



**FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA DE TECNOLOGÍA MÉDICA**

**ANÁLISIS DEL FENOTIPO MACROFÁGICO M1 HEPÁTICO Y SU ACTIVIDAD
INFLAMATORIA EN EL DAÑO HEPÁTICO CRÓNICO**

**MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO
DE LICENCIADO EN TECNOLOGÍA MÉDICA**

**AUTORA: LISETTE SÁEZ VALDES
PROFESORA GUIA: DRA. BIOQ. JESSICA ZÚÑIGA HERNÁNDEZ**

TALCA-CHILE

AÑO 2021

CONSTANCIA

La Dirección del Sistema de Bibliotecas a través de su unidad de procesos técnicos certifica que el autor del siguiente trabajo de titulación ha firmado su autorización para la reproducción en forma total o parcial e ilimitada del mismo.



Talca, 2022

DEDICATORIA

A mi familia, que nunca dudó en que este momento llegaría; a los compañeros que hoy son amigos, por nunca rendirnos y siempre apoyarnos; por último, a mi Creador, siempre atento a mí.

AGRADECIMIENTOS

Se agradece a todo el equipo de la Unidad de Investigación, liderado por la Doctora Jessica Zúñiga, que en todo momento fueron amables guías de trabajo, junto a Fondecyt (Fondo Nacional de Desarrollo Científico y Tecnológico) Iniciación 11200258 y a Anid por este proyecto. Por último, agradecer a todos los profesores y académicos que, a lo largo de estos 5 años, han dejado una huella en mi formación profesional por su pasión y amor a esta hermosa carrera.

TABLAS DE CONTENIDOS

Índice de contenidos

	página
Resumen	6
1.-Introducción	7
2.-Objetivos: general y específicos	9
3.- Metodología de búsqueda y organización de la información	10
4.- Marco teórico	11
4.1.- Los macrófagos y la respuesta inmune	11
4.1.1.- Los macrófagos	11
4.1.2.- Ambiente y activación macrofágica	12
4.1.3.- Capacidad de fagocitosis	15
4.1.4.- Fenotipos macrofágicos	15
4.2.- Macrófagos residentes	19
4.2.1.- Macrófagos residentes en el hígado	20
4.2.1.1.- Células de Küpffer	23
4.3.- El hígado	25
4.3.1.- Patologías hepáticas	28
4.3.1.1.- Enfermedad hepática inducida por droga	28
4.3.1.2.- Enfermedad hepática inducida por alcohol	30
4.3.1.3.- Enfermedad hepática no alcohólica	31
4.3.1.4.- Hepatocarcinoma	33
4.3.1.5.- Enfermedad hepática crónica	34
4.3.1.6.- Fibrosis hepática	35
4.3.1.7.- Cirrosis hepática	36
4.4.- Respuesta inmunológica en la enfermedad hepática crónica	37
4.5.- Respuesta inflamatoria en la enfermedad hepática crónica	38
4.6.- Células de Küpffer en el contexto de la enfermedad hepática crónica	50
4.6.1.- Modulación de las células de Küpffer y hepatoprotección	52
4.6.1.1.- Rol de Maresina como agente hepatoprotector	55
5.- Conclusión	58
6.- Referencias bibliográficas	60

Índice de tablas

	página
Tabla 1.- Factores de transcripción involucrados en la activación de diversos macrófagos	13
Tabla 2.- Fenotipo macrofágico M1 y subconjuntos del grupo macrofágico M2	17
Tabla 3.- Cuadro resumen de características y fenotipo de los principales macrófagos residentes hepáticos	22
Tabla 4.- Quimioquinas relevantes en la patogenia de las enfermedades hepáticas y sus receptores correspondientes	39
Tabla 5.- Localización y ligandos de TLR	49
Tabla 6.- Efectos hepatoprotectores de Maresina-1	56

Índice de figuras

	página
Figura 1.- Resumen de los fenotipos y/o polarización de macrófagos a M1, M2 y sus subgrupos junto a sus inductores	18
Figura 2: Estructura del lobulillo hepático	26
Figura 3: Resumen del inflammasoma, piroptosis y señalización por NF- κ B	44
Figura 4: Vías de señalización de NF- κ B	46
Figura 5.- Representación ilustrada de los dominios del receptor tipo toll integrados en la membrana celular	48
Figura 6.- Propuesta del mecanismo de inflamación y resolución junto a agentes pro-resolutivos	59

RESUMEN

Los macrófagos son células del sistema inmunitario capaces de rodear microorganismos patógenos y destruirlos, además de eliminar células muertas de nuestro organismo y estimular otras células pertenecientes al sistema inmunitario en situaciones patológicas. Estas células se encuentran distribuidas en el cuerpo humano, con el objetivo de mantener la homeostasis previniendo enfermedades. Uno de esos órganos es el hígado, cuya principal función es la eliminación de sustancias que pueden ser nocivas para el organismo, además de esto, puede sintetizar importantes elementos de la coagulación, metabolizar ácidos grasos, medicamentos, entre otras funciones. El macrófago residente en el hígado más reconocido es la Célula de Kúpffer, descrita por primera vez por Karl Wilhelm-von Kúpffer como una célula no migrante y capaz de renovarse a sí misma. Durante condiciones homeostáticas, las Células de Kúpffer procesan antígenos para inducir la respuesta de células T reguladores, actuando como centinelas para asegurar la homeostasis del hígado. Ante situaciones patológicas, esas células muestran su capacidad de polarización y plasticidad, adquiriendo fenotipos macrofágicos M1 o M2 y pasando rápidamente de un fenotipo a otro según las señales detectadas del microambiente hepático. El fenotipo M1 se describe como inflamatorio, apareciendo en la primera etapa de una lesión hepática, mientras que el fenotipo antiinflamatorio M2 surge para resolver los daños. Este complejo proceso no está descrito a cabalidad y se han identificado fenotipos que no se corresponden con los modelos M1 y M2, por lo que se reconoce la gran plasticidad de esta célula para resolver lesiones y mantener la homeostasis hepática. El objetivo de este trabajo de revisión bibliográfica es describir el fenotipo macrofágico en el tejido hepático en condiciones fisiológicas y dentro del contexto de la enfermedad crónica hepática. Junto a esto, se busca destacar a Maresina-1, un derivado de los ácidos grasos esenciales, como agente antiinflamatorio y hepatoprotector, compuesto que está siendo estudiado por su capacidad de cambiar un fenotipo macrofágico M1 a uno M2. Para esto se realizó una búsqueda exhaustiva de información a partir de fuentes reconocidas, la que fue seleccionada siguiendo criterios definidos con el fin de realizar una revisión actualizada de la información.

Palabras claves: Macrófago, Célula de Kúpffer, Enfermedad hepática crónica, Maresina.

1.- INTRODUCCIÓN

Según la Sociedad Británica de Inmunología, “los macrófagos son células especializadas en la detección, fagocitosis y destrucción de bacterias y otros organismos dañinos. Además, pueden presentar antígenos a las células e iniciar el proceso inflamatorio mediante la liberación de moléculas, llamadas citocinas, que activan otras células” (1). Estas células fueron descritas en el año 1893 por Élie Metchnikoff al observar el proceso de fagocitosis durante la inflamación de tejidos, siendo definida, a partir de las primeras investigaciones, como una célula residente en tejidos con capacidad de matar y comer patógenos infecciosos y contribuir en la inmunidad (2). Después de varios años de investigación, evaluando sus funciones, morfología y origen, los macrófagos se describen como células derivadas de monocitos sanguíneos diferenciados fagocíticos que pueden ser activadas por ligandos clásicos o alternativos para formar poblaciones polarizadas (3).

El hígado es el segundo órgano más grande del cuerpo humano después de la piel, representa el 2% del peso corporal y está ubicado en el hipocondrio derecho, por debajo del diafragma. Se describe como un órgano accesorio del tracto gastrointestinal y único al cumplir múltiples funciones relacionadas con otros órganos a través de su unidad funcional básica, el lobulillo hepático (4). En el hígado reside una población de macrófagos que podemos encontrar en el sinusoides, lo que facilita su rol fagocítico de patógenos circulantes por el sistema porta y en las arterias. Hablamos de las células Küpffer, que actúan como primera línea de defensa ante materiales inmunorreactivos que puedan provenir desde el intestino hacia el sinusoides hepático, teniendo también la capacidad de eliminar partículas, eritrocitos o células muertas del parénquima. Además, poseen propiedades protectoras ante situaciones de lesión hepática, sin embargo, ante una desregulación del control de las respuestas inflamatorias en estas células, se puede desencadenar una reacción inflamatoria

crónica en el hígado. En resumen, los macrófagos hepáticos tienen funciones cruciales en el mantenimiento de la homeostasis del hígado, e indirectamente, de todo el cuerpo (5).

Dentro del contexto de la lesión hepática, las células de Küpffer tienen un rol fundamental al reconocer patrones moleculares asociados a daño y a patógenos (DAMP y PAMP respectivamente, de las siglas en inglés *damage associated molecular patterns* y *pathogen-associated molecular patterns*) (6). Como se dijo anteriormente, estas células tienen la capacidad de polarizarse y adquirir un fenotipo macrofágico inflamatorio, o “M1”, o bien un fenotipo antiinflamatorio o “M2”; esta diferenciación depende del elemento activador que esté siendo liberado en el microambiente. Cabe destacar que hoy en día no se conocen a cabalidad todos los procesos de polarización de macrófagos que ocurren dentro de la realidad fisiológica ni durante una situación patológica. Además de la capacidad de polarización de estos macrófagos, se destaca su gran plasticidad ante múltiples señales externas. En la mayoría de los casos, las células de Küpffer se presentan con fenotipos inflamatorios al mismo tiempo que el antiinflamatorio, pudiendo cambiar de forma rápida su presentación de acuerdo con el microambiente que los rodea durante cualquier lesión hepática. Recientemente se ha descrito, en varias publicaciones, el amplio espectro de estados de activación que no sigue el modelo macrofágico M1 o M2, lo que nos demuestra lo complejo de los procesos que dan lugar a la generación o resolución de patologías hepáticas y que aún desconocemos (7).

Durante los últimos años, se ha documentado la participación de un mediador lipídico pro-resolutivo, conocido como Maresina, en la reparación de lesiones hepáticas originadas por diversas causas. Este componente corresponde a un derivado del Omega-3, el cual obtenemos a partir de nuestra dieta al ser un ácido graso esencial. Se caracteriza por reducir la inflamación causado por células polimorfonucleares (función antiinflamatoria) y mejorar la fagocitosis de los macrófagos (función pro-resolutiva) (8).

2.- OBJETIVOS

2.1.- General

1. Describir el fenotipo macrofágico presente en el tejido hepático tanto en condiciones fisiológicas como en el contexto de la enfermedad crónica hepática, proponiendo el potencial beneficio de la Maresina-1 como agente antiinflamatorio y hepatoprotector.

2.1.- Específicos

1. Describir el fenotipo macrofágico en el contexto fisiológico del hígado normal.
2. Describir los cambios inmunológicos observados en las enfermedades hepáticas crónicas.
3. Describir las modificaciones fenotípicas de los macrófagos hepáticos en el contexto de las enfermedades crónicas y su respuesta ante agentes hepatoprotectores, como Maresina-1.

3.- METODOLOGÍA DE BÚSQUEDA Y ORGANIZACIÓN DE LA INFORMACIÓN

Para dar cumplimiento a los objetivos de este trabajo de investigación bibliográfico, se han mantenido ciertos márgenes de búsqueda y recopilación de la información, contemplando como fuentes de búsqueda las páginas PubMed, Scielo, Elsevier y la Biblioteca de Libros de la Universidad de Talca (www.biblioteca.otalca.cl).

La búsqueda se hizo utilizando como principal idioma el Inglés y ocasionalmente el Español, la selección de los documentos se hizo a partir del año 2010 en adelante y se sumaron las publicaciones asociadas a patologías.

Los principales términos usados para la búsqueda fueron: macrófagos, hígado, células de Küpffer, macrófago M1, macrófago M2.

4.- MARCO TEORICO

4.1.- Los macrófagos y la respuesta inmune

Uno de los procesos fisiológicos más complejos y esenciales del cuerpo humano es la inmunidad, cuyo objetivo es percibir y combatir los cambios que ocurren dentro de nuestro organismo y, dentro de este contexto, los macrófagos, junto a las células dendríticas, cumplen un importante rol en la inmunidad innata, ya que pueden detectar la invasión de patógenos y las señales de peligro a través de los receptores de reconocimiento de patrones (PRR). Los receptores tipo Toll (TLR, *del inglés Toll like receptors*) son receptores PRR que se desempeñan en la respuesta inmunitaria, reconociendo patrones moleculares asociados a patógenos de bacterias, virus y de daño por células muertas o lesionadas. Estos receptores activan vías de señalización que sintetizan citoquinas, quimioquinas y moléculas inducibles asociadas con la respuesta inmunitario. Este receptor es expresado por macrófagos, células dendríticas, neutrófilos, células NK (*del inglés Natural Killer*) y fibroblastos, activando el sistema inmunitario (9).

4.1.1.- Los macrófagos

Según el *Dictionary of Cell and Molecular Biology*, un macrófago corresponde a una célula fagocítica de vida larga presente en tejidos de mamíferos. Son derivados de los monocitos sanguíneos, los cuales se diferenciarán y obtendrán propiedades diferentes según su sitio o ubicación en nuestro organismo. Los principales tipos de macrófagos son los

peritoneales, alveolares, tisulares o histiocitos, células de Küpffer y osteoclastos. Son capaces de responder ante elementos extraños, pudiendo activarse para destruir bacterias, protozoos, células tumorales, entre otros. Junto a esto, liberan sustancias con el objetivo de estimular otras células del sistema inmunitario y participan en la presentación de antígenos. Durante lesiones inflamatorias crónicas, los macrófagos pueden diferenciarse a células epitelioides o fusionarse, formando células gigantes de cuerpo extraño o células gigantes de Langhans (10).

Debido a que los macrófagos son capaces de diferenciarse en cuanto a su función, de acuerdo con el sitio donde realicen su acción, estos cumplen diversos roles a lo largo de nuestro organismo: en el intestino mantienen la tolerancia a la microbiota intestinal y los alimentos consumidos diariamente, en órganos linfoides secundarios tienen funciones inmunitarias pudiendo eliminar diversos patógenos, en el cerebro, ojo y testículos realizan remodelación tisular y participan en la homeostasis. En síntesis, cada subpoblación de macrófagos que se especializan en cada uno de estos tejidos, es capaz de fagocitar o internalizar una gran cantidad de materiales extraños para nuestro organismo, pudiendo también reclutar macrófagos adicionales que se encuentran en circulación en situaciones de infección o lesiones que evolucionan a graves o crónicas (11).

