]. Zakłócenia homeostazy wapniowej oraz akumulacja RFT inicjują szlaki apoptozy i uwolnienie DAMPs, aktywujących odpowiedź zapalną komórek niemięszowych [5].

Cholangiocyty, wyściełające drogi żółciowe, uczestniczą w regulacji przepływu i składu żółci oraz w odpowiedzi immunologicznej [11]. Stres oksydacyjny może u nich wywołać stres retikulum endoplazmatycznego oraz przyspieszać starzenie komórkowe [3].

Komórki gwiaździste wątroby (ang. *hepatic stellate cells*, HSC), w stanie spoczynku magazynujące witaminę A, w odpowiedzi na uszkodzenie ulegają aktywacji, przekształcając się w miofibroblasty produkujące kolagen i inne składniki macierzy zewnątrzkomórkowej (ang. *extracellular matrix*, ECM). Ich przewlekła aktywacja prowadzi do włóknienia, marskości, a w dalszej perspektywie – do raka wątrobowokomórkowego [5].

Komórki Kupffera (ang. *Kupffer cells*, KC), czyli makrofagi rezydujące w wątrobie, biorą udział w odpowiedzi zapalnej indukowanej stresem oksydacyjnym, fagocytując patogeny i martwe komórki oraz wydzielając cytokiny prozapalne [12]. KC produkują także RFT, które uszkodzają hepatocyty i stymulują sekrecję transformującego czynnika wzrostu β (ang. *transforming growth factor \beta*, TGF- β) i płytkopochodnego czynnika wzrostu (ang. *platelet-derived growth factor*, PDGF), aktywując tym samym HSC i nasilając procesy włóknienia. KC uczestniczą również w regulacji gospodarki żelazowej poprzez usuwanie zużytych erytrocytów [3,5].

Komórki śródbłonna zatokowego wątroby (ang. *liver sinusoidal endothelial cells*, LSEC) tworzą barierę wymiany między krwią a hepatocytami [13,14]. Ich zdolność detoksykacji H_2O_2 jest ograniczona, co czyni je szczególnie wrażliwymi na stres oksydacyjny. Ekspozycja na toksyny jelitowe i RFT prowadzi do zaburzeń w funkcjonowaniu bariery sinusoidalnej i sprzyja progresji włóknienia. Autofagia pełni u LSEC funkcję ochronną przed stresem oksydacyjnym, a jej zaburzenie, jak udowodniono w przebiegu stłuszczeniowego zapalenia wątroby związanego z dysfunkcją metaboliczną (ang. *metabolic dysfunction-associated steatohepatitis*, MASH), nasila włóknienie [5].

Komórki NK, będące częścią wrodzonej odporności wątrobowej, pełnią rolę obronną przed patogenami i komórkami nowotworowymi [3]. Stres oksydacyjny może modulować ich aktywność, potencjalnie wpływa-

jąc na mechanizmy ucieczki immunologicznej nowotworu [3], choć zagadnienie to wymaga dalszych badań.

Podsumowując, stres oksydacyjny w wątrobie wynika z zaburzenia równowagi między produkcją a eliminacją RFT. Skutkuje to uszkodzeniem komórek, aktywacją odpowiedzi zapalnej, włóknieniem i w konsekwencji rozwojem chorób przewlekłych, takich jak zapalenie wątroby, marskość i rak wątrobowokomórkowy. Zrozumienie mechanizmów molekularnych i komórkowych odpowiedzi na stres oksydacyjny stanowi podstawę do opracowania strategii terapeutycznych ukierunkowanych na jego redukcję.

Stres oksydacyjny w chorobach wątroby

Wirusowe zapalenie wątroby

Wirusowe zapalenie wątroby typu B i C przyczynia się do powstawania stresu oksydacyjnego poprzez interakcje wirusowych białek z mitochondriami oraz pobudzanie układu odpornościowego do nadprodukcji RFT [15]. Prowadzi to do przewlekłego zapalenia, uszkodzenia hepatocytów i zwłóknienia wątroby. Białko HBx wirusa HBV (ang. *hepatitis B virus*) w znacznym stopniu przyczynia się do replikacji wirusa, epigenetycznej regulacji ekspresji genów gospodarza, ochrony zakażonych komórek przed nadzorem immunologicznym, inicjowania stresu oksydacyjnego poprzez wywoływanie dysfunkcji mitochondriów oraz rozwoju zwłóknienia i HCC w późnych stadiach przewlekłej choroby [16]. Z kolei białko rdzeniowe wirusa HCV (ang. *hepatitis C virus*) wykazuje zdolność do hamowania mitochondrialnego łańcucha transportu elektronów oraz obniżania poziomu glutationu (ang. *glutathione*, GSH) zarówno w mitochondriach, jak i cytoplazmie, co sprzyja nasileniu stresu oksydacyjnego [17]. Pacjenci z przewlekłym wirusowym zapaleniem wątroby typu C wykazują zwiększoną produkcję czynnika martwicy nowotworu alfa (ang. *tumor necrosis factor \alpha*, TNF- α), cytokiny, która może wytwarzać stres oksydacyjny poprzez stymulację wytwarzania RFT, takich jak $O_2^{\cdot-}$ i H_2O_2 [18]. Gen rdzenia HCV bezpośrednio wpływa na mitochondrialny cytochrom C, powodując redystrybucję RFT w cytozolu [19]. Ponadto, HCV obniża ekspresję genu hepcydyny, który powoduje spowolnienie napływu żelaza z przewodu pokarmowego, co skutkuje gromadzeniem się nadmiaru żelaza w wątrobie oraz rozprzestrzenianiem się stresu oksydacyjnego [1]. Zakażenia HCV i HBV prowadzą do dysfunkcji mitochondrialnej i spadku produkcji ATP. HCV zaburza glikolizę i utlenianie

kwasów tłuszczowych, co sprzyja akumulacji lipidów, które mogą ulec peroksydacji, natomiast HBV zwiększa akumulację mleczanu i hamuje konwersję pirogronianu do acetylo-CoA, ograniczając fosforylację oksydacyjną w mitochondriach [20].