4.1.2.- Ambiente y activación macrofágica

Toda célula de tipo macrofágica comienza a cumplir su función una vez que es activada o inducida al reconocer señales exógenas asociadas al estrés a través de los PRR, receptores de citoquinas, quimiocinas o factores de crecimiento. Esto finalizará con la activación de su función fagocítica, su producción de citoquinas y la síntesis de moléculas de superficie celular. Se comenzará con la activación de la transducción de señales específicas

por la vía NF- κ B (del inglés *nuclear factor κ B*, factor nuclear kappa beta) o JAK-STAT (del inglés *Janus kinases - Signal Transducer and Activator of Transcription*, Quinasas Janus - Transductor de señal y activador de transcripción), induciendo la transcripción y traducción de moléculas efectoras asociadas a la función de estas células (7). Sin embargo, aún está en duda la veracidad de esta teoría, según algunos estudios de transcriptómica y epigenética: se dice que los macrófagos siempre se encuentran activados, debido a que cada señal detectada del microambiente es percibida, integrada y procesada, conduciendo a cambios transcripcionales especializados. Es por esto que no existe solo un fenotipo macrofágico, sino que se describen variadas rutas transcripcionales y epigenéticas que dan origen a grupos y subgrupos macrofágicos, adicionales a las diferencias dadas por su ubicación dentro de nuestro organismo (Tabla 1) (12)

Tabla 1: Factores de transcripción involucrados en la activación de diversos macrófagos. Fuente: elaboración propia Sáez, L. (2021).

Macrófagos del organismo	Factor de transcripción en activación celular
Macrófago del bazo	Aumentan niveles del factor de transcripción (FT) Spi-C en respuesta al grupo hemo
Macrófago peritoneal	El nivel de ácido retinoico local regula la expresión del FT GATA6
Células de la microglía	Aumenta niveles de TGF- β (del inglés <i>Transforming growth factor-beta</i> , factor de crecimiento transformante beta) en el cerebro que regula el FT Smad
Células de Küpffer	Interleuquina 4 (IL-4) induce a PPAR δ (del inglés <i>Peroxisome proliferator-activated receptor gamma</i> , Receptor gamma activado por proliferado de peroxisoma) para controlar la expresión de Arginasa-1

Es necesario diferenciar los procesos causados por señales que se encuentran dentro de la normalidad del organismo, también llamado *homeostasis tisular*, de los causados por el estrés: cualquier señal anormal proveniente del tejido (citoquinas inflamatorias, moléculas patógenas, factores de crecimiento, entre otros) o concentraciones no fisiológicas de señales homeostáticas. En particular, ante procesos de estrés causados por diversos elementos y circunstancias, se generan factores de transcripción específicos que interactúan con el complejo proteico NF- κ B, uniéndose a sitios de genes diana sensibles y obteniendo su especificidad de señal al activarse *downstream* (proveniente del inglés, refiriéndose a vía de señalización aguas abajo) en los principales receptores. Sin embargo, también puede activarse la vía JAK-STAT: la IL-4 induce la señalización de IFN (interferón) o STAT4, lo que llevaría a la activación de STAT1 y, con esto, de la vía completa (13).

La activación de los principales fenotipos macrofágicos, M1 y M2, se denominan *vía clásica* y *vía alternativa* respectivamente. La primera vía, depende de los productos sintetizados por linfocitos T helper (Th) activados, células NK (IFN- γ (interferón tipo gamma) como principal producto) y células presentadoras de antígeno (APC, del inglés *antigen presenting cells*) (interleuquina-12 y 18), de esta forma, se activa la vía JAK/STAT1 (del inglés *Janus kinases*, quinasas Janus) para lograr inducir la expresión de genes (14). La vía alternativa no está bien descrita en la literatura, sin embargo, se conoce que participan las IL-4 e IL-13 junto a linfocitos Th 2 durante situaciones de alergia, ante agentes patógenos parasitarios y extracelulares. Tanto IL-4 como IL-13 son capaces de inducir la superposición de la superficie celular, estimulando la endocitosis, la presentación de antígenos y la inducción de la expresión de quimiocinas selectivas (15).

4.1.3.- Capacidad de fagocitosis.

Uno de los pasos claves e inicial en el proceso de resolución de una inflamación, es la eliminación de células muertas y/o desechos celulares. Esto está dado por las células con fenotipo macrofágico M2 o resolutivos. Se ha demostrado, que por parte de las células de Küpffer, la actividad fagocítica es más bien variable y depende de la señalizaciones del microambiente durante el proceso de la lesión hepática (16). Se han identificado algunos de los principales elementos involucrados en la alteración o promoción de la capacidad de fagocitosis de los macrófagos hepáticos, un ejemplo es el TGF- β , que está presente en las células apoptóticas y hace que las células de Küpffer secreten IL-10, suprimiendo la respuesta proinflamatoria. Al igual que el TGF- β , el TNF- α y la IL-6 son otros ejemplos de citoquinas que favorecen la capacidad de fagocitosis hepática (17).

4.1.4.- Fenotipos macrofágicos

Una vez que los macrófagos se enfrentan a los productos microbianos o bien son activados a través de señalizaciones por citoquinas, estos expresan propiedades de función polarizadas, pudiendo adoptar una forma Th1 o Th2, también llamados células con fenotipo Macrofágico tipo 1 o 2 (M1 o M2). Su activación y posterior polarización, proceso donde los macrófagos adquieren fenotipos específicos y una respuesta funcional a los estímulos y señales microambientales que se encuentran en el tejido (18), dependerá de elementos circulantes producidos por lesiones e infecciones: los macrófagos M1, también llamados *macrófagos activados clásicamente*, son inducidos por INF- γ y lipopolisacáridos (LPS), pero además pueden participar elementos microbianos y citoquinas como TNF- α (del inglés *tumor necrosis factor* de tipo alfa) y GM-CSF (del inglés *granulocyte-macrophage colony*

stimulating factor). El fenotipo M2, también llamado *macrófagos activados alternativamente*, es inducido por IL-4 o IL-13, los que además son inhibidores de macrófagos M1, junto a estas ILs, los macrófagos M2 pueden ser activados por complejos inmunes, IL-10, glucocorticoides, hormonas secoesteroides, activina A e IL-21 (19). En cuanto al fenotipo y función de las células M1, se ha descrito que presentan un fenotipo IL-12^{alto} (niveles altos), IL-23^{alto}, IL-10^{bajo} (niveles bajos) y dentro de sus funciones está el ser eficientes productores de especies reactivas de oxígeno (EROs), nitrógeno y citoquinas inflamatorias, tales como IL-1 β , TNF- α e IL-6, ser inductores y efectores en respuestas Th1 polarizadas, también participan en la resistencia contra parásitos y tumores intracelulares. En cambio, las células M2 tienen un fenotipo IL-12^{bajo}, IL-23^{bajo}, IL-10^{alto} y son capaces de producir citoquinas inflamatorias dependientes de la señal de activación, participan en reacciones polarizadas Th2, promueven la muerte y encapsulación de parásitos, están presentes en tumores establecidos, promueven la progresión tumoral, reparación y remodelación tisular, además de tener funciones inmunorreguladoras (20).

En la actualidad, se sabe que existen varios subconjuntos dentro de los grupos macrófagos M1 y M2. Este último grupo, puede subdividirse en 4 subgrupos: M2a, M2b, M2c y M2d (Tabla 2), esto se debe a su capacidad de plasticidad, característica necesaria para lograr cambios complejos en los productos y la apariencia de las poblaciones de macrófagos a medida que se adaptan al entorno celular (Figura 1) (18).

Tabla 2: Fenotipo macrofágico M1 y subconjuntos del grupo macrofágico M2. Tomado y adaptado de Mantovani y cols, 2004 (21).

Subgrupo	Inducción/Activación	Produce
M2a	IL-4 y IL-13	Altos niveles de CD206, receptor IL-1, receptor IL-RII, antagonista del receptor IL-1
M2b	Inmunocomplejos (CI), agonistas de TLR o ligandos del receptor IL-1	Citoquinas antiinflamatorias y proinflamatorias (IL-10, IL-1 β , IL-6 y TNF- α)
M2c	Glucocorticoides e IL-10	Actividad antiinflamatoria contra células apoptóticas liberando IL-10 y TGF- β
M2d	Agonista de TLR a través del receptor de adenosina (A _{2a} R)	Supresión de citoquinas proinflamatorias e inducción de antiinflamatorias junto al factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF). Proangiogenesis
M1	INF- γ y lipopolisacáridos (LPS)	IL-12, IL-23, óxido nítrico, especies reactivas de oxígeno (ROS del inglés <i>reactive oxygen species</i>)

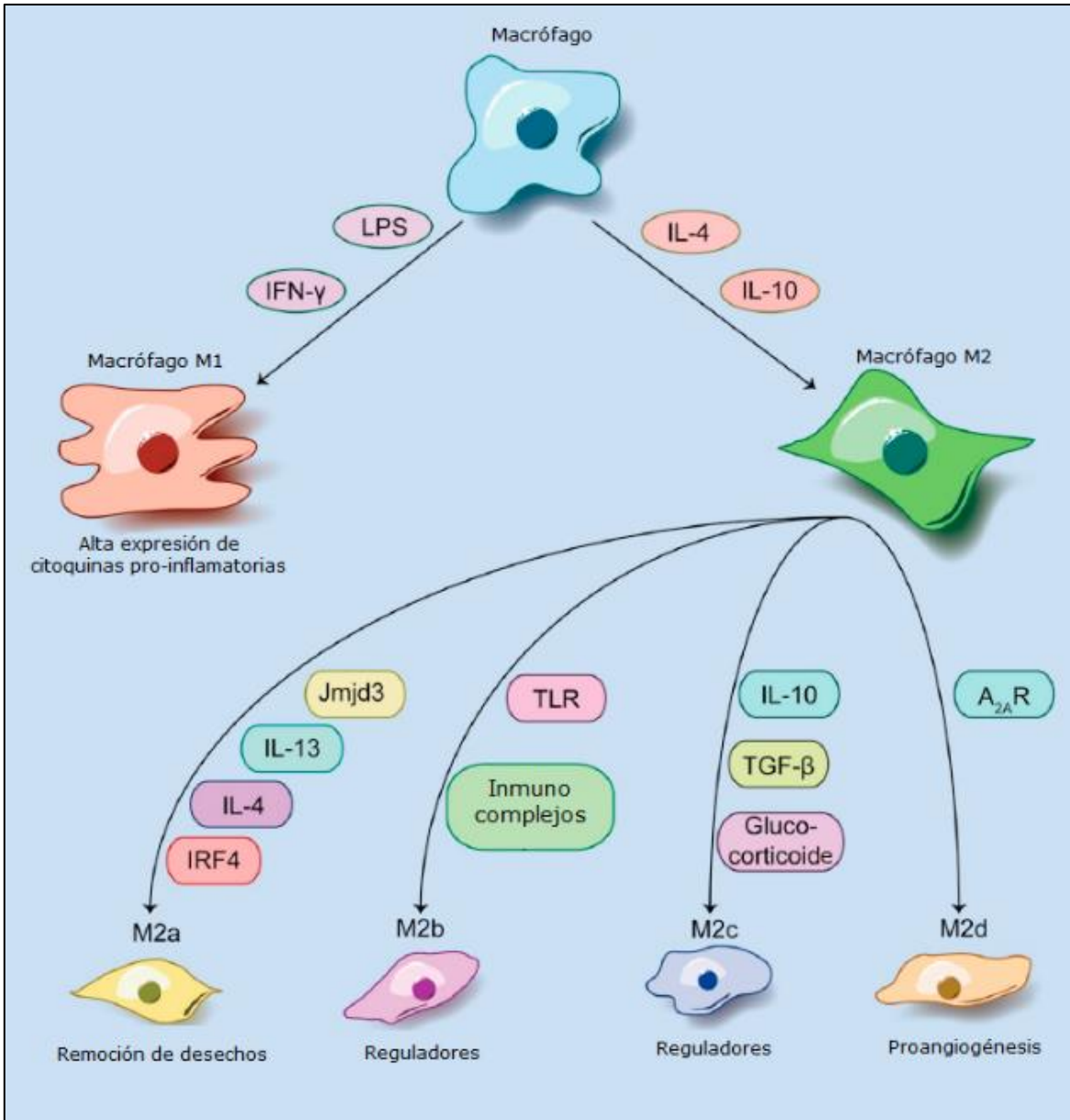


Figura 1: Resumen de los fenotipos y/o polarización de macrófagos a M1, M2 y sus subgrupos junto a sus inductores. La activación del macrófago puede generarse por dos vías: vía clásica o M1 con alta expresión de citoquinas proinflamatorias y la vía alternativa o M2, con generación de subtipos M2a para remoción de desechos, M2b y M2c reguladores y M2d para la proangiogénesis (tomado y adaptado de Wang y cols, 2019) (22).

4.2.- Macrófagos residentes

Hoy en día, se sabe que las poblaciones de macrófagos residentes en los distintos tejidos de nuestro organismo han estado en funcionamiento desde nuestra etapa embrionaria, por procesos denominados *oleadas hematopoyéticas*. Estas células son capaces de cumplir sus funciones y auto-mantenerse sin la necesidad de la ayuda que pueda otorgar la médula ósea. Sin embargo, en un principio se creyó que los macrófagos eran apoyados y repoblados por monocitos circulantes de la sangre (23).

Los principales órganos en donde encontramos macrófagos residentes son el cerebro, peritoneo, órganos reproductivos, intestino, hígado, riñones y pulmones, entre otros. Los macrófagos intestinales los encontramos en la lámina propia del tracto gastrointestinal y participan en la presentación de antígenos, fagocitando bacterias y células muertas, a los macrófagos cerebrales se les denomina *células microgliales*, las cuales participan induciendo la respuesta inmunitaria y modulando la función neural. Los macrófagos presentes en el peritoneo son catalogados como *macrófagos de serosas* y tienen la capacidad de destruir células neoplásicas y bacterianas, los presentes en órganos reproductivos participan fagocitando espermios no eyaculados en los testículos, células degenerativas del cuerpo lúteo en ovarios y destruyendo los microorganismos que puedan detectarse. Los macrófagos del hueso se denominan *osteoclastos*, encargados de la resorción ósea, los del riñón son las *células mesangiales* presentes en los glomérulos renales y también se han descrito macrófagos en tejidos conjuntivos, denominados *histiocitos* (24).

4.2.1.- Macrófagos residentes en el hígado

El hígado es uno de los tantos órganos indispensables para mantener nuestro estado fisiológico saludable, asumiendo diversas funciones, como la desintoxicación de metabolitos, síntesis de proteínas esenciales, entre otros. Este órgano puede ser afectado por variadas patologías: hepatitis, esteatosis, hepatocarcinoma, cirrosis, isquemias, etc., de las cuales derivarán numerosas señales de activación que llegarán al grupo de macrófagos residentes en el hígado (25, 26).

En un hígado normal, este grupo de células tienen distintos orígenes, lo que se relaciona con las distintas funciones celulares que realiza cada grupo, como la capacidad de responder al ser activados y el reclutamiento como respuesta a señales, esto va a influir directamente en la respuesta inmunitaria ante situaciones desfavorables o patológicas. Existe un grupo derivado de células progenitoras eritromieloides del saco vitelino (Células de Küpffer: células grandes y ubicados cerca de capilares sinusoides) y otro procedentes de monocitos sanguíneos (entre un 5-30% del total de macrófagos hepáticos, células pequeñas, ubicados alrededor de venas centrales y el tracto porta). Ambos grupos de macrófagos expresan en su superficie el marcador CD68, pero las células derivadas de saco vitelino expresan, además, el marcador CD163, mientras que aquellos derivados de monocitos expresan CD11b en un mayor nivel que las Células de Küpffer. Se ha descrito un tercer grupo de macrófagos, estos son los macrófagos peritoneales de regiones subcapsulares, los cuales surgen de monocitos circulantes adultos (tienen como marcadores de superficie al CD64 F4/80 MHC II y CD11c) y se ha descrito que son reclutadas tras ocurrido un trauma, infecciones o cánceres. La activación de estas células también se puede dar como un fenómeno proinflamatorio o antiinflamatorio, esto dependerá del elemento activador: el uso de lipopolisacáridos (LPS) o tioglicolato genera fenotipos proinflamatorios, mientras que al usar IL-4 produce el fenotipo antiinflamatorio (25-27).

Se han estudiado los conjuntos de macrófagos residentes en el hígado de ratones y se han caracterizado sus marcadores fenotípicos tanto en condiciones de normalidad como en inflamación, donde ocurre infiltración de macrófagos procedentes de la médula ósea. Según estos estudios, se puede identificar el fenotipo de macrófagos residentes (Ly6C⁻ CX3CR1^{bajo}), de los derivados de médula ósea (Ly6C⁺ CX3CR1^{alto}), de células de Küpffer (F4/80⁺, CD11b⁻, CD169⁺, CD68⁺, CD80^{bajo} o CD68⁺, CD11b⁻ o F4/80^{alto} CD11b^{bajo}) y de macrófagos monocíticos infiltrantes o sanguíneos (F4/80⁺ CD11b⁺ CD80^{alto} CD11b⁺) (27).

Algunos estudios también consideran la contribución del reservorio de monocitos provenientes del Bazo (fenotipo: Ly-6C^{alto}, F4/80^{alto}, CD11c^{alto}), los cuales apoyarían a los macrófagos hepáticos. Estas células mieloides esplénicas tienden a acumularse en la periferia del sitio de la lesión, pero se desconoce si su función es distinta a los macrófagos residentes. Otra característica estudiada de estos macrófagos, es su capacidad de activar a las células de Küpffer en situaciones de fibrosis hepática, lo que llevaría a establecer un fenotipo macrofágico inflamatorio y al reclutamiento de monocitos, función que realizarían liberando mediadores de señalización (Tabla 3) (25, 28).

Tabla 3: Cuadro resumen de características y fenotipo de los principales macrófagos residentes hepáticos. Elaboración propia, Sáez, L. (2021).

Macrófago Residente	Origen	Fenotipo	Otras características
Células de Küpffer	Células progenitoras eritromieloides del saco vitelino	CD68 y CD163. Fenotipo identificado en ratones: F4/80 ⁺ , CD11b ⁻ , CD169 ⁺ , CD68 ⁺ , CD80 ^{bajo} o CD68 ⁺ , CD11b ⁻ o F4/80 ^{alto} CD11b ^{bajo}	Ubicados cerca de capilares sinusoidales
Monocitos	Procedentes de monocitos sanguíneos	CD68 y CD11b. Fenotipo identificado en ratones: Ly6C ⁺ CX3CR1 ^{alto}	Son el 5-30% de los macrófagos hepáticos, ubicados alrededor de venas centrales y el tracto portal
Macrófagos peritoneales de regiones subcapsulares	Surgen de monocitos circulantes adultos	CD64, F4/80, MHC II y CD11c. Fenotipo identificado en ratones: F4/80 ⁺ CD11b ⁺ CD80 ^{alto} CD11b ⁺	Reclutados en situaciones de trauma, infecciones o en cánceres
Monocitos provenientes del Bazo	Células mieloides esplénicas	Ly-6C ^{alto} , F4/80 ^{alto} , CD11c ^{alto}	Se acumulan en la periferia del sitio de la lesión, activan a las células de Küpffer ante fibrosis hepática

4.2.1.1.- Células de Küpffer

Una de las poblaciones más relevantes de macrófagos en el hígado son las células de Küpffer, descrita por primera vez por Karl Wilhelm-von Küpffer en el año 1876. Karl Küpffer fue un neuroanatomista y embriólogo, dedicado a la investigación de la fertilización, la diferenciación temprana del mesodermo, el desarrollo del cerebro, riñón, bazo y páncreas; además, siempre estuvo muy interesado en la innervación de glándulas exocrinas del hígado y el páncreas. La contribución más importante de este gran científico fue el descubrimiento de las “células estrelladas” del hígado usando el método de cloruro de oro de Gerlach, sin embargo, el hallazgo de estas células fue un hecho totalmente accidental, ya que Karl Küpffer se encontraba investigando las fibras nerviosas en el hígado. Lo que observó fueron pequeñas células en forma de estrella teñidas de color negro, debido al cloruro de oro, distribuidas por todo el lóbulo hepático a las cuales llamó células estrelladas. A partir de esta primera observación, comenzó el proceso de investigación en colaboración con muchos científicos que buscaban determinar más características de esta nueva célula (29).

A medida que pasaron los años, mejoraron las técnicas de investigación y se comenzó a entender cada vez más el rol y la importancia de las células estrelladas que, con los años se conocieron y popularizaron con el nombre de células de Küpffer. Actualmente, se conoce que estas células son macrófagos especializados ubicados en el sinusoides hepático, cercanos a las células endoteliales sinusoidales, tienen una morfología ameboide, con microvellosidades, pseudópodos y lamelipodios en su superficie, los que están involucrados en la endocitosis de partículas (30).

El origen de las diferentes células macrofágicas determina sus propiedades, así como sus procesos fisiológicos y patológicos: las células Küpffer provienen de células progenitoras hematopoyéticas de la pared del saco vitelino (16), y cumplen con ser la primera línea de defensa ante materiales inmunorreactivos que puedan provenir desde el intestino hacia el sinusoides hepático, además de esto, tienen la capacidad de eliminar partículas, eritrocitos o células muertas del parénquima y propiedades protectoras ante situaciones de lesión del órgano, sin embargo, ante una desregulación del control de las respuestas inflamatorias en las células, se puede desencadenar una reacción inflamatoria crónica en el hígado (5). Se ha descrito que, durante una condición de inflamación pronunciada, acuden macrófagos de diferente origen para reparar el tejido, pero en ausencia de esta condición, los encargados de la regeneración del órgano afectado son los macrófagos residentes; un buen ejemplo de este modelo, son los procesos de regeneración hepática (16).

Otra de las múltiples funciones de las células de Küpffer, es poder controlar el metabolismo de colesterol, expresando la proteína de transferencia de éster de colesterol (CETP, del inglés *cholesteryl ester transfer protein*), reguladora del nivel de lipoproteínas de alta y baja densidad en el plasma (HDL y VLDL, del inglés *High density lipoprotein* y *very low density lipoprotein*). Además, estas células participan en el metabolismo del hierro y de la bilirrubina.

Estos macrófagos se han caracterizado inmunofenotípicamente en células de ratón, donde se encontró que expresaban en su superficie F4/80, CD11b+/bajo, CD68 y el miembro de la familia 4 del dominio de lectina de tipo CF (CLEC4F, del inglés *C-type lectin domain family 4 member F*), expresan también el receptor del factor 1 estimulante de colonias de macrófagos (CSF1R, del inglés *Colony stimulating factor 1 receptor*, también conocido como CD115) y múltiples receptores TLR4 y TLR9 (6).

4.3.- El hígado

El hígado es el segundo órgano más grande del cuerpo humano después de la piel, representando el 2% del peso corporal total (pesa 1,5kg. aproximadamente en un hombre adulto tipo) y está ubicado en el hipocondrio derecho por debajo del diafragma. Se describe como un órgano accesorio del tracto gastrointestinal y único al cumplir múltiples funciones relacionadas con otros órganos a través de su unidad funcional básica, el *lobulillo hepático* (4). El lobulillo hepático es una estructura cilíndrica distribuida alrededor de una vena central (centrolobulillar) que se dirige hacia las venas hepáticas y estas a su vez hacia la vena cava inferior. Los cerca de 50.000-100.000 lobulillos, se componen de placas celulares dispuestas en forma de radios de una circunferencia intercalados por canalículos biliares que cumplen la función de drenar hacia los conductos biliares, además, están rodeados de vénulas y arteriolas hepáticas provenientes de la arteria hepática y vena porta, encargados de hacer una doble irrigación sanguínea a las células hepáticas, endoteliales típicas y las células Kupffer, estas dos últimas corresponden al revestimiento de los sinusoides (canales amplios entre las placas celulares, donde las células hepáticas eliminan y liberan sustancias a la circulación) (figura 2) (19).

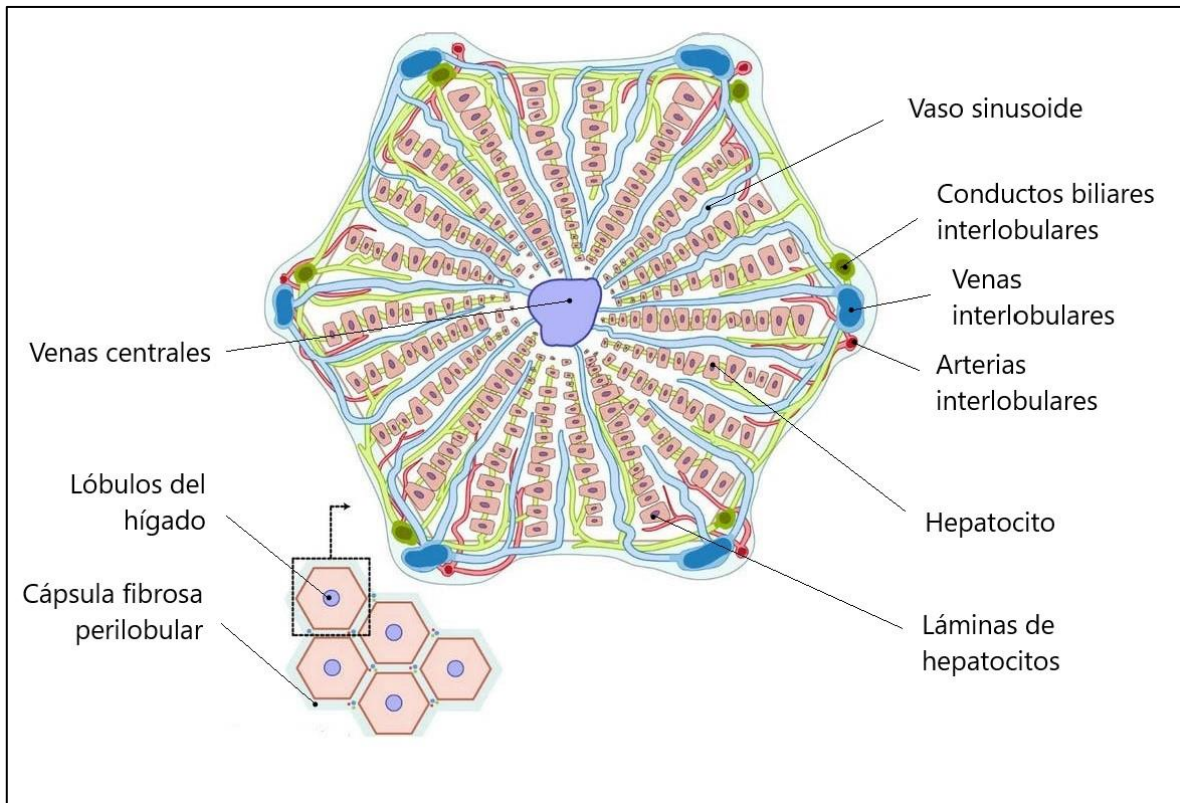


Figura 2: Estructura del lobulillo hepático. Descripción esquemática de la estructura hepática identificando cada una de sus partes (tomado y adaptado de “IMAIOS” 2012)

El hígado, siendo la glándula más grande del cuerpo, se compone por dos estructuras principalmente, el estroma y el parénquima. Es en este último donde se encuentran la mayoría de las células que realizan las funciones características de este órgano, una de ellas es el hepatocito; estas células poliédricas se organizan en placas o cordones y pueden ser uni o binucleadas, con predominio de eucromatina debido a la gran actividad transcripcional que presentan, además su citoplasma es abundante con granos acidófilos y basófilos. Algunas de sus funciones son el almacenamiento de glucógeno (observada como inclusiones de glucógeno dentro del citoplasma gracias a la tinción de PAS), la síntesis de lípidos y lipoproteínas, desintoxicación (posee enzimas en el Retículo Endoplasmático Liso (REL) para metabolizar compuestos tóxicos y fármacos haciéndolos hidrosolubles para ser eliminados por el riñón), síntesis de proteínas plasmáticas (proteínas sintetizadas por la vía

RE Rugoso y Aparato de Golgi), síntesis de bilis (produce ácidos biliares primarios a partir de colesterol), síntesis de hormonas (trombopoyetina, eritropoyetina, somatomedinas), oxidación de ácidos grasos y la transaminación y desaminación de aminoácidos (31).

Dentro del estroma hepático, podemos encontrar a las células endoteliales del sinusoides. Los sinusoides hepáticos son vasos porosos un poco más estrechos que las células sanguíneas, forman una red capilar que facilita el intercambio de sustratos entre la sangre y el propio hígado. Esta vascularización proporciona una extensa superficie endotelial para realizar las interacciones necesarias con las células inmunitarias circulantes, además, están conectados con la triada portal aferente y las vénulas hepáticas centrales. Es en esta superficie endotelial donde encontramos las células endoteliales sinusoidales hepáticas, altamente especializadas e histológicamente delgadas, caracterizándose por poseer fenestraciones (poros de 50-150nm de diámetro) que se agrupan en placas de tamiz hepático. Sus principales funciones son la eliminación de macro y micromoléculas de la sangre a través de la endocitosis, esto lo realiza gracias a las familias de receptores endocitóticos (estabilina-1, estabilina-2, eliminador receptores, receptor de manosa y FcγRIIb2) además de tener un rol inmunológico expresando antígenos importantes para la interacción con leucocitos y linfocitos (CD40, CD54, CD80, CD86, MHC de clase I y II, ICAM-1, PECAM, E-selectina, P-selectina, L-SIGN y FcγRIIb2) (32).

Otra célula estromal de importancia en la fisiología hepática es la célula estrellada hepática, que, en su conjunto, comprenden un tercio de las células no parenquimatosas, ubicadas en el espacio subendotelial, entre la superficie basolateral de los hepatocitos y las células endoteliales sinusoidales, siendo una ubicación privilegiada para facilitar el transporte intercelular de mediadores solubles y citoquinas (33). Su principal característica son las extensiones citoplasmáticas dendríticas de estas células, que generan contacto con los hepatocitos y las células endoteliales gracias a sus 3 superficies celulares: interna (se adhiere

a la superficie basal de las células sinusoides), externa (posee microproyecciones que hacen contacto con hepatocitos, detectando señales quimiotácticas que se transmiten para generar contracción y así regular el flujo sanguíneo) y lateral (34).