Stłuszczeniowa choroba wątroby związana z dysfunkcją metaboliczną (MASLD) i stłuszczeniowe zapalenie wątroby związane z dysfunkcją metaboliczną (MASH)

Zwiększona akumulacja lipidów w hepatocytach w MASLD prowadzi do dysfunkcji mitochondriów, nasilonej peroksydacji lipidów i przewlekłego stanu zapalnego. Procesy te prowadzą do rozwoju MASH, zwłóknienia i możliwej progresji do marskości wątroby [21].

W MASH stan zapalny wywołany lipotoksycznością, związany z nagromadzeniem toksycznych form lipidów, stresem oksydacyjnym oraz stresem retikulum endoplazmatycznego, prowadzi do zaburzenia funkcjonowania komórek niemiąższowych wątroby oraz komórek układu odpornościowego. Wewnątrzkomórkowe źródła RFT w przebiegu MASH to zwiększona β -oksydacja wolnych kwasów tłuszczowych w wątrobie, dysfunkcja mitochondriów spowodowana akumulacją wolnego cholesterolu i aktywacja NOX [22,23]. RFT odgrywają również istotną rolę jako aktywatory c-JUN N-terminalnej kinazy (ang. *C-JUN N-terminal kinase*, JNK) w progresji MASLD. Uaktywniona JNK powoduje przemieszczanie się czynnika jądrowego kappa B (ang. *nuclear factor kappa B*, NF- κ B) do jądra komórkowego, oraz aktywację białka aktywatora czynnika transkrypcyjnego-1 (ang. *activator protein 1*, AP-1), co inicjuje transkrypcję markerów prozapalnych. Zwiększona aktywność szlaku NF- κ B w komórkach wątrobowych skutkuje nadprodukcją cytokin, takich jak TNF- α czy interleukiny 6 (ang. *interleukin 6*, IL-6), które pogłębiają stan zapalny i nasilają uszkodzenia tkanek. Co więcej, dysbioza jelitowa – w połączeniu z obecnością endotoksyn (np. lipopolisacharydów) w krążeniu wrotnym, stymulują receptor Toll-podobny 4 (ang. *toll-like receptor 4*, TLR-4), co prowadzi do dalszej aktywacji osi TLR-4–NF- κ B [24,25]. Cały ten złożony proces – od stresu oksydacyjnego po aktywację receptorów odporności wrodzonej – stanowi podstawę patogenezy MASH, czyli zapalnej i bardziej zaawansowanej formy MASLD. Ponadto, w surowicy pacjentów z MASLD z grupy kontrolnej znajdowały się znaczne ilości dialdehydu malonowego

(ang. *malondialdehyde*, MDA) a aktywność enzymów antyoksydacyjnych była na niższym poziomie niż dla grupy, która otrzymywała olej bogaty w kwasy omega-3, mający poprawiać owe parametry [26], co potwierdza słuszność tezy, że stres oksydacyjny jest jednym ze składowych MASLD.

Alkoholowe zapalenie wątroby (AH)

Metabolizm etanolu przez cytochrom P450 2E1 (ang. *cytochrome P450 2E1*, CYP2E1) generuje duże ilości RFT, co prowadzi do uszkodzenia błon komórkowych hepatocytów, indukcji apoptozy i aktywacji procesów zapalnych. Nadużywanie alkoholu może prowadzić do przewlekłego zatrucia etanolem, które może być kontrolowane przez autofagię i powodować stres oksydacyjny, stres retikulum endoplazmatycznego, dysfunkcję mitochondriów i lizosomów, stan zapalny, uwalnianie cytokin, a nawet śmierć komórki [12,27]. W patofizjologii alkoholowej choroby wątroby (ang. *alcohol-associated liver disease*, ALD) uczestniczy kilka mechanizmów, takich jak deregulacja układu odpornościowego i stres oksydacyjny. Wyniki badania sugerują, że karbonylowane białka i MDA są markerami uszkodzenia oksydacyjnego u pacjentów z alkoholowym zapaleniem wątroby i marskością wątroby [28,29]. Enzym N-metylotransferaza nikotynamidu (ang. *nicotinamide N-methyltransferase*, NNMT) odgrywa istotną rolę w tworzeniu lipotoksyczności po przewlekłym spożyciu alkoholu. NNMT, obecny w hepatocytach, powoduje metylację nikotynamidu, co ogranicza regenerację NAD⁺ – kluczowego dla metabolizmu. Alkohol zwiększa ekspresję NNMT przez indukowany stresem retikulum endoplazmatycznego szlak kinazy białkowej retikulum endoplazmatycznego – aktywującego czynnika transkrypcyjnego 4 (ang. *protein kinase RNA-like endoplasmic reticulum kinase – activating transcription factor 4*, PERK-ATF4), nasilając lipogenezę i stłuszczenie, ale jednocześnie łagodząc uszkodzenia wątroby. NNMT hamuje autofagię indukowaną stresem oksydacyjnym, choć w komórkach śródbłonna może działać ochronnie [27].

Ponadto, spożycie alkoholu może prowadzić do ferroptozy w komórkach wątroby. Ferroptozę związana jest z nasileniem peroksydacji lipidów oraz zwiększoną produkcją RFT powstających poprzez reakcję Fentona, którą zapoczątkowuje redukcja żelaza z Fe³⁺ na Fe²⁺. Ponadto, w przebiegu ferroptozy można zaobserwować spadek kluczowych mechanizmów ochronnych w komórce związany ze spadkiem GSH, czy enzymów

takich jak peroksydaza glutationowa 4 (ang. *glutathione peroxidase 4*, GPx4) czy dysmutaza ponadtlenkowa (ang. *superoxide dismutase*, SOD) [3].