4.3.1.- Patologías hepáticas

4.3.1.1.- Enfermedad hepática inducida por drogas

El hígado y toda su estructura son muy susceptibles a múltiples patologías que afectan a todos los sistemas del cuerpo. Estas patologías pueden ser causadas por drogas o toxinas, por infecciones, inflamación o respuesta inmune, trastornos metabólicos o por neoplasias.

Como se dijo anteriormente, dentro de las muchas funciones del hígado, una de ellas es la de metabolizar sustancias liposolubles que no pueden ser excretadas directamente por los riñones, por lo que, los casos de daño hepático se ven potenciados con la administración de medicamentos y las sustancias químicas ambientales que nos rodean. Se conoce que por lo menos 600 sustancias, entre químicas y agentes medicinales, son capaces de causar daño hepático, sin embargo, la generación o no de una hepatopatía dependerá de varios factores: predisposición genética, edad del paciente, presencia de enfermedades hepáticas subyacentes, la dieta de la persona, consumo de alcohol e interacción con múltiples drogas (35).

En circunstancias fisiológicas normales, los hepatocitos absorben fármacos de forma pasiva o a través de proteínas de transporte que se encuentran en su membrana plasmática basolateral, estos elementos serán metabolizados mediante reacciones enzimáticas y eliminados hacia la bilis o hacia la circulación sanguínea para ser expulsados en la orina (36).

Por lo general, la *enfermedad hepática inducida por drogas* (EHID) se puede clasificar en tres categorías: directa, donde el agente causal es conocido por ser tóxico para el hígado, generando una lesión común dependiente de la dosis administrada intencional o accidentalmente y que tiene un periodo de latencia corto (1-5 días posteriores), la segunda categoría se denomina idiosincrásica, la cual es causada por agentes que causan poca o nula toxicidad hepática, por lo que la lesión se presentará en casos raros (entre 1 de cada 2000 personas a 1 de cada 100.000 personas expuestas), por lo que la lesión es impredecible y no depende de la dosis aplicada, la última categoría es la indirecta, causada por la acción de fármacos o drogas sobre una lesión preexistente, esta categoría es nueva y fue creada en los últimos años (37).

No se han demostrado grandes diferencias en la prevalencia de la EHID a lo largo del tiempo, sin embargo, los casos han aumentado a causa del consumo de productos herbales y suplementos dietéticos. En el año 2011, se creó una Red Latinoamericana que caracterizó 330 casos de esta patología, describiendo que el 60% de las lesiones se produjeron por clavulanato de amoxicilina, seguido por la nitrofurantoína y acetato de ciproterona (36).

El diagnóstico de este tipo de lesiones se complica al tener signos y síntomas variables según gravedad, agente causal y el estado del paciente, adicional a esto, no existen pruebas de laboratorio específicas y el patrón histológico dependerá del fármaco, es por esto que es

de suma importancia lograr identificar, lo más pronto posible, el agente que causó o está causando la lesión; existe una escala conocida como CIOMS, que se creó alrededor del año 1980, la cual demuestra ser capaz de identificar correctamente las lesiones hepáticas, sin embargo, no es muy usada por los médicos al ser engorrosa y no estar adaptada a la mayoría de las prácticas clínicas (38).

4.3.1.2.- Enfermedad hepática inducida por alcohol

La hepatitis alcohólica (EHIA) corresponde a la inflamación del hígado a causa de la ingesta de alcohol, esto ligado a personas que beben en abundancia durante varios años, es decir, pacientes alcohólicos. Actualmente, es una enfermedad que causa una importante morbilidad y mortalidad alrededor de todo el mundo. Los factores de riesgo que contribuyen en esta patología están, primeramente, el alto consumo de alcohol a lo largo de la vida, el tipo de bebida utilizada, el patrón de consumo, la preexistencia de algún tipo de infección viral y factores genéticos (sexo femenino y etnia, hispanos y afroamericanos). Es debido a esta gran cantidad de variables que influyen en la formación de esta patología, que el diagnóstico se hace por exclusión, considerando la sospecha clínica, presentación, resultados de laboratorio, imágenes y biopsia (39) (40).

El daño hepático se deriva de la ingesta de alcohol y sus metabolitos, generando colestasis y el reclutamiento de células de Küpffer, macrófagos y neutrófilos, activadas por señales de peligro proinflamatorias. Esta condición, sostenida en el tiempo, desencadena vías antiinflamatorias ineficaces, dando como resultado, la activación de células estrelladas y miofibroblastos del hígado, los que conducen a la formación de fibrosis y cirrosis alcohólica (39).

En condiciones normales, las pequeñas moléculas de etanol son capaces de difundir a través de las membranas celulares para ser metabolizadas, esta absorción dependerá de diversos factores (sexo, edad, etnia y peso corporal). El etanol es biotransformado por oxidación a acetaldehído utilizando NAD^+ (Nicotinamida adenina dinucleótido en su forma oxidada) y la enzima alcohol deshidrogenasa. Este proceso genera ROS, peróxido de hidrógeno y anión superóxido, los cuales se unen a átomos de etanol o hierro formando radical hidroxilo, óxido ferroso, o radical hidroxietilo, los cuales generan peroxidación lipídica de las membranas celulares (41).

En cuanto a la epidemiología, se ha demostrado que, en general, el consumo de 30-60g/día de alcohol aumenta el riesgo de producir enfermedad hepática inducida por alcohol (mujeres: ingesta diaria de 20-40g/día de alcohol – hombres: 60-80g/día de alcohol), sin embargo, solo el 10% de los pacientes que declaran un consumo excesivo y prolongado de alcohol desarrollan cirrosis. Las tasas más altas de esta patología están en Europa y el Reino Unido, mientras que las tasa más bajas las encontramos en países musulmanes (39).

4.3.1.3.- Enfermedad hepática no alcohólica

La enfermedad hepática no alcohólica (EHNA) consiste en la acumulación de grasa en el hígado, lo cual no es causada por un excesivo consumo de alcohol; la EHNA se produce al aumentar la ingesta o síntesis de ácidos grasos libres, reducirse la β -oxidación de los ácidos grasos y se reduce la disponibilidad de lipoproteínas, esto conducirá al almacenamiento de grasa dentro de los hepatocitos. Los principales factores de riesgo son la obesidad, vejez, falta de ejercicio, diabetes tipo 2 y la resistencia a la insulina, esta última juega un papel importante en el desarrollo de la enfermedad relacionado al síndrome metabólico, además de

esto, se ha demostrado que pueden influir factores genéticos (42). El conjunto de los factores de riesgo antes mencionados son parte de la teoría más aceptada acerca de la fisiopatología de EHNA; una acumulación excesiva de grasa en los hepatocitos surge por la deficiente regulación de glucosa en sangre, esto pasa cuando las células musculares, grasas y hepáticas no responden a los efectos de la insulina, llevando a un aumento del proceso de lipogénesis “*de novo*” en el hígado (convertir carbohidratos en lípidos para almacenamiento) y, por lo tanto, un aumento de ácidos grasos, los que se acumulará en forma de triglicéridos. Finalmente, esto causa lipotoxicidad por ácidos grasos y colesterol libres, lo que pudiese generar disfunción mitocondrial. Últimamente se ha observado que la resistencia a la insulina contribuye a la disfunción del tejido adiposo, conduciendo a un aumento en la producción y secreción de adipocinas y citoquinas inflamatorias (43).

La EHNA se ha dividido en dos subtipos según su histología y potencial de progresión: 1) no NASH (del inglés *no-alcoholic steatohepatitis*, estatohepatitis no alcohólica), para pacientes con esteatosis simple, con nula o lenta progresión de la lesión y menos daño del punto de vista histológico, y 2) NASH, lesión hepática similar a la enfermedad hepática inducida por alcohol, cuya lesión y gravedad progresan rápidamente (44).

En cuanto al diagnóstico, la prueba más rápida, aunque con escasa sensibilidad y especificidad, es la determinación de los niveles séricos de ALT y AST (alanina aminotransferasa y aspartato aminotransferasa respectivamente), los que ayudaría a prevenir la EHNA en pacientes con síndrome metabólico o diabetes y a controlar o vigilar la progresión de la mayoría de los pacientes con esta patología. Se han desarrollado varios sistemas de puntuación para ayudar a detectar la EHNA, sin embargo no se ha logrado llegar a un consenso por su poca especificidad y sensibilidad, lo mismo ocurre con la utilización de biomarcadores (45). Y, en cuanto a la prevalencia, a nivel mundial el EHNA

fluctúa entre un 2 a un 3%, del cual, un 20-30% lo aportan los países occidentales y el 5-18% los países asiáticos, junto con esto, se observó una mayor frecuencia según etnia (45% en hispanos, 33% en blancos y 24% en negros) y sexo (42% en hombre y 24% en mujeres) (46). Estudios realizados en Estados Unidos donde se utilizaron biopsias de hígados destinados a trasplantes, revelan que el 20% de ellos no llegaron a destino por presentar más de un 30% de esteatosis, mientras que en Corea, este porcentaje sube a un 51% (44).

4.3.1.4.- Hepatocarcinoma

El carcinoma hepatocelular (HC) es una neoplasia maligna, cuya incidencia está aumentando y se relaciona con una enfermedad hepática avanzada, apareciendo con frecuencia en pacientes con cirrosis hepática y es parte de la segunda causa de muerte en Chile durante el año 2020 por tumores o neoplasias (47).

Para que se produzca un carcinoma hepatocelular, se requiere de un conjunto de condiciones y lesiones previas: daño inflamatorio sostenido, necrosis, depósito fibrótico, regeneración de hepatocitos, cirrosis (lo que deteriora progresivamente la función hepática) y alguna alteración genómica somática en los genes, junto a modificaciones epigenéticas (48). HC se presenta en pacientes con enfermedades hepáticas avanzadas, principalmente en pacientes con cirrosis y grupos específicos de pacientes con hepatitis B crónica (49).

Los principales factores de riesgo para generar HC es la presentación de cirrosis, hepatitis B, exposición a aflatoxinas (producidas por hongos del género *Aspergillus*), la

deficiencia de alfa-1 anti-tripsina, la enfermedad de Wilson y la enfermedad hepática por almacenamiento de glucógeno. En los últimos años, se ha visto una mayor prevalencia de casos de HC asociados a pacientes con diabetes mellitus y obesidad, sin embargo, aún no se describen con precisión los mecanismos y factores involucrados (50).

A nivel mundial, la gran mayoría de los casos de HC lo presentan países occidentales (83% de prevalencia en el año 2012), siendo China el país con más del 50% de estos casos. Asia oriental, África subsahariana, África occidental, el sudeste asiático y Melanesia son las principales regiones con mayor incidencia y mortalidad, esto debido a que el virus de la hepatitis B es endémico en estas zonas, patología considerada uno de los factores de riesgo del HC; comparado con estas zonas, Sudamérica es considerado parte de las regiones con menos incidencia y mortalidad por HC, con menos de 5 casos por cada 100.000 personas, que en la mayoría son del sexo masculino, esto debido a que, el consumo de alcohol y la adquisición del virus de la hepatitis B o C es más frecuente en hombres que en mujeres (51, 52).

4.3.1.5.- Enfermedad hepática crónica

Esta patología se describe o caracteriza por producir un daño continuo y progresivo en el tejido hepático, experimentando el deterioro de la función hepática, fibrosis, cirrosis, descompensación hepática crónica, progresando finalmente a una etapa terminal o muerte; este proceso puede verse afectado o acelerado en pacientes con alguna enfermedad de base, que comprometa su función inmunológica, como por ejemplo, la infección por el virus de inmunodeficiencia hepática (53).

A nivel mundial, la Enfermedad hepática crónica (EHC) perjudica a aproximadamente 30 millones de personas, número que aumenta año a año debido al aumento de los factores de riesgo: obesidad, altos niveles de triglicéridos en sangre, consumo de medicamentos, hierbas, suplementos, exposición a productos químicos o toxinas sin precauciones de seguridad, patologías de base como la diabetes, hepatitis viral, autoinmune, hígado graso no alcohólico, EHIA, esteatohepatitis no alcohólica y enfermedades genéticas como la hemocromatosis y deficiencia de alfa-1 antitripsina (54). Es parte de las primeras 10 causas de muerte en todo el mundo, pudiendo afectar a pacientes de todas las edades, géneros, razas y etnias, sin embargo, se describe que las personas que pertenecen a estratos socioeconómicos más bajos se ven mayormente afectados, sin embargo, a lo largo de los años, se ha logrado ir disminuyendo las tasas de mortalidad a medida en que avanza la tecnología aplicada en los tratamientos (55). El tratamiento de esta patología consiste en el manejo de las complicaciones por el avance de la enfermedad y, en la última instancia, la realización de un trasplante de hígado (54).

4.3.1.6.- Fibrosis hepática

La fibrosis hepática (FH) corresponde al desarrollo excesivo de tejido conectivo fibroso en el órgano como consecuencia de una lesión crónica, la cual puede deberse a más de un factor (toxinas, hepatitis, esteatohepatitis, trastornos autoinmunes, entre otros), estos provocarán inflamación crónica y finalmente, la cicatrización anormal del daño. Este proceso, denominado fibrogénesis, inicia con la activación y proliferación de miofibroblastos, cuyo rol es la formación y liberación de matriz extracelular en el hígado lesionado, este tipo celular puede ser activado por las células estrelladas hepáticas activadas, fibroblastos portales endógenos, fibrocitos, células derivadas de la médula ósea y los derivados de células del parénquima hepático, esto dependerá de la etiología de la fibrosis (56).

La técnica “*gold standar*” (del inglés, estándar de oro, es decir, la mejor técnica para el procedimiento) para determinar y evaluar la FH es la biopsia hepática, sin embargo, no es muy utilizada por ser invasiva y causar complicaciones que agravan la condición del paciente; es por esto que se han desarrollado herramientas para la evaluación de la FH de forma no invasiva (57). Y en cuanto a la epidemiología de la FH en Chile, hasta el 2017 la tasa de mortalidad por cirrosis hepática y otras enfermedades crónicas del hígado es de 23,61%; de este número, la gran mayoría corresponde a personas del sexo masculino (58).

4.3.1.7.- Cirrosis hepática

La cirrosis hepática (CH) es la etapa más avanzada de la cicatrización del hígado, ocasionada por una variedad de enfermedades hepáticas, conduce a la inflamación, necrosis y fibrogénesis, este daño es irreversible, por lo que solo se puede evitar que la lesión progrese. La CH se caracteriza histológicamente por una regeneración nodular difusa, rodeada de septos fibrosos, extinción parenquimatosa y el colapso de las estructuras hepáticas, esto distorsiona la arquitectura de la vascularidad hepática, dando lugar a la resistencia al flujo sanguíneo portal, es decir, hipertensión portal. Para llegar a la CH es necesaria la activación de las células estrelladas hepáticas, lo que lleva a iniciar procesos de fibrogénesis, angiogénesis, además de lesiones extendidas a través del parénquima a causa de la oclusión vascular; estos cambios microvasculares hepáticos se acompañan de la remodelación sinusoidal con la liberación de matriz extracelular por parte de las células estrelladas activadas, de formación de derivaciones intrahepáticas, a causa del proceso de angiogénesis y la pérdida de células parenquimatosas y, por último, se acompaña de disfunción endotelial hepática, donde no hay liberación de vasodilatadores como el óxido nítrico, inhibido por la baja actividad de la sintetasa de óxido nítrico endotelial, junto con el aumento de la producción de vasoconstrictores (59).

Para el diagnóstico se utilizan escalas de valoración tomando en cuenta los datos clínicos, de laboratorio y de imagen completos, aunque la biopsia hepática sigue siendo el estándar de referencia, aún con las complicaciones que conlleva. Uno de los métodos no invasivos más utilizados tanto para el diagnóstico de la CH y sus complicaciones, es la ecografía, donde se pueden identificar asperezas, nodularidad hepática y ecogenicidad; tienen una sensibilidad de detección del 57% (60).

La morbilidad y mortalidad por CH va creciendo año a año en los países más desarrollados, siendo la causa número 14 de muerte en adultos a lo largo de todo el mundo. La prevalencia es difícil de calcular, debido a las dificultades para ser diagnosticado en etapas tempranas; algunos estudios en el Reino Unido y Suecia informan una incidencia anual de entre un 15,6 a un 132,6 por cada 100.000 personas (59).

4.4.- Respuesta inmunitaria en la enfermedad hepática crónica

La respuesta inmunitaria del cuerpo humano se divide en inmunidad innata y adaptativa; la primera de ellas corresponde a la primera línea de defensa frente a agentes infecciosos, pudiendo controlarlos antes que logren infectar, mientras que la inmunidad adaptativa entrará en acción cuando la inmunidad innata falle, pudiendo elaborar una respuesta específica para cada agente infeccioso y guardar memoria de este (24). Dentro del contexto de la enfermedad hepática crónica (EHC), la inmunidad innata tendrá acción a través de los neutrófilos, los cuales contribuyen en la degradación del colágeno durante el proceso de resolución de la lesión, esto lo realizan liberando metaloproteinasas degradantes de la matriz; contraria a la acción de estas células, es la que cumplen las células dendríticas del hígado, las cuales cumplen un rol pro-fibrogénico. En cuanto a la respuesta inmunitaria

adaptativa, encontramos que participan los linfocitos Th2, mediados por la IL-4, IL-5 y la IL-13, teniendo funciones pro-fibrogénica durante la EHC, junto con esto, los linfocitos Th1 participan a través del IFN- γ siendo antifibróticas operando sobre las células estrelladas hepáticas senescentes, las cuales son propiciadoras de la fibrosis (61).

4.5.- Respuesta inflamatoria de la enfermedad hepática crónica

El proceso de la inflamación es la reacción que se desencadena para resistir lesiones, reacciones inmunes, daño isquémico o el ataque de agentes extraños a nuestro organismo, con el fin de reparar el tejido lesionado; la capacidad que tenga nuestro cuerpo de resistir este proceso va a depender de la reacción inflamatoria, la respuesta inmune, la reparación tisular que se logre y/o la cicatrización de las heridas. El objetivo final para el cual el cuerpo humano inicia el proceso de inflamación es lograr la dilución, destrucción o neutralización de el o los agentes causantes de daños (35). En el hígado, la inflamación se da para reparar lesiones causadas por las patologías antes mencionadas, además de infecciones (hepatitis viral), anomalías del sistema inmune (hepatitis autoinmunitaria), enfermedades genéticas (hemocromatosis, enfermedad de Wilson), cáncer (cáncer de hígado y tumores), entre otros.

En el contexto del hígado, la inflamación tiende a sostenerse en el tiempo, agravando la clínica del paciente, generando aún más daño y favoreciendo avance de las mismas patologías hepáticas. Este proceso se regula por quimioquinas, las cuales determinan la migración y activación de los hepatocitos, células de Küpffer, células estrelladas hepáticas, células endoteliales y las células inmunes circulantes; las diferentes quimioquinas se encontrarán durante la patogénesis de diferentes enfermedades hepáticas, donde cumplirán más de una función: realizan el reclutamiento de células inmunes, dirigen las células a los

órganos diana, contribuyen en la vigilancia inmunológica y tienen efectos pleiotrópicos sobre algunas células no inmunes (tabla 4) (62).

Tabla 4: Quimioquinas relevantes en la patogenia de las enfermedades hepáticas y sus receptores correspondientes. Fuente: tomado y adaptado de Marra, F y cols (2014)

Quimioquina	Nombre alternativo	Receptor	Célula objetivo	Enfermedad hepática en la que participa
CCL1	I-309, TCA-3	CCR8	Monocito/macrófago	Fibrosis
CCL2	MCP-1	CCR2	Monocito/macrófago, HSC	Inicio de inflamación, fibrosis, EHNA/NASH
CCL3	MIP-1 α	CCR1, CCR5	NK, Th1, linfocito T CD8+	Hepatitis C, B, EHNA/NASH, fibrosis
CCL4	MIP-1 β	CCR1, CCR5	NK, Th1, linfocito T CD8+	Hepatitis C, B, EHNA/NASH, fibrosis
CCL5	RANTES	CCR1, CCR5	NK, Th1, linfocito T CD8+, HSC	Hepatitis C, B, EHNA/NASH, fibrosis
CCL17	TARC	CCR4	Treg	Hepatitis C
CCL19	ELC	CCR7	Linfocito T CD8+, DC	Hepatitis C
CCL20	MIP-3 α	CCR6	Linfocitos T $\gamma\delta$, Th17, HSC	Colestasis, hepatitis C, EHIA, fibrosis

CCL21	SLC	CCR7	Linfocito T CD8+, DC	Hepatitis C, fibrosis
CCL22	MDC	CCR4	Treg	Hepatitis C
CCL25	TECK	CCR9	Monocito/macrófago, HSC	Fibrosis
CXCL1	Gro- α	CXCR2	Neutrófilos, monocitos	Inicio de la inflamación, EHIA
CXCL2	Gro- β	CXCR2	Neutrófilos, monocitos	Inicio de la inflamación, EHIA
CXCL5	ENA-78	CXCR2	Neutrófilos	EHIA, fibrosis
CXCL6	GCP-2	CXCR1, CXCR2	Neutrófilos, monocitos	EHIA
CXCL8	IL-8	CXCR1, CXCR2	Neutrófilos, monocito	Inicio de la inflamación, EHIA, hepatitis B
CXCL9	MIG	CXCR3	NK, Th1, Th17	Hepatitis C, fibrosis
CXCL10	IP-10	CXCR3	NK, Th1, Th17, HSC	Colestasis, hepatitis C, B, fibrosis
CXCL11	I-TAC	CXCR3	NK, Th1, Th17	Hepatitis C, fibrosis
CXCL12	SDF-1	CXCR4, CXCR7	HSC, LSEC, HCC	Fibrosis, regeneración, HC
CXCL13	BCA-1	CXCR5	Linfocitos B	Hepatitis C
CXCL16	SRPSOX	CXCR6	Células NKT	Hepatitis C, fibrosis
CX3CL1	Fractalkine neurotactina	CX3CR1	Monocitos/macrófagos	Hepatitis C, fibrosis

Todas estas funciones se logran al momento en que las quimioquinas se unen a su receptor, expresados por varios subconjuntos de leucocitos, los que pueden portar diferentes grupos de receptores de quimioquinas y alcanzan a ligar numerosas quimioquinas. En el hígado, cualquier tipo de daño provocado, se va a procesar como señales de peligro conocidas como DAMP o PAMP, estas señales se unirán a receptores de las células de Küpffer (TLR) para liberar citoquinas proinflamatorias, quimioquinas y ROS (62). La liberación de estos componentes se lleva a cabo mediante varios mecanismos, los que desencadenarán reacciones inmunes rápida en el hígado, como respuesta al daño o lesión. Como se dijo anteriormente, el daño induce la liberación de señales o mediadores originadas por el cuerpo o derivados de microorganismos (DAMP y PAMP respectivamente), en el caso del hígado, este secreta HMGB1 (del inglés, *High mobility group box 1*, proteína del grupo de alta movilidad B1) e IL-33 principalmente (63): HMGB1 es una señal para el sistema inmunológico liberada por células muertas o agonizantes que actúa como una citoquina proinflamatoria, favoreciendo el reclutamiento de neutrófilos y el desarrollo de múltiples lesiones hepáticas (lesión hepática por isquemia/reperfusión, NASH, EHNA, EHID, fibrosis, HC y EHIA). Una vez que se une a los receptores en las superficies de las células inmune, se activan vías de señalización intracelular regulando su quimiotaxis y producción de citoquinas y si HMGB1 se une a la superficie de las células estrelladas hepáticas, se induce una respuesta fibrogénica. Los receptores a los cuales se puede unir incluyen a RAGE (del inglés *advanced glycosylation end product-specific receptor*, receptor específico del producto final de glicosilación avanzada), receptores TLR 2, TLR4, TLR9, MAC-1, entre otros, los más relevantes en el contexto de la enfermedad hepática son los receptores TLR4 y RAGE (64). Por otro lado, la IL-33 es una citoquina nuclear perteneciente a la familia de las IL-1 que se expresa en células endoteliales, epiteliales, en células similares a fibroblastos y miofibroblastos durante la homeostasis como la inflamación, mientras que su expresión en los hepatocitos se da durante el transcurso de una lesión. Al ser una citoquina ubicada en el núcleo de las células, su liberación hacia el espacio extracelular se va a dar como una señal de alarma tras el daño, donde se unirán a células que posean en su superficie el receptor ST2 o IL-1RL1 (del inglés *Interleukin 1 Receptor Like 1*, receptor de tipo 1 similar a IL-1), estas son las células linfoides innatas del grupo 2, mastocitos, células T reguladoras, eosinófilos, basófilos, células dendríticas, células Th1, Th2, Células T CD8+, células NK, células B,

neutrófilos y macrófagos. Sus principales funciones son las respuestas inmunes reguladores de tipo Th2 y Th1, teniendo actividad pleiotrópicas durante el desarrollo de enfermedades inflamatorias, fibróticas, infecciosas y crónicas (65).

Otro componente importante que contribuye en la patogenia de la inflamación en las enfermedades hepáticas, tanto agudas como crónicas, es la formación del inflamasoma; complejo multiproteico que tiene la capacidad de detectar todas las señales de peligro emitidas por nuestro organismo o por microorganismos patógenos (62). Este complejo realiza sus funciones una vez que se ha ensamblado a través de receptores similares a NOD o NLR (del inglés, *nucleotide-binding oligomerization domain-like receptor*, receptor similar al dominio de oligomerización de unión a nucleótidos), siendo NLRP3 (del inglés, *NLR family pyrin domain containing 3*, NLR que contiene 3 dominios de pirina) el receptor más caracterizado de la familia. El proceso de activación de un inflamasoma comienza con la señalización, dada por señales pasivas liberadas durante la muerte celular (ATP, histonas, ácido úrico, ácido palmítico, cristales de colesterol y ROS) y por los agentes microbianos (flagelina, toxina del ántrax, dipéptido de muramilo) (63), y la formación de un primer complejo entre NLR y pro-casp-1, la molécula precursora de la enzima cascapa-1, de esta forma, el inflamasoma puede oligomerizar y activar la caspasa-1, la que iniciará la formación de citoquinas proinflamatorias (IL-1 β e IL-18) y quimioquinas responsables del reclutamiento de células derivadas de la médula ósea en el hígado dañado (CCL2) (66).

Cuando el inflamasoma llega a la hiperactividad, genera piroptosis de los hepatocitos, es decir, se activa la caspasa-1 y caspasa-4, induciendo la muerte celular por hinchazón celular, hiperpermeabilidad de la membrana plasmática, lisis celular rápida y, finalmente, la liberación del contenido citoplasmático, además, este tipo de muerte celular se ha caracterizado como proinflamatoria, ya que se libera IL-1 β una vez que la caspasa-1 haya escindido la región N-terminal de la pro-IL-1 β ; todo este proceso lleva a que el hígado se vea

aún más afectado, a través del desarrollo de fibrosis y la exacerbación de la inflamación. Se ha descrito que este podría ser el mecanismo por el cual las células de K pffer se vean afectadas, específicamente, sufren de muerte celular ante la liberación de IL-1  y HMGB1 (63, 67).

La IL-1  es una citoquina proinflamatoria perteneciente a la familia de citoquinas IL-1 e implicada en más de una enfermedad; su maduración no se da por la vía clásica de secreción del retículo endoplasmático y el aparato de Golgi, sino que, como se dijo anteriormente, requiere de la acción de la enzima caspasa-1 para poder ser liberada en su forma madura a través de mecanismos como el desprendimiento de microp rticulas o a través de membranas hiperpermeables pirot ticas (67). Su actividad inflamatoria la logran una vez que se unen a su receptor llamado IL-1R (del inglés, *interleukin-1 receptor*, receptor de interleuquina 1), el cual está codificado por el cromosoma 2 en la especie humana, poseen tres dominios extracelulares y dominios intracelulares con cierta homología con los receptores TLR, este tipo de receptores se heterodimerizan una vez que la citoquina se les une. Una vez que se ha formado el complejo citoquina-receptor, comienzan las señalizaciones intracelulares, donde participa MyD88 (del inglés, *myeloid differentiation factor 88*, factor de diferenciación mieloides 88), IRAK (del inglés, *IL-1R-associated kinase*, quinasa asociada a IL-1R) y TRAF6 (del inglés, *TNF receptor-associated factor 6*, factor 6 asociado al receptor de TNF), el conjunto de estas señales va a activar a NF- B, el cual comenzará la expresión de genes proinflamatorios (ver figura 3) (68).