Autoimmunologiczne zapalenie wątroby (AIH)

Nadmierna aktywacja układu odpornościowego w AIH prowadzi do generacji RFT, które nasilają procesy zapalne i przyczyniają się do zwłóknienia wątroby. Badanie Kaffe i wsp. wykazało, że u pacjentów z autoimmunologiczną cholestatyczną chorobą wątroby (ang. *cholestatic liver disease*, AC) oraz AIH występowały podwyższone poziomy markerów stresu oksydacyjnego dotyczących lipidów i białek oraz obniżone stężenie GSH w porównaniu z grupą kontrolną [30]. Charakterystyczne dla AIH było wyższe stężenie aldehydów i aktywność GPx niż w AC. Ponadto, wraz z postępem zwłóknienia do marskości, wzrastały poziomy izoprostanu i karbonylu białkowego, a malał poziom GSH [30]. Wątroby pacjentów z AIH wykazują zwiększoną ekspresję indukowalnej syntazy tlenu azotu (ang. *inducible nitric oxide synthase*, iNOS), a także akumulację nitrotyrozyny, która jest wynikiem nieodwracalnej reakcji między utleniającymi peroksynitrydami a białkami komórkowymi. Wyniki te mogą sugerować, że oksydacyjne uszkodzenie struktur komórkowych odgrywa rolę w patogenezie AIH [31].

W związku z rolą stresu oksydacyjnego w rozwoju AIH, istotne znaczenie może mieć witamina D, która uczestniczy w mechanizmach antyoksydacyjnych i immunomodulacyjnych. Jej niedobór może być kluczowym czynnikiem w patogenezie i progresji AIH. Zostało to potwierdzone w badaniu Tao i wsp., w którym u pacjentów z niedoborem witaminy D stwierdzono obniżone poziomy SOD i limfocytów T, przy jednoczesnym wzroście stężenia bilirubiny całkowitej, bilirubiny sprzężonej i niesprzężonej, aminotransferazy alaninowej, aminotransferazy asparaginianowej oraz MDA [32]. Uzyskane dane sugerują, że niedobór witaminy D może zwiększać podatność na stres oksydacyjny oraz sprzyjać nasileniu reakcji autoimmunologicznej, co może przyczyniać się do rozwoju i progresji AIH.

Zwłóknienie i marskość wątroby

Marskość wątroby to późny etap bliznowacenia wątroby będący konsekwencją nierozpoznanego lub nieleczzonego zwłóknienia wątroby oraz przewlekłego uszkodzenia wątroby i stanu zapalnego wywołanego przez różne czynniki, takie jak m.in. nadużywanie

alkoholu, MASLD, zapalenie wątroby typu B lub C lub genetyczne zaburzenia wątroby [33].

Wiadomo, że RFT mogą wywołać śmierć hepatocytów, nasilić reakcje zapalne, stymulować uwalnianie prozapalnych cytokin z komórek układu odpornościowego oraz bezpośrednio aktywować komórki HSC do produkcji cząsteczek kolagenu i innych składników ECM. Głównym źródłem w kontekście włóknienia wątroby są enzymy NOX1, NOX2 i NOX4, których charakterystyka została przedstawiona w rozdziale 2 [8,9].

Stres oksydacyjny odgrywa istotną rolę w rozwoju zwłóknienia wątroby, co potwierdzają badania prowadzone w eksperymentalnych modelach, takich jak ligacja przewodu żółciowego czy długotrwałe narażenie zwierząt laboratoryjnych na substancje hepatotoksyczne, w tym tetrachlorek węgla (CCl₄) oraz tioacetamid (TAA) [34]. Zarówno badania *in vitro*, jak i *in vivo* wykazały, że zastosowanie inhibitora enzymów NOX4/NOX1, takiego jak GKT137831, prowadzi do obniżenia poziomu RFT oraz zahamowania aktywacji HSC [9].

Rozwój zwłóknienia oraz marskości wątroby wiąże się nie tylko z nasileniem stresu oksydacyjnego, ale również z osłabieniem mechanizmów obrony antyoksydacyjnej. U pacjentów z tymi schorzeniami często obserwuje się obniżoną aktywność enzymów takich jak GSH, GPx, S-transferaza glutationowa (ang. *glutathione S-transferase*, GST) oraz SOD [33]. Suplementacja probiotykami wzbogaconymi w selen oraz GSH prowadzi do istotnego wzrostu poziomu GSH w tkance wątrobowej, a także do zwiększenia aktywności enzymów antyoksydacyjnych GPx i SOD [35]. Co istotne, taka interwencja łagodzi objawy stresu oksydacyjnego oraz ogranicza postęp włóknienia w modelu szczurzym z uszkodzeniem wątroby wywołanym ekspozycją na CCl₄ [35].

Rak wątrobowokomórkowy (HCC)

Stres oksydacyjny odgrywa kluczową rolę w inicjacji i progresji HCC. RFT mogą powodować niestabilność genomową zarówno poprzez bezpośrednie utlenianie DNA, jak i pośrednio – przez indukcję uszkodzeń DNA, co skutkuje mutacjami, aktywacją onkogenów oraz inaktywacją genów supresorowych nowotworu. Szczególnie istotne są zmiany w szlaku sygnałowym WNT oraz mutacje p52, które często występują w HCC [36]. Jednym z głównych produktów peroksydacji lipidów, jest 4-hydroksy-2-nonenal (ang.

4-hydroxy-2-nonenal, 4-HNE), który może tworzyć addukty z DNA, prowadząc m.in. do mutacji genu p53 [37].

Umiarkowany wzrost poziomu RFT aktywuje szlaki sprzyjające przeżyciu komórek nowotworowych, takie jak kinaza białkowa aktywowana mitogenami / kinaza aktywowana zewnątrzkomórkowo 1/2 (ang. *mitogen-activated protein kinase / extracellular signal-regulated kinase 1/2*, MAPK/ERK1/2) [5]. Stres oksydacyjny wpływa również na regulację ekspresji cytokin i czynników wzrostu, które wspierają przetrwanie, proliferację oraz migrację komórek rakowych. Czynniki ryzyka, takie jak przewlekłe zapalenie wątroby wywołane przez wirusy HBV/HCV, alkohol, toksyczność lipidów [3] oraz hemochromatoza [38], przyczyniają się do hepatokancerogenezy właśnie poprzez mechanizmy związane ze stresem oksydacyjnym.

Modele zwierzęce dostarczyły dowodów na znaczenie zaburzeń w systemach antyoksydacyjnych w rozwoju HCC. Myszy z ukierunkowanym wyciszeniem enzymów takich jak SOD1 [39] czy czynnik transkrypcyjny Nrf1 (ang. *nuclear factor erythroid 2-related factor 1*) (homolog Nrf2) wykazywały zwiększoną podatność na rozwój raka wątroby [3]. Klinicznie, niska ekspresja SOD2 koreluje z niekorzystnym rokowaniem [40], natomiast obniżona ekspresja GSTP1 w jednojądrzastych komórkach krwi obwodowej (ang. *peripheral blood mononuclear cells*, PBMC) u pacjentów z HCC wiąże się ze wzrostem markerów stresu oksydacyjnego [41].

Opisane wcześniej w rozdziale 2 enzymy NOX również odgrywają istotną rolę w hepatokancerogenezie. Szczególne znaczenie przypisuje się NOX1, która wspiera proliferację komórek nowotworowych przez aktywację szlaku receptora naskórkowego czynnika wzrostu (ang. *epidermal growth factor receptor*, EGFR) i zwiększa produkcję cytokin zapalnych w makrofagach [42]. W modelu gryzoni z HCC indukowanym dietylonitrozaminą, farmakologiczne zahamowanie NOX1 prowadziło do redukcji stanu zapalnego, angiogenezy i włóknienia, co skutkowało zmniejszeniem częstości występowania nowotworu [43]. Z kolei NOX4 może pełnić rolę ochronną poprzez indukcję senescencji komórek nowotworowych w odpowiedzi na sygnały TGF- β [44]. Niemniej jednak, nadmierna aktywność tych enzymów zaburza homeostazę redoks i sprzyja progresji nowotworu [42,44].

Stres retikulum endoplazmatycznego, wywołany akumulacją nieprawidłowo sfałdowanych białek, również przyczynia się do powstawania HCC poprzez aktywację odpowiedzi na niewłaściwie złożone białka

(ang. *unfolded protein response*, UPR) [5]. W badaniach na modelach zwierzęcych wykazano, że stres retikulum endoplazmatycznego może promować rozwój nowotworu przez szlaki NF- κ B i TNF- α [24,25]. Co istotne, istnieje ścisła zależność między stresem retikulum endoplazmatycznego a stresem oksydacyjnym – wzajemnie nasilają one swoje działanie, tworząc patogenne sprzężenie zwrotne [5].

Kolejnym kluczowym szlakiem jest szlak sygnałowy z udziałem czynnika transkrypcyjnego Nrf2 i elementu odpowiedzi na antyoksydanty (ang. *nuclear factor erythroid 2-related factor 2 / antioxidant response elements*, Nrf2/ARE), odpowiedzialny za regulację mechanizmów obrony antyoksydacyjnej. Choć krótkotrwała aktywacja Nrf2 wykazuje działanie ochronne w chorobach takich jak MASH, jego przewlekła nadaktywność w HCC sprzyja przeżyciu komórek nowotworowych, ich migracji, przerzutom oraz oporności na leczenie [2,45]. Dzieje się to m.in. przez regulację genów takich jak czynnik antyapoptotyczny Bcl-xL (ang. *B-cell lymphoma-extra large*), metaloproteinaza promująca inwazję MMP-9 (ang. *matrix metalloproteinase-9*) oraz hamowanie autofagii. Wysoka ekspresja Nrf2 została skorelowana z niekorzystnym rokowaniem, co czyni ten szlak potencjalnym celem terapeutycznym w leczeniu HCC [45].

Stres oksydacyjny – mechanizmy obronne

Wątroba, będąca jednym z kluczowych narządów odpowiedzialnych za detoksykację organizmu, posiada systemy antyoksydacyjne enzymatyczne i nieenzymatyczne, które chronią jej komórki, zwłaszcza hepatocyty, przed uszkodzeniami wywołanymi stresem oksydacyjnym. Wśród systemów antyoksydacyjnych enzymatycznych obecnych w wątrobie znajdują się SOD, katalaza (ang. *catalase*, CAT) oraz GPx [1,21]. Dysmutaza ponadtlenkowa jest odpowiedzialna za konwersję anionu ponadtlenkowego O₂⁻ do H₂O₂, który jest mniej reaktywny. Katalaza z kolei rozkłada H₂O₂ do wody i tlenu, eliminując szkodliwe efekty nadmiaru tej substancji. Peroksydaza glutationowa działa w obrębie reakcji redoks, rozkładając nadtlenki organiczne i chroniąc komórki przed utlenianiem [4].

Oprócz klasycznych systemów enzymatycznych, w wątrobie istotną rolę w utrzymaniu homeostazy redoks odgrywa system tioredoksyny i peroksyredoksyny, który odpowiada za naprawę uszkodzonych białek poprzez redukcję utlenionych reszt cysteinowych, co pozwala na przywrócenie ich funkcji biologicznych

[3,4]. Ważnym regulatorem odpowiedzi antyoksydacyjnej jest także czynnik transkrypcyjny Nrf2 związany z białkiem Keap1 (ang. *Kelch-like ECH-associated protein 1*) [2]. Nrf2 po aktywacji zwiększa ekspresję genów kodujących enzymy detoksykacyjne, takie jak SOD, GPx, oksygenaza hemowa 1 (ang. *heme oxygenase 1*, HO-1) oraz enzymy zaangażowane w metabolizm glutationu. W warunkach fizjologicznych Nrf2 pozostaje związany z białkiem Keap1 w cytoplazmie i podlega szybkiej degradacji. Jednak pod wpływem stresu oksydacyjnego modyfikacja Keap1 umożliwia uwolnienie Nrf2, jego przemieszczenie do jądra komórkowego i inicjację transkrypcji genów ochronnych, wzmacniając zdolność komórki do neutralizacji wolnych rodników i naprawy uszkodzeń oksydacyjnych [2].