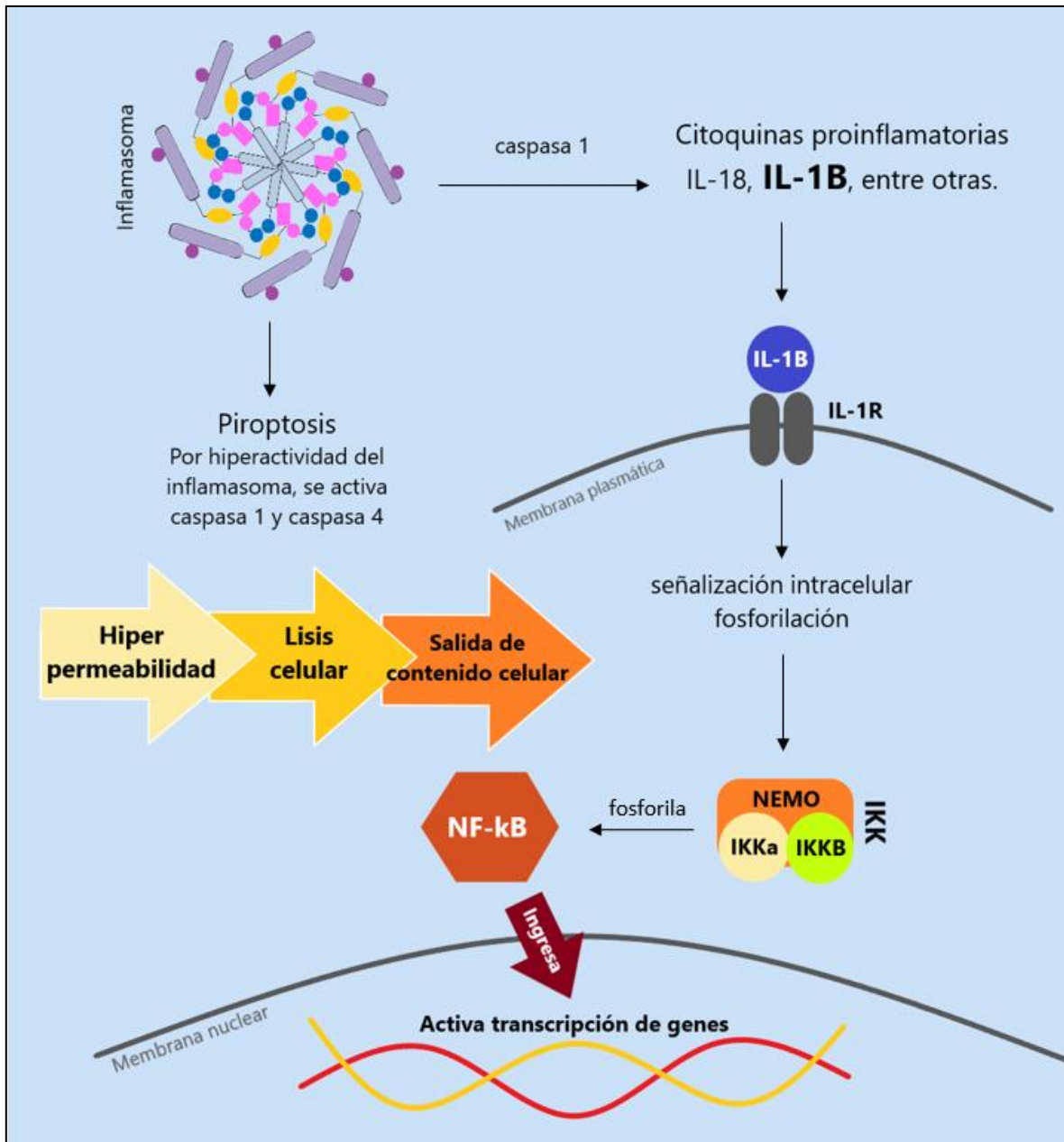


Figura 3: Resumen de inflammasoma, piroptosis y señalización por NF- κ B. Una vez que se ensambla el inflammasoma, este puede exacerbar su actividad provocando la piroptosis, provocando muerte celular por hiperpermeabilidad, lisis celular y una posterior salida del contenido plasmático. La activación de la caspasa 1 genera la liberación de citoquinas proinflamatorias como la IL-18, IL-1 β , entre otras; esta última, al unirse a su receptor IL-1R presente en la membrana celular de macrófagos, genera una serie de señalizaciones intracelulares de fosforilación, las que activan a IKK que, a su vez, fosforila y activa a NF-

κ B. Por último, este ingresa al núcleo para activar la transcripción de genes inflamatorios (Elaboración propia, Sáez L. 2021).

La familia de NF- κ B está dividida en 5 subfamilias relacionadas con factores de transcripción: NF- κ B1 (p105 y p50), NF- κ B2 (p100 y p52), RelA (p65), c-Rel y RelB, los que comparten una región de unión y dimerización de ADN N-terminal denominado RHD (del inglés, *Rel homology domain*, dominio de homología Rel), esto les permite formar homodímeros o heterodímeros, ingresar al núcleo, unirse a sitios de ADN (denominados sitios κ B) y activar o reprimir la transcripción de genes específicos; los factores de transcripción RelB, c-Rel y p65 poseen dominios de activación C-terminales que les permiten reclutar coactivadores para la expresión de los genes dianas, mientras que los factores p50 y p52 carecen de estos dominios, por lo que deben formar heterodímeros con p65, c-Rel, RelB o con otras proteínas que posean estos dominios de activación (69, 70). Cuando se presentan productos microbianos y citoquinas proinflamatorias (IL-1, TNF- α , entre otras), se activan complejos que contienen proteínas RelA o cRel, las que requieren de IKK (del inglés, *inhibitor of nuclear factor κ B kinase*, quinasa inhibidor del factor nuclear κ B) para la transducción de señales. IKK está compuesta por las subunidades IKK α , IKK β , ayudado de una subunidad reguladora IKK γ , más conocido como NEMO (del inglés, *NF- κ B essential modulator*, modulador esencial de NF- κ B) (71). Cuando IKK es fosforilada, esta fosforila la subunidad I κ B de NF- κ B para que sea degradada por el proteosoma y así NF- κ B pueda liberarse del complejo inhibidor para entrar al núcleo, unirse a las secuencias diana y activar la transcripción de genes (72). Esta transducción de señales se puede dar a través de dos vías distintas: la primera de ellas se le denomina vía canónica, la que activa rápida, pero de forma transitoria a NF- κ B, esta cascada comienza una vez que se activa TAK1 (del inglés, *Transformins Growth Factor Beta-activated kinase 1*, quinasa activante del factor de crecimiento transformante beta), quien estimula a IKK, específicamente a la subunidad IKK β , encargado de regular la actividad de esta vía canónica, IKK se encarga de la fosforilación de I κ B α y a p105 (precursor de NF- κ B1), los que se someterán a procesos de ubiquitinación y degradación proteosomal para liberar y translocar los miembros canónicos

de NF- κ B derivados del procesamiento de p105, es decir, a NF- κ B1 p50-REL. Y la segunda vía, denominada no canónica, genera una acción lenta y persistente, la que se basa en el procesamiento del factor transcripcional p100, del cual deriva la generación de NF- κ B2 p52 RelB; esto comienza con NIK (del inglés, *NF- κ B-inducing kinase*, quinasa inductora de NF- κ B), quien fosforila a p100 al activar a IKK α específicamente (figura 4) (73).

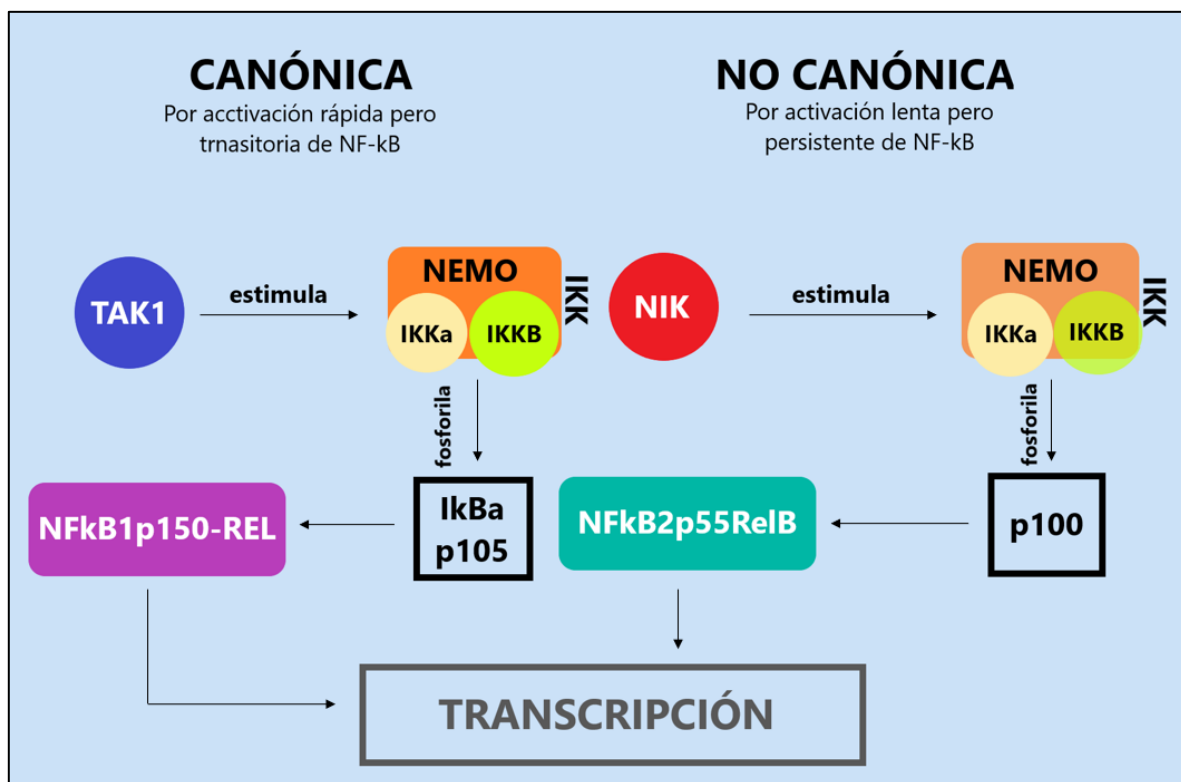


Figura 4: Vías de señalización de NF- κ B. La señalización por NF- κ B puede tomar la vía canónica o la no canónica: 1) la vía canónica está dada por una activación rápida pero transitoria de NF- κ B y comienza con TAK1 estimulando a IKK, el cual fosforila a I κ B α y a p105 para producir el gen NF κ B1p105-REL y con eso su transcripción. 2) la vía no canónica, está dada por una activación lenta pero persistente de NF- κ B, iniciando con NIK estimulando a IKK (específicamente a IKK α), quien fosforila y procesa a p100, generando el gen NF κ B2p55RelB y su transcripción (Elaboración propia, Sáez L. 2021)

Respecto a las respuestas de los distintos tipos celulares inmunitarias hepáticas, encontramos que la infiltración de neutrófilos se va a dar en todos los tipos de enfermedad hepática, pero estos no van a estar contribuyendo en la inflamación propiamente tal, sino que contribuyen en la progresión de las patologías hepáticas al secretar ROS y citoquinas proinflamatorias (IL-1 β y TNF), a la vez que participan en la activación de las células de Küpffer, las células endoteliales y el reclutamiento de monocitos; en cuanto a los monocitos y macrófagos, participan en el mantenimiento de la homeostasis, en la inflamación aguda, crónica y en la regresión de la enfermedad hepática, los macrófagos, gracias a su alta plasticidad, adaptan su respuesta a su entorno que surge de las células parenquimatosas y leucocitos presentes en el órgano; las células dendríticas también participan en el proceso de inflamación, formando estructuras linfoides periportales por donde transitan los linfocitos T que se infiltran en el hígado, además, se ha descrito que estas células pueden presentar funciones inmunorreguladoras; respecto a las células NK hepáticas, estas se activan mediante la acción de IL-2 e IL-18 para producir INF γ y citotoxicidad dependiente de perforina, esto conduce a ataques citolíticos contra células marcadas por contacto célula-célula o por secreción de perforina. Por último, las células T hepáticas presentan heterogeneidad en cuanto a sus perfiles inmunológicos para realizar funciones proinflamatorias y antiinflamatorias en el contexto de la enfermedad hepática (62, 63, 66).

Otro elemento que participa en el proceso de inflamación hepática es el receptor tipo Toll; estos receptores son capaces de reconocer patrones PAMP (peptidoglicanos bacterianos, ARN bicatenario y ADN bicatenario exonuclear), desencadenando respuestas inmunes solo ante patógenos amenazantes, pudiendo diferenciar a la microbiota intestinal comensal (63). Las principales características de estos receptores es la presencia de un dominio de repetición rico en leucina en la porción extracelular, además de un dominio TIR (del inglés, *Toll/interleukin 1 receptor*, receptor de Toll/interleucina 1) en su porción intracelular (figura 5)(74).

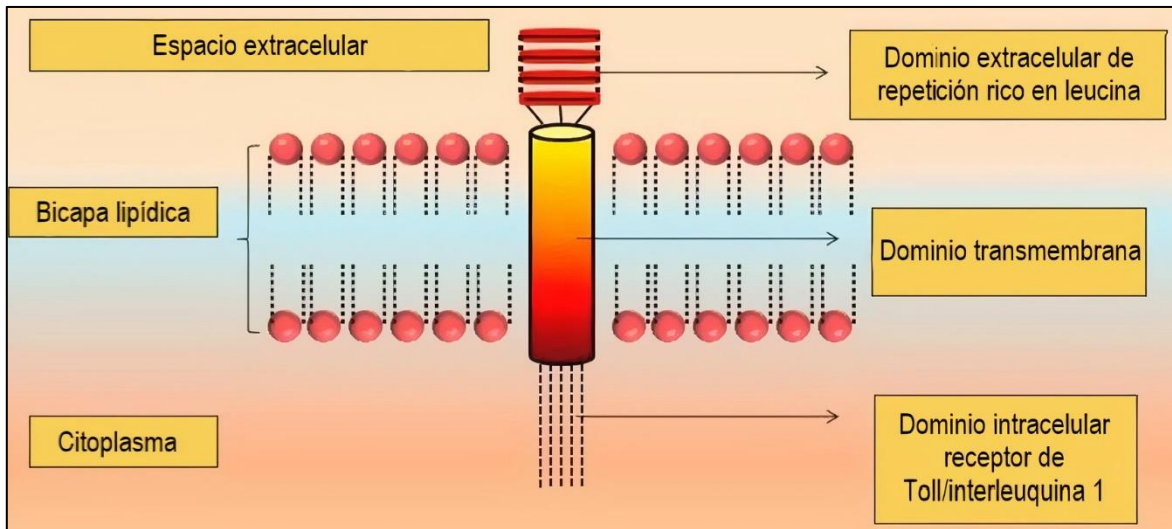


Figura 5: Representación ilustrada de los dominios del Receptor Tipo Toll integrados en la membrana celular (tomado y adaptado de Kesar V. 2014).

La ubicación, la variabilidad del dominio extracelular y los ligandos que utilicen los 10 tipos de TLR van a determinar el reconocimiento del peligro extracelular o intracelular: los tipos TLR1, TLR2, TLR4, TLR5, TLR6 y TLR11 los podemos encontrar en las superficies de las células para reconocer componentes de la membrana microbiana (lípidos, lipoproteínas y proteínas), mientras que los tipos TLR3, TLR7, TLR8 y TLR9 se ubican en vesículas intracelulares para reconocer ácidos nucleicos microbianos (tabla 5)(74).

Tabla 5: Localización y ligandos de TLR (tomado y adaptado de Kesar V. 2014)

Tipo de receptor	Localización	Ligando
TLR 1/2	Membrana plasmática	Bacterias grampositivas, péptido triacilo, porinas de <i>Neisseria</i> , <i>B. burgdorferi</i> ospA
TLR 2/6	Membrana plasmática	Lipopéptidos de diacilo
TLR 3	Intracelular	ARN bicatenario
TLR 4	Membrana plasmática	LPS de bacterias gramnegativas, DAMP
TLR 5	Membrana plasmática	Flagelina monomérica
TLR 7	Intracelular	ARN monocatenario, imidazoquinolinas
TLR 8	Intracelular	ssRNA, imidazoquinolinas
TLR 9	Intracelular	CpG no metilados en el ADN bacteriano
TLR 10	Membrana plasmática	Lipopéptidos triacilados

En el hígado, este tipo de receptores están presentes en los macrófagos residentes, es decir, las células de Küpffer; el tipo TLR4 responde a señales de naturaleza lipídica, pudiendo ser estimulado por LPS para producir TNF α , IL-1 β , IL-10, IL-12, IL-18 y varias quimioquinas, además de poder inactivar el LPS por desacetilación; además de expresar TLR4, las células de Küpffer también expresan TLR2, TLR3 y TLR9. Los receptores TLR no solo están presentes en estos macrófagos residentes, sino que también son expresados en los hepatocitos (TLR2 y TLR4), en las células estrelladas hepáticas (TLR4), células epiteliales biliares (TLR2, TLR3, TLR4 y TLR5), células endoteliales sinusoidales (TLR3, TLR4 y TLR9) y células dendríticas hepáticas (TLR2 y TLR4) (75).

La función de TLR4, mediadas por LPS en el hígado, es fundamental para crear reacciones inmunes, sin embargo, estos receptores han adquirido tolerancia a las bajas exposiciones de LPS, esto debido a la influencia de la microbiota comensal presente en todo nuestro organismo, es por lo que, solo niveles altos de LPS son capaces de activar las células

de Küpffer, células estrelladas hepáticas y hepatocitos; otras de las funciones de TLR4 es participar en la fibrosis hepática por daño crónico, aumentando la señalización de TGF- β y la activación de miofibroblastos; además, liberan señales de peligro HMGB1 y ayudan en el mecanismo de propagación de las patologías hepáticas (63).

4.6.- Células Küpffer en el contexto de la enfermedad hepática crónica

Se ha descrito que las células Küpffer pueden participar o contribuir en la patogénesis de varias lesiones hepáticas, como lo es la enfermedad hepática alcohólica, hígado graso no alcohólico, insuficiencia hepática por intoxicación, lesiones por isquemia-reperfusión, fibrosis hepática, hipertensión portal, entre otros; se señala además que el LPS podría tener el rol de cofactor en la patogénesis, exacerbando estas patologías (76).

Una vez que en el tejido hepático comienza el daño, los macrófagos son primeramente polarizados al fenotipo proinflamatorio M1 para ayudar al hospedero contra los patógenos. Posteriormente, los macrófagos se polarizan para generar respuesta antiinflamatoria, es decir, fenotipo M2 y reparación del tejido dañado. Una vez que los tejidos dañados empiezan a cicatrizar, comienza la resolución de la inflamación, donde participará este macrófago expresando el fenotipo macrofágico M2 y, fundamentalmente, fagocitando desechos, células muertas o dañadas, neutrófilos apoptóticos, entre otros, junto con la producción de importantes mediadores lipídicos además de citoquinas antiinflamatorias (77). Las enfermedades fibróticas asociadas a envejecimiento, lesiones o inflamación crónica se caracterizan por la acumulación y/o depósito de componentes proteicos en la matriz extracelular, lo que causa la destrucción y pérdida de función del órgano. En este contexto, las células de Küpffer activadas están encargadas de la regulación del cambio de la matriz

extracelular inflamatoria y, con esto, la recuperación de la fibrosis, fagocitando miofibroblastos apoptóticos, amortiguando la respuesta inmune que contribuye a la lesión tisular y liberando altos niveles de citoquinas, quimiocinas, ROS y factores de crecimiento: IFN- γ e IL-12 son las principales citoquinas antifibróticas conocidas. La fibrosis producida por los macrófagos está dada por las citoquinas sintetizadas por las mismas, tales como IL-4, IL-6, IL-10, IL-13, TGF- β , entre otros (18). Durante los procesos de inflamación, después de incidentes de lesión o daño, los macrófagos hepáticos comienzan a liberar rápidamente citoquinas y quimiocinas proinflamatorias (IL-1 β , TNF, CCL2 y CCL5) para activar vías de señalización y reclutar células inmunes circulantes (78).

Diversos estudios han sugerido que las células de Küpffer están presentes en cada una de las etapas de la EHC cumpliendo roles importantes, desde la inflamación, pasando por fibrosis, cirrosis y HC, además, se describe que el número total de estos macrófagos aumenta desde las etapas iniciales de la acumulación de grasa en el hígado y, junto con ello, también aumenta la expresión de genes inflamatorios en los macrófagos de pacientes con cirrosis asociada al consumo excesivo de alcohol, pudiendo expresar receptores y citoquinas asociados a fenotipos macrofágicos de tipo M1 como también del fenotipo M2, es decir, durante el proceso de inflamación a consecuencia del daño hepático producido alcohol, coexisten en el microambiente de macrófagos fenotípicamente distintos (79). Se ha descrito que, una vez que el daño crónico provoca la infiltración de monocitos y macrófagos circulantes al hígado, estos pueden expresar distintos niveles de Ly-6C (del inglés, *lymphocyte antigen 6*, antígeno de linfocitos 6). La expresión de Ly-6C^{alto} implica la manifestación de un fenotipo proinflamatorio, lo que favorece el daño celular, mientras que la expresión de Ly-6C^{bajo} exhibe un fenotipo antiinflamatorio o protector ante la lesión (80). Ahora, dentro del escenario de una FH, las células de Küpffer son capaces de producir citoquinas profibróticas, lo que lleva a la activación de células estrelladas hepáticas y, a su vez, tienen la capacidad de expresar metaloproteasas (MMP-9, MMP-12 y MMP-13. Del inglés, *matrix metalloproteinase*, metaloproteasa de matriz), por lo que pueden degradar la matriz extracelular, favoreciendo la resolución de la fibrosis. Un estudio realizado en el 2005

con modelos murinos, concluyó en que si se realiza una deleción de macrófagos durante la primera etapa de una FH, la que consta en la formación de matriz extracelular, se puede observar una mejora o disminución de fibrosis producida, sin embargo, si se realiza este mismo proceso de deleción de macrófagos durante la etapa de resolución del daño, se presenta una exacerbación de la fibrosis (77). Esta doble función de las células se explica por la formación y reclutamiento de diferentes subconjuntos de macrófagos en el hígado, esto sumado a que, estudios recientes indican que es posible un cambio de fenotipo no solo en las células de Küpffer, sino que también en los macrófagos y monocitos reclutados desde circulación; este cambio, desde un fenotipo Ly-6C^{alto} a uno Ly-6C^{bajo}, se observó luego de detectar una reducción en la muerte de hepatocitos, lo que indicaría que el cambio de fenotipo se produjo luego de la fagocitosis de restos celulares (81). Por último, durante el curso de un HC, las funciones de los macrófagos consisten en participar en el crecimiento tumoral, en la angiogénesis y favorecer la formación de metástasis gracias a la síntesis de factores de crecimiento, citoquinas, quimioquinas y varios otros factores solubles; durante la primera etapa de formación del tumor primario, las células de Küpffer se activan en su fenotipo macrofágico proinflamatorio, específicamente, la expresión de TREM-1 (del inglés, *triggering receptor expressed on myeloid cells 1*, receptor activador expresado en células mieloides 1) en la superficie de los macrófagos es clave en la activación de las células con este fenotipo y, por lo tanto, en el desarrollo y progresión del HC (82). Después de esta primera etapa, los macrófagos reclutados surgen, pudiéndose correlacionar la cantidad de células con el nivel de progresión del HC y la supervivencia del paciente (83).

4.6.1.- Modulación de las células de Küpffer y hepatoprotección

Una de las funciones más relevante de los macrófagos es su plasticidad y versatilidad, es decir, su capacidad de cambiar entre un fenotipo macrofágico inflamatorio a un fenotipo antiinflamatorio como respuesta al microambiente que los rodea, estimulando la activación

de cascadas de señalización; como se dijo en los ítems anteriores, el establecimiento de un fenotipo u otro depende de los ligandos que se unan a los receptores TLR, por lo que es usual pensar en estrategias terapéuticas, para casos de inflamación, enfocados en promover el cambio o aumento del fenotipo macrofágico antiinflamatorio o de resolución (22)

A lo largo de los años, se han descubierto varios compuestos, derivados de plantas, hierbas medicinales, ácidos esenciales, entre otros, con propiedades hepatoprotectoras a través de distintos mecanismos. El ácido rosmarínico (AR), un éter de ácido cafeico y ácido 3,4-dihidroxifenil láctico, es uno de ellos; fue aislado por primera vez en el año 1958 por químicos italianos a partir de especies de *Rosmarinus officinalis* (o más conocido como Romero), donde se conocieron sus funciones antitumorales, antiangiogénica, antidepresiva, antiinflamatoria, antialérgica, antimicrobiana, neuroprotectora y propiedades inhibitoras de VIH-1 (virus de inmunodeficiencia humana de tipo 1). Se han probado estas funciones en modelos murinos y, si consideramos un modelo de fibrosis hepática inducida por drogas, se ha descrito que es capaz de inhibir la proliferación de las células estrelladas hepáticas y disminuir la expresión del TGF- β 1, lo que sugiere que es capaz de disminuir el avance de la fibrogenesis, además de mejorar la morfología histopatológica, los niveles de ALT en suero de ratones, disminución de la producción de caspasa-3, lo cual demuestra su capacidad de inhibir los procesos de inflamación a nivel molecular (84, 85).

Pese a que aún no hay estudios específicos que demuestren algún efecto sobre macrófagos hepáticos durante procesos inflamatorios, el trabajo de Luan H. y cols. buscaba determinar los efectos del AR en células neuronales cultivadas *in vitro* e *in vivo* durante un modelo experimental de accidente cerebrovascular isquémico asociado a diabetes, y los resultados arrojaron que AR lograba reducir la apoptosis y la citotoxicidad inducida por reducción de oxígeno y glucosa al cerebro, bloquear a TNF- α , NF- κ B y disminuir la expresión de HMGB1, lo que demuestra un rol neuroprotector al reducir las citoquinas

proinflamatorias del microambiente, permitiendo así que, los macrófagos, mediadores de la inflamación, no reciban señales inflamatorias o de fenotipo macrofágico M1, por lo tanto, disminuirá la población de macrófagos proinflamatorios. Esto sugiere que, en modelos con procesos inflamatorios hepáticos, el AR genere efectos iguales o similares, favoreciendo un cambio de fenotipo macrofágico hepático (86).

Otro agente hepatoprotector, utilizado en la medicina China pertenece a la familia Rosaceae y se denomina *Potentilla chinensis*, del cual se han documentado varios efectos farmacológicos antitumorales, de neuroprotección y antiinflamación. En el año 2013, los estudios de Wei J. y cols. se enfocaron en examinar el efecto de este agente, denominado por ellos como “ácido asiático de *Potentilla chinensis*”, sobre la lesión hepática crónica inducida por etanol y sus resultados determinaron que el agente podía aliviar significativamente la producción de las citoquinas TNF- α e IL-1 β dependiendo de la dosis administrada. También fue capaz de suprimir los niveles de endotoxinas plasmáticas producidas por etanol, es capaz de atenuar los niveles de NF- κ B y de disminuir la expresión del receptor TLR4, encargado de producir TNF α , IL-1 β , IL-10, IL-12, IL-18 y varias quimioquinas. En conclusión, esta investigación demuestra que *P. chinensis* es capaz de modificar los componentes del microambiente hepático y disminuir las respuestas inflamatorias características de un fenotipo macrofágico M1, por último, determinaron que el agente genera protección contra la hepatotoxicidad inducida por alcohol (87).

La Emodina, de estructura 1,3,8-trihidroxi-6-metilantraquinona, se deriva del compuesto antraquinona natural que se aísla de raíces y cortezas de hierbas como *Rheum palmatum* y *Polygonum multiflorum*, es conocida por sus efectos diuréticos, vasorrelajantes, antibacterianos, antivirales, antiulcerogénicos, antiinflamatorios y anticancerígenos (88). Iwanowycz S. y cols. evaluaron la modulación bidireccional de los macrófagos por Emodina y su regulación epigenética de la memoria de los macrófagos en el año 2016, demostrando

que este agente tiene la capacidad de inhibir la polarización tanto de M1 como de M2 a través de regulaciones transcripcionales y epigenéticas, específicamente, puede atenuar los cambios transcripcionales de los genes expresados por la activación mediante LPS, $\text{INF}\gamma$ e IL-4, es capaz de inhibir vías de señalización, incluida la vía NF- κ B y, además, disminuye niveles de $\text{INF}\gamma$, IL-2, TGF- β y PPAR γ , aumentando niveles de IL-4, esto promueve la expresión de fenotipo macrofágico M2 (89).

4.6.1.1.- Rol de Maresina como agente hepatoprotector

En los últimos años, ha existido un creciente interés por la actividad pro-resolutiva y antiinflamatoria de los agentes derivados de los ácidos grasos Omega-3, quienes han demostrado potentes actividades protectoras en diversos órganos, como corazón, riñón, cerebro e hígado (90). Estos derivados poseen actividad hepatoprotectora y han sido denominados como Lipoxinas, Resolvinas y Maresinas, las que, como se indicó con anterioridad, se derivan de los ácidos grasos Omega-3 de origen vegetal o animal de la dieta (91). Nos enfocaremos, particularmente en las Maresinas (pertenecientes a la familia endógena de mediadores químicos derivados de ácidos grasos poliinsaturados), debido a los excelentes resultados encontrados como agentes hepatoprotectores tanto a nivel de la literatura como del laboratorio de donde emana esta memoria. Maresina-1 está involucrada en la resolución de diversas enfermedades hepáticas, entre ellas la esteatosis, lipotoxicidad, el síndrome isquemia-reperfusión y daño agudo por toxinas (8). Específicamente, se ha informado que MAR1 tiene acciones antiinflamatorias, reduciendo la infiltración de polimorfonucleares (PMN), junto con ser pro-resolutivos al mejorar la fagocitosis de macrófagos PMN apoptóticos (tabla 6) (92).