Oprócz enzymów, wątroba korzysta również z antyoksydantów nieenzymatycznych, takich jak glutation, witaminy E i C oraz koenzym Q10 [4,46]. Glutation, jako jeden z głównych wewnętrznych antyoksydantów, pełni kluczową rolę w neutralizowaniu RFT i innych toksycznych związków, biorąc udział w mechanizmach detoksykacji [4]. Witamina E działa głównie jako lipofilowy antyoksydant, chroniąc błony komórkowe hepatocytów przed uszkodzeniami oksydacyjnymi, natomiast witamina C, będąca silnym antyoksydantem rozpuszczalnym w wodzie, neutralizuje wolne rodniki w cytoplazmie [4,46]. Koenzym Q10, który jest ważnym składnikiem łańcucha oddechowego, również pełni funkcję antyoksydacyjną, pomagając w ochronie komórek wątroby przed stresem oksydacyjnym [1].

Te systemy antyoksydacyjne współpracują ze sobą, by skutecznie neutralizować nadmiar RFT i zapewnić prawidłowe funkcjonowanie wątroby, co jest niezwykle istotne w kontekście jej roli w metabolizmie, detoksykacji oraz odpowiedzi immunologicznej.

Nowe strategie terapeutyczne w redukcji stresu oksydacyjnego w chorobach wątroby

Współczesna medycyna coraz częściej ukierunkowuje swoje działania terapeutyczne na molekularne mechanizmy stresu oksydacyjnego, stanowiące podstawę patogenezy wielu chorób wątroby. Oprócz klasycznych przeciwutleniaczy i inhibitorów oksydaz NADPH, rozwijane są nowe, bardziej celowane strategie farmakologiczne i biologiczne. Jednym z obiecujących celów terapeutycznych są aktywatory szlaku Nrf2, takie jak bardoksolon metylowy [47] czy

sulforafan [48], które zwiększają ekspresję enzymów antyoksydacyjnych i zmniejszają uszkodzenia oksydacyjne – mechanizm ich działania został omówiony w poprzednim rozdziale. Aktywacja Nrf2 wpływa również na obniżenie poziomu cytokin prozapalnych oraz poprawę funkcji mitochondrialnych [47], co czyni ten szlak szczególnie atrakcyjnym celem w terapii MASH i HCC. W badaniu przeprowadzonym przez Wu i wsp. wykazano, że hamowanie ferroptozy za pośrednictwem Nrf2 wywiera ochronny wpływ na ostrą lub przewlekłą niewydolność wątroby. Farmakologiczna aktywacja Nrf2 poprzez bardoksolon metylowy osłabiła uszkodzenie wątroby, zapobiegała peroksydacji lipidów, zwiększała ekspresję mRNA syntazy prostaglandynowo-endoperoxydowej-2 i poprawiała morfologię mitochondriów specyficzną dla ferroptozy *in vivo* [47]. Ponadto, badanie przeprowadzone przez Mansouri i wsp. wykazało, że 2-tygodniowe leczenie sulforafanem chroniło przed uszkodzeniem wątroby wywołanym przez lipopolisacharyd u myszy poprzez zwiększenie jego zdolności przeciwutleniającej (podwyższone poziomy SOD, CAT, GSH) i antyapoptotycznej (obniżony poziom kaspazy 3) poprzez aktywację kinazy białkowej aktywowanej AMP (ang. *AMP-activated protein kinase*, AMPK) [49].

Kolejnym nurtem są inhibitory szlaków zapalnych, m.in. kinazy JNK (np. SP600125), które redukują fosforylację czynników transkrypcyjnych odpowiedzialnych za ekspresję cytokin [50] oraz ograniczają indukcję apoptozy i autofagii zależnej od stresu oksydacyjnego. Ponadto, badanie *in vitro* przeprowadzone przez Hamada-Tsutsumi, na HSC LX-2, dostarczyło informacji, że miR-6133-5p ma silne działanie przeciw włóknieniowe, w którym pośredniczy inaktywacja receptora 2 czynnika wzrostu transformującego beta (ang. *transforming growth factor beta receptor 2*, TGFBR2), kinazy białkowej B (ang. *protein kinase B*, PKB) i JNK [51]. Z tego względu wymienione strategie terapeutyczne mogą znaleźć potencjalne zastosowanie zarówno w leczeniu, jak i prewencji MASH, MASLD oraz w hamowaniu postępującego procesu włóknienia wątroby.

W przypadku m.in. HCC, przewlekłego zapalenia wątroby oraz marskości wątroby interesującym celem są również czynniki wpływające na modulację aktywności NF-κB i AP-1 – szlaków uprzednio scharakteryzowanych jako centralne dla odpowiedzi zapalnej w uszkodzeniu wątroby. Wśród terapii wspomagających uwagę zwraca suplementacja nutraceutykami o działaniu antyoksydacyjnym, takimi jak polifenole

(kurkumina, galusan epigallokatechiny, resweratrol) [52], S-adenozylometionina (ang. *S-adenosyl-L-methionine*, SAMe) [53], a także mitochinon (mitochondrialny przeciwutleniacz) [54], które koncentrują swoje działanie wewnątrz mitochondriów – głównego źródła RFT w hepatocytach.

Równolegle rozwijane są strategie modulacji mikrobiomu jelitowego, którego dysbioza przyczynia się do nasilenia stresu oksydacyjnego poprzez endotoksemię i aktywację szlaków Toll-podobnych receptorów [24,25]. Terapie probiotyczne i prebiotyczne zyskują coraz więcej dowodów na skuteczność w ograniczaniu uszkodzeń oksydacyjnych i stanu zapalnego w przebiegu MASH, MASLD i ALD [55,56]. W przeglądzie wykonanym przez Saha i wsp., autorzy wskazują, że dotychczasowe badania dotyczące roli przeszczepu mikrobioty kałowej były w większości małymi badaniami pilotażowymi, ale wyniki są zachęcające, z sygnałem korzyści w zakresie przeżycia w populacji pacjentów z AH [57].

Perspektywiczne wydają się również terapie biologiczne i komórkowe, m.in. z wykorzystaniem komórek macierzystych oraz ich pochodnych, takich jak pęcherzyki zewnątrzkomórkowe, wykazujące zdolność do regeneracji tkanki wątrobowej, tłumienia odpowiedzi zapalnej oraz zmniejszania stresu oksydacyjnego [58]. W badaniu przeprowadzonym przez Mosmoudi i współpracowników zastosowano innowacyjne podejście polegające na połączeniu probiotyku *Limosilactobacillus fermentum* z sekretem pochodzącym z ludzkich mezenchymalnych komórek macierzystych. Zarówno terapia skojarzona, jak i monoterapia prowadziła do zmniejszenia stresu oksydacyjnego, skutecznie łagodziła stan zapalny oraz korzystnie modulowała procesy apoptozy w modelu *in vitro* MASLD [59].

Zastosowanie strategii wieloczynnikowych, łączących interwencje farmakologiczne z dietoterapią, kontrolą metaboliczną i aktywnością fizyczną, może w przyszłości stanowić podstawę kompleksowej terapii chorób wątroby indukowanych stresem oksydacyjnym.

Podsumowanie

Stres oksydacyjny odgrywa istotną rolę w patogenezie i progresji chorób wątroby. Nadmiar RFT prowadzi do uszkodzenia podstawowych biomolekuł, aktywacji odpowiedzi zapalnej, włóknienia oraz transformacji nowotworowej. Stres oksydacyjny odgrywa istotną rolę jako wspólny czynnik wpływający na rozwój chorób takich jak HBV, HVC, MASLD, AIH, AH oraz HCC. Skuteczna terapia powinna obejmować zarówno interwencje farmakologiczne, takie jak inhibitory oksydaz NADPH czy przeciwutleniacze, jak i modyfikacje stylu życia, obejmujące odpowiednią dietę, ograniczenie spożycia alkoholu i kontrolę chorób współistniejących.

Zrozumienie mechanizmów stresu oksydacyjnego otwiera nowe możliwości terapeutyczne w leczeniu i prewencji chorób wątroby. Wiele z omawianych strategii terapeutycznych, takich jak np. aktywatory szlaku Nrf2 czy modulatory mikrobiomu, znajduje się obecnie na etapie badań przedklinicznych lub wczesnych faz klinicznych. Wśród terapii wspomagających coraz większą uwagę zwraca suplementacja nutraceutykami o właściwościach antyoksydacyjnych, niektóre z nich – jak np. SAMe – osiągnęły etap II fazy randomizowanych badań klinicznych. Niemniej jednak, ocena skuteczności i bezpieczeństwa prezentowanych w artykule terapii wymaga dalszych, szczegółowych badań.

Konflikt interesów / Conflict of interest

Brak/None

Adres do korespondencji / Correspondence address

✉ Violetta Krajka-Kuźniak

Katedra i Zakład Biochemii Farmaceutycznej,
Uniwersytet Medyczny im. K. Marcinkowskiego
w Poznaniu

ul Rokietnicka 3, 60-806 Poznań

☎ (+48 61) 641 84 70

✉ vkrajka@ump.edu.pl

Piśmiennictwo/References

1. Ioniuc I, Lupu A, Tarnita I, et al. Insights into the Management of Chronic Hepatitis in Children—From Oxidative Stress to Antioxidant Therapy. *Int J Mol Sci.* 2024;25(7):3908.
2. Hong Y, Boiti A, Vallone D, et al. Reactive Oxygen Species Signaling and Oxidative Stress: Transcriptional Regulation and Evolution. *Antioxidants.* 2024;13(3):312.
3. Allameh A, Niayesh-Mehr R, Aliarab A, et al. Oxidative Stress in Liver Pathophysiology and Disease. *Antioxid Basel Switz.* 2023;12(9):1653.
4. Jomova K, Alomar SY, Alwasel SH, et al. Several lines of antioxidant defense against oxidative stress: antioxidant enzymes, nanomaterials with multiple enzyme-mimicking activities, and low-molecular-weight antioxidants. *Arch Toxicol.* 2024;98(5):1323-67.

5. Yan M, Cui Y, Xiang Q. Metabolism of hepatic stellate cells in chronic liver diseases: emerging molecular and therapeutic interventions. *Theranostics*. 2025;15(5):1715-40.
6. Paik YH, Kim J, Aoyama T, et al. Role of NADPH Oxidases in Liver Fibrosis. *Antioxid Redox Signal*. 2014;20(17):2854-72.
7. Andueza A, Garde N, García-Garzón A, et al. NADPH oxidase 5 promotes proliferation and fibrosis in human hepatic stellate cells. *Free Radic Biol Med*. 2018;126:15-26.
8. Jiang JX, Venugopal S, Serizawa N, et al. Reduced Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate Oxidase 2 Plays a Key Role in Stellate Cell Activation and Liver Fibrogenesis In Vivo. *Gastroenterology*. 2010;139(4):1375-1384.e4.
9. Jiang JX, Chen X, Serizawa N, et al. Liver fibrosis and hepatocyte apoptosis are attenuated by GKT137831, a novel NOX4/NOX1 inhibitor in vivo. *Free Radic Biol Med*. 2012;53(2):289-96.
10. Gong J, Tu W, Liu J, Tian D. Hepatocytes: A key role in liver inflammation. *Front Immunol*. 2023;13:1083780
11. Jalan-Sakrkar N, Guicciardi ME, O'Hara SP, et al. Central role for cholangiocyte pathobiology in cholestatic liver diseases. *Hepatology*. 2024;10.1097/HEP.0000000000001093
12. Sasaki K, Rooge S, Gunewardena S, Hintz JA, Ghosh P, Pulido Ruiz IA, et al. Kupffer cell diversity maintains liver function in alcohol-associated liver disease. *Hepatology*. 2025;81(3):870.
13. Kremer KN, Khammash HA, Miranda AM, et al. Liver sinusoidal endothelial cells regulate the balance between hepatic immunosuppression and immunosurveillance. *Front Immunol*. 2025;15:1497788.
14. Shetty S, Lalor PF, Adams DH. Liver sinusoidal endothelial cells — gatekeepers of hepatic immunity. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2018;15(9):555-67.
15. Zamor PJ, deLemos AS, Russo MW. Viral hepatitis and hepatocellular carcinoma: etiology and management. *J Gastrointest Oncol*. 2017;8(2):229-42.
16. Kumar V. HBx protein as a therapeutic target for functional cure of hepatitis B virus infection. *Virology*. 2025;604:110438.
17. Paracha UZ, Fatima K, Alqahtani M, et al. Oxidative stress and hepatitis C virus. *Virol J*. 2013;10(1):251.
18. Arauz J, Ramos-Tovar E, Muriel P. Redox state and methods to evaluate oxidative stress in liver damage: From bench to bedside. *Ann Hepatol*. 2016;15(2):160-73.
19. Okuda M, Li K, Beard MR, et al. Mitochondrial injury, oxidative stress, and antioxidant gene expression are induced by hepatitis C virus core protein. *Gastroenterology*. 2002;122(2):366-75.
20. Selvamani SP, Khan A, Tay ESE, et al. Hepatitis B Virus and Hepatitis C Virus Affect Mitochondrial Function Through Different Metabolic Pathways, Explaining Virus-Specific Clinical Features of Chronic Hepatitis. *J Infect Dis*. 2024;230(5):e1012-22.
21. Perlemuter G, Davit-Spraul A, Cosson C, et al. Increase in liver antioxidant enzyme activities in non-alcoholic fatty liver disease. *Liver Int*. 2005;25(5):946-53.
22. Ezhilarasan D, Langeswaran K. Hepatocellular Interactions of Potential Nutraceuticals in the Management of Inflammatory NAFLD. *Cell Biochem Funct*. 2024;42(7):e4112.
23. Rives C, Fougerat A, Ellero-Simatos S, et al. Oxidative Stress in NAFLD: Role of Nutrients and Food Contaminants. *Biomolecules*. 2020;10(12):1702.
24. Gheena S, Ezhilarasan D, Shree Harini K, et al. Syringic acid and silymarin concurrent administration inhibits sodium valproate-induced liver injury in rats. *Environ Toxicol*. 2022;37(9):2143-52.
25. Mirhafez SR, Farimani AR, Dehhabe M, et al. Effect of Phytosomal Curcumin on Circulating Levels of Adiponectin and Leptin in Patients with Non-Alcoholic Fatty Liver Disease: A Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Clinical Trial. *J Gastrointest Liver Dis JGLD*. 2019;28:183-9.
26. Musazadeh V, Dehghan P, Saleh-Ghadimi S, et al. Omega 3-rich Camelina sativa oil in the context of a weight loss program improves glucose homeostasis, inflammation and oxidative stress in patients with NAFLD: A randomised placebo-controlled clinical trial. *Int J Clin Pract*. 2021;75(11):e14744.
27. Wang Y, Zhou X, Chen H, et al. Molecular mechanisms of alcohol-associated liver disease-ferroptosis and autophagy crosstalk. *Mol Biol Rep*. 2025;52(1):361.
28. Gutiérrez G, Hernandez A, Medina Z, et al. P-20 OXIDATIVE STRESS MARKERS IN ALCOHOLIC LIVER DISEASE. *Ann Hepatol*. 2024;29:101207.
29. Galicia-Moreno M, Rosique-Oramas D, Medina-Avila Z, et al. Behavior of Oxidative Stress Markers in Alcoholic Liver Cirrhosis Patients. *Oxid Med Cell Longev*. 2016;2016(1):9370565.
30. Kaffe ET, Rigopoulou E, Eirini I, et al. Oxidative stress and antioxidant status in patients with autoimmune liver diseases. *Redox Rep*. 2015;20(1):33-41.
31. Moreno-Otero R. May Oxidative Stress Contribute to Autoimmune Hepatitis Pathogenesis, and Can Antioxidants Be of Value as Adjuvant Therapy for Refractory Patients? *Dig Dis Sci*. 2013;58(5):1440-2.
32. Tao S, Zhang H, Zhao Q, et al. Correlation of vitamin D with inflammatory factors, oxidative stress and T cell subsets in patients with autoimmune hepatitis. *Exp Ther Med*. 2020;19(5):3419-24.
33. Lai CY, Cheng SB, Lee TY, et al. Impact of Glutathione and Vitamin B-6 in Cirrhosis Patients: A Randomized Controlled Trial and Follow-Up Study. *Nutrients*. 2020;12(7):1978.
34. Bao YL, Wang L, Pan HT, et al. Animal and Organoid Models of Liver Fibrosis. *Front Physiol*. 2021;12:666138.

35. Liu Y, Liu Q, Hesketh J, et al. Protective effects of selenium-glutathione-enriched probiotics on CCl4-induced liver fibrosis. *J Nutr Biochem.* 2018;58:138-49.
36. Edamoto Y, Hara A, Biernat W, et al. Alterations of RB1, p53 and Wnt pathways in hepatocellular carcinomas associated with hepatitis C, hepatitis B and alcoholic liver cirrhosis. *Int J Cancer.* 2003;106(3):334-41.
37. Hu W, Feng Z, Eveleigh J, et al. The major lipid peroxidation product, trans- 4-hydroxy-2-nonenal, preferentially forms DNA adducts at codon 249 of human p53 gene, a unique mutational hotspot in hepatocellular carcinoma. *Carcinogenesis.* 2002;23(11):1781-9.
38. Atkins JL, Pilling LC, Masoli JAH, et al. Association of Hemochromatosis HFE p.C282Y Homozygosity With Hepatic Malignancy. *JAMA.* 2020;324(20):2048-57.
39. Thadathil N, Selvarani R, Mohammed S, et al. Senolytic treatment reduces cell senescence and necroptosis in Sod1 knockout mice that is associated with reduced inflammation and hepatocellular carcinoma. *Aging Cell.* 2022;21(8):e13676.
40. Wang R, Yin C, Li XX, et al. Reduced SOD2 expression is associated with mortality of hepatocellular carcinoma patients in a mutant p53-dependent manner. *Aging.* 2016;8(6):1184-97.
41. Li T, Zhao XP, Wang LY, et al. Glutathione S-Transferase P1 Correlated with Oxidative Stress in Hepatocellular Carcinoma. *Int J Med Sci.* 2013;10(6):683-90.
42. Sancho P, Fabregat I. NADPH Oxidase NOX1 Controls Autocrine Growth of Liver Tumor Cells through Up-regulation of the Epidermal Growth Factor Receptor Pathway *. *J Biol Chem.* 2010;285(32):24815-24.
43. Vandierendonck A, Degroote H, Vanderborght B, et al. NOX1 inhibition attenuates the development of a pro-tumorigenic environment in experimental hepatocellular carcinoma. *J Exp Clin Cancer Res.* 2021;40(1):40.
44. Senturk S, Mumcuoglu M, Gursoy-Yuzugullu O, et al. Transforming Growth Factor-Beta Induces Senescence in Hepatocellular Carcinoma Cells and Inhibits Tumor Growth†,‡. *Hepatology.* 2010;52(3):966.
45. Zhang M, Zhang C, Zhang L, et al. Nrf2 is a potential prognostic marker and promotes proliferation and invasion in human hepatocellular carcinoma. *BMC Cancer.* 2015;15(1):531.
46. Gulcin İ. Antioxidants and antioxidant methods: an updated overview. *Arch Toxicol.* 2020;94(3):651-715.
47. Wu J, Xue R, Wu M, et al. Nrf2-Mediated Ferroptosis Inhibition Exerts a Protective Effect on Acute-on-Chronic Liver Failure. *Oxid Med Cell Longev.* 2022;2022(1):4505513.
48. Savic N, Markelic M, Stancic A, et al. Sulforaphane prevents diabetes-induced hepatic ferroptosis by activating Nrf2 signaling axis. *BioFactors Oxf Engl.* 2024;50(4):810-27.
49. Mansouri RA, Alshaibi HF, Alqurashi MM, et al. Sulforaphane protects against LPS-induced liver injury in mice by antagonizing oxidative stress and apoptosis through AMPK activation. *Int J Health Sci.* 2024;18(3):39-47.
50. Zheng X, Dai M, Xu G, et al. Inhibition of inflammation by SP600125 in cholestatic liver injury is dependent on the administration-based exposure profile. *Int J Mol Med.* 2020;46(6):2271-9.
51. Hamada-Tsutsumi S, Onishi M, Matsuura K, et al. Inhibitory Effect of a Human MicroRNA, miR-6133-5p, on the Fibrotic Activity of Hepatic Stellate Cells in Culture. *Int J Mol Sci.* 2020;21(19):7251.
52. Saleh HA, Yousef MH, Abdelnaser A. The Anti-Inflammatory Properties of Phytochemicals and Their Effects on Epigenetic Mechanisms Involved in TLR4/NF-κB-Mediated Inflammation. *Front Immunol.* 2021;12:606069.
53. Baden KER, McClain H, Craig E, et al. S-Adenosylmethionine (SAMe) for Liver Health: A Systematic Review. *Nutrients.* 2024;16(21):3668.
54. Turkseven S, Bolognesi M, Brocca A, et al. Mitochondria-targeted antioxidant mitoquinone attenuates liver inflammation and fibrosis in cirrhotic rats. *Am J Physiol-Gastrointest Liver Physiol.* 2020;318(2):G298-304.
55. Yang F, Li X, Sun J, et al. Regulatory mechanisms of the probiotic-targeted gut-liver axis for the alleviation of alcohol-related liver disease: a review. *Crit Rev Food Sci Nutr.* 2025;1-22.
56. Lee SY, Lee SB, Kwon GH, et al. Synbiotic combination of fructooligosaccharides and probiotics ameliorates the metabolic dysfunction-associated steatotic liver disease. *J Microbiol Seoul Korea.* 2025;63(2):e2411002.
57. Saha S, Schnabl B. Modulating the microbiome in chronic liver diseases – current evidence on the role of fecal microbiota transplantation. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol.* 2025;19(1):53-64.
58. Zou X, Brigstock D. Extracellular Vesicles from Mesenchymal Stem Cells: Potential as Therapeutics in Metabolic Dysfunction-Associated Steatotic Liver Disease (MASLD). *Biomedicines.* 2024;12(12):2848.
59. Mahmoudi SK, Abdolahi S, Saniee P, et al. Limosilactobacillus fermentum role in combination with human mesenchymal stem cell-derived secretome: A novel approach to alleviate inflammation in NASH pathogenesis. *Int Immunopharmacol.* 2025;156:114686.