Tabla 6: Efectos hepatoprotectores de Maresina-1 (Tomado y adaptado de Zúñiga J. y cols 2010)

Maresina-1 sobre hepatopatías	Efectos hepatoprotectores
FH	Disminuye la necrosis, la destrucción del sinusoides, infiltración de células inflamatorias, producción de ROS, IL-6, TNF- α , IL-1 β y disminuye la actividad de NF- κ B
EHNA	Aumenta la autofagia, la lipogénesis, oxidación de ácidos grasos y disminuye los marcadores de estrés.
NASH	Aumenta los macrófagos M1 y M2, disminuye enzimas hepáticas (AST y ALT), la deposición de colágeno, peroxidación de lípidos y los niveles de TGF- β

Se determinó que MAR1 funciona como un ligando agonista de ROR- α (del inglés, *RAR-related orphan receptor Alpha*, receptor huérfano relacionado con ácido retinoico α), mejorando la polaridad en los macrófagos M2 residentes del hígado (células Küpffer) (93), a la vez que actúa como ligando para LGR6 (del inglés, *Leucine-rich repeat-containing G-protein coupled receptor 6*, receptor 6 acoplado a proteína G que contiene repetición rica en leucina), adquiriendo funciones pro-resolutivas (94). Otras investigaciones sugieren que MAR1 protege el hígado de daños agudos, tales como el estrés oxidativo y las lesiones hepáticas inducidas, generando una reducción de ROS, activando la acción de antioxidantes (superóxido dismutasa, glutatión peroxidasa y catalasa), inhibiendo la infiltración de neutrófilos y, por consiguiente, disminuyendo la disfunción hepática provocada por elementos tóxicos para el organismo como el tetracloruro de carbono (CCl IV) (28).

Existen estudios que demuestran la capacidad de MAR1 para atenuar la esteatosis hepática en sujetos con obesidad al disminuir los niveles de transaminasas y triglicéridos hepáticos cuando se suministra MAR1 en ratones obesos. Se describe que disminuye la expresión de proteínas de enzimas clave involucradas en lipogénesis *de novo* hepática, regulan la expresión de genes, al alza, relacionados con la oxidación de ácidos grasos y aumentan los marcadores de autofagia (95). Además, MAR1 participa mejorando la respuesta inflamatoria inducido por hipoxia reduciendo significativamente los niveles de IL-1 β y TNF- α (96).

A partir de los resultados de estas investigaciones, descubrimos que una de las propuestas terapéuticas más prometedoras es la utilización de Maresina como agente de estudio de las vías de hepatoprotección mediadas por los macrófagos hepáticos o células de Küpffer y podría ser el medio por el cual encontrar una nueva alternativa farmacológica enfocado en disminuir el daño hepático producido por la inflamación crónica, al modificar los fenotipos macrofágicos de la célula de Küpffer, pudiendo revertir un fenotipo proinflamatorio en uno pro-resolutivo.

5.- CONCLUSIÓN

Dentro de las actividades inmunológicas en el contexto del hígado, los macrófagos, que son células fagocíticas presentes en los tejidos, pueden presentar dos fenotipos muy polarizados, como lo son el M1 o inflamatorio y M2 o resolutivo (antiinflamatorio) los cuales van a depender del ambiente inmunológico, tóxico y otras situaciones que afecten al sitio dañado. Es por lo anterior que estos macrófagos juegan un rol esencial en lo referente a la mantención de la actividad fisiológica (detoxificación, limpieza de debris, etc.), pero también son parte esencial de la progresión de las enfermedades hepáticas, donde muchos estudios sugieren que estas células inmunológicas serían las encargadas de activar y perpetuar patologías como la enfermedad hepática no alcohólica, fibrosis y cirrosis.

Para finalizar, hay que destacar que durante los últimos 10 años se han aislado y reconocido una gama de agentes hepatoprotectores provenientes de distintas fuentes y de diferente naturaleza, sin embargo, todos ellos tienen en común sus roles y funciones enfocadas en detener o revertir la inflamación junto con la fibrogénesis, con el fin de detener la progresión de las enfermedades hepáticas y su clínica, mejorando así la condición de vida de los pacientes que las padecen. En síntesis, estos agentes buscan transformar el microambiente hepático que rodea los macrófagos residentes, es decir, células de Küpffer, para que, de un fenotipo macrofágico M1 o proinflamatorio, activado por las lesiones, alcohol, fibrosis, inflamación, muerte celular, entre otros hacia el fenotipo macrofágico M2 o resolutivo, para favorecer la fagocitosis de células muertas, detener los procesos inflamatorios y revertir la fibrosis. Con vistas a futuro, se propone estudiar a profundidad el rol de Maresina en el contexto de la enfermedad hepática crónica, en vista de los recientes descubrimientos sobre su rol como agente pro-resolutivo (figura 6).

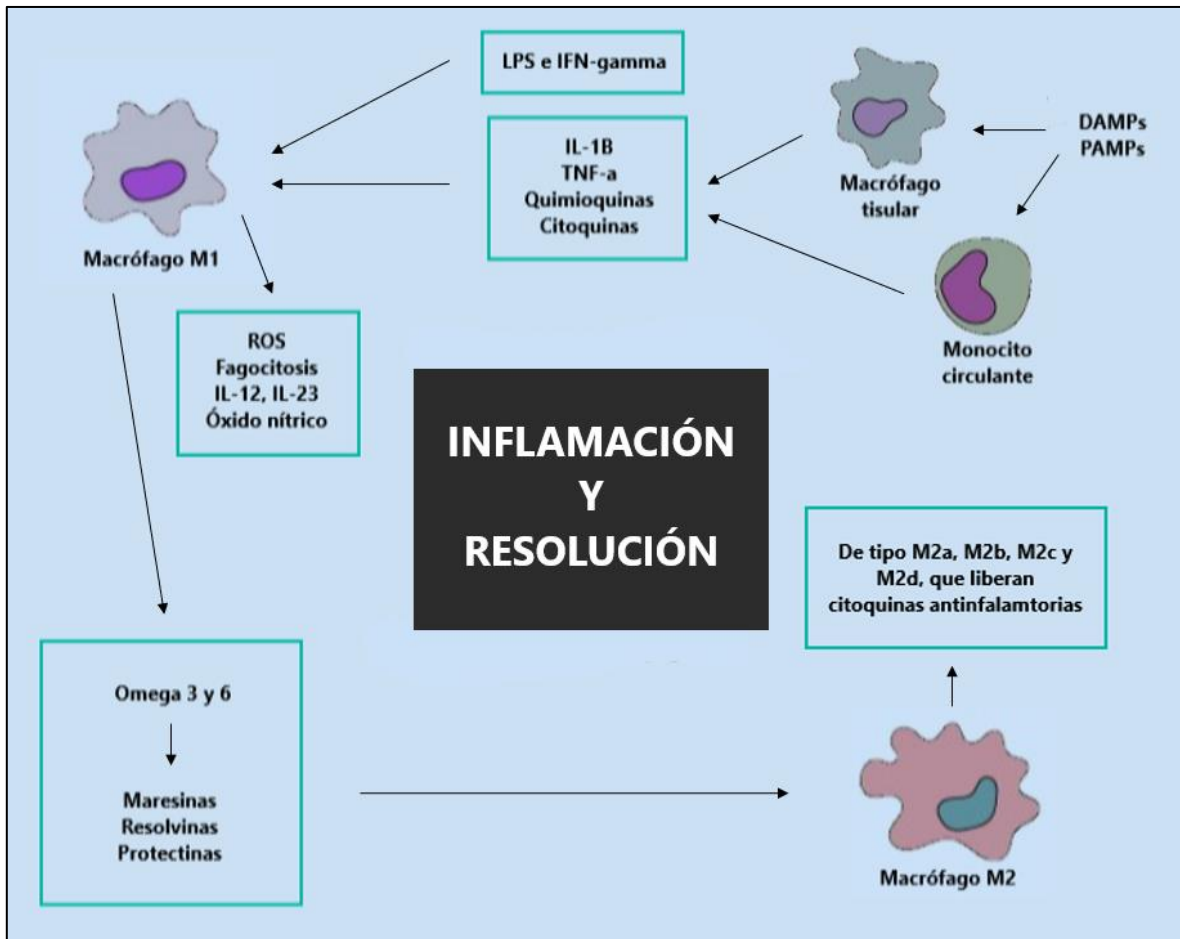


Figura 6: Propuesta del mecanismo de inflamación y resolución junto a agentes pro-resolutivos. Ante estímulos como patrones moleculares asociados a daño o patógenos, se activan macrófagos tisulares y monocitos circulantes, los cuales liberan citoquinas, quimioquinas, IL-1 β y TNF- α , los cuales activarán los macrófagos de fenotipo M1 (células de Kupffer) junto a LPS provenientes de microorganismos patógenos e IFN- γ ; esta activación genera la producción de ROS, IL-12, IL-23, Óxido nítrico y fagocitosis de elementos. Los agentes pro-resolutivos, derivados de Omega 3 y 6, son capaces de revertir el fenotipo macrófágico proinflamatorio en uno resolutivo o M2, célula capaz de liberar citoquinas antiinflamatorias (elaboración propia, Sáez L. 2021)

6.- REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Saldana JI. Macrophages, Sociedad Británica de Inmunología. 2016. <https://www.immunology.org/>
2. Metchnikoff E. Leçons sur la pathologie comparée de l'inflammation: faites à l'Institut Pasteur en avril et mai 1891: G. Masson; 1892.
3. Davies LC, Taylor PR. Tissue-resident macrophages: then and now. *Immunology*. 2015;144(4):541-8.
4. J s, A G. Tratado de fisiología médica. 13th ed2016.
5. Dixon LJ, Barnes M, Tang H, Pritchard MT, Nagy LE. Kupffer cells in the liver. *Comprehensive Physiology*. 2013;3(2):785-97.
6. Krenkel O, Tacke F. Liver macrophages in tissue homeostasis and disease. *Nature Reviews Immunology*. 2017;17(5):306-21.
7. Tacke F. Targeting hepatic macrophages to treat liver diseases. *Journal of Hepatology*. 2017;66(6):1300-12.
8. Serhan CN, Yang R, Martinod K, Kasuga K, Pillai PS, Porter TF, et al. Maresins: novel macrophage mediators with potent antiinflammatory and proresolving actions. *Journal of Experimental Medicine*. 2008;206(1):15-23.
9. Satoh T, Akira S. Toll-Like Receptor Signaling and Its Inducible Proteins. *Microbiol Spectr*. 2016;4(6).
10. John L. The Dictionary of Cell & Molecular Biology. 4 th ed2007.
11. Murray PJ, Wynn TA. Protective and pathogenic functions of macrophage subsets. *Nature Reviews Immunology*. 2011;11(11):723-37.
12. Schultze JL, Schmidt SV. Molecular features of macrophage activation. *Seminars in Immunology*. 2015;27(6):416-23.
13. Gordon S. The macrophage. *BioEssays*. 1995;17(11):977-86.
14. Ivashkiv LB. IFN γ : signalling, epigenetics and roles in immunity, metabolism, disease and cancer immunotherapy. *Nature reviews Immunology*. 2018;18(9):545-58.
15. Gordon S. Alternative activation of macrophages. *Nature Reviews Immunology*. 2003;3(1):23-35.
16. Lokhonina AV, Makarov AV, Elchaninov AV, Arutyunyan IV, Shmakova TV, Grinberg MV, et al. Quantitative and Qualitative Characterization of Phagocytic Activity of Macrophages of Bone Marrow and Fetal Origin. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 2019;167(1):154-8.
17. Shan Z, Ju C. Hepatic Macrophages in Liver Injury. *Frontiers in immunology*. 2020;11:322-.
18. Shapouri-Moghaddam A, Mohammadian S, Vazini H, Taghadosi M, Esmaeili SA, Mardani F, et al. Macrophage plasticity, polarization, and function in health and disease. *J Cell Physiol*. 2018;233(9):6425-40.
19. Wu M-Y, Lu J-H. Autophagy and Macrophage Functions: Inflammatory Response and Phagocytosis. *Cells*. 2019;9(1):70.
20. Mantovani A, Sica A, Locati M. New vistas on macrophage differentiation and activation. *European Journal of Immunology*. 2007;37(1):14-6.
21. Mantovani A, Sica A, Sozzani S, Allavena P, Vecchi A, Locati M. The chemokine system in diverse forms of macrophage activation and polarization. *Trends in Immunology*. 2004;25(12):677-86.

22. Wang Y, Smith W, Hao D, He B, Kong L. M1 and M2 macrophage polarization and potentially therapeutic naturally occurring compounds. *International Immunopharmacology*. 2019;70:459-66.
23. Ginhoux F, Guilliams M. Tissue-Resident Macrophage Ontogeny and Homeostasis. *Immunity*. 2016;44(3):439-49.
24. I PG, GJ P, BJ P. *Hematología*. Chile: Universidad de Talca; 2005.
25. Guillot A, Tacke F. Liver Macrophages: Old Dogmas and New Insights. *Hepatology communications*. 2019;3(6):730-43.
26. Blériot C, Ginhoux F. Understanding the Heterogeneity of Resident Liver Macrophages. *Frontiers in Immunology*. 2019;10:2694.
27. Elchaninov AV, Fatkhudinov TK, Vishnyakova PA, Lokhonina AV, Sukhikh GT. Phenotypical and Functional Polymorphism of Liver Resident Macrophages. *Cells*. 2019;8(9):1032.
28. Li R, Wang Y, Zhao E, Wu K, Li W, Shi L, et al. Maresin 1, a Proresolving Lipid Mediator, Mitigates Carbon Tetrachloride-Induced Liver Injury in Mice. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2016;2016:9203716.
29. Wake K. Karl Wilhelm Kupffer And His Contributions To Modern Hepatology. *Comparative hepatology*. 2004;3 Suppl 1(Suppl 1):S2-S.
30. Basit H, Tan ML, Webster DR. *Histology, Kupffer Cell*. StatPearls. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing

Copyright © 2021, StatPearls Publishing LLC.; 2021.

31. Rojas-Lemus M, Chávez Rebeca M, Medina Abigail D, Nevares Patricia B, Gutiérrez Gumaro C, Padilla Diego C, et al. El hepatocito como un ejemplo de interacción entre la biología celular y las rutas metabólicas. *Revista de la Facultad de Medicina, Universidad Nacional Autónoma de México*. 2017;60:52-8.
32. Le Couteur DG, Warren A, Cogger VC, Smedsrød B, Sørensen KK, De Cabo R, et al. Old age and the hepatic sinusoid. *The Anatomical Record: Advances in Integrative Anatomy and Evolutionary Biology: Advances in Integrative Anatomy and Evolutionary Biology*. 2008;291(6):672-83.
33. Higashi T, Friedman SL, Hoshida Y. Hepatic stellate cells as key target in liver fibrosis. *Adv Drug Deliv Rev*. 2017;121:27-42.
34. Pucho JE, Saiman Y, Friedman SL. Hepatic stellate cells and liver fibrosis. *Compr Physiol*. 2013;3(4):1473-92.
35. Porth C. *Fisiopatología*. 7a ed. ed. Buenos Aires 2007.
36. Andrade RJ, Chalasani N, Björnsson ES, Suzuki A, Kullak-Ublick GA, Watkins PB, et al. Drug-induced liver injury. *Nat Rev Dis Primers*. 2019;5(1):58.
37. Hoofnagle JH, Björnsson ES. Drug-Induced Liver Injury - Types and Phenotypes. *N Engl J Med*. 2019;381(3):264-73.
38. Fisher K, Vuppalanchi R, Saxena R. Drug-Induced Liver Injury. *Archives of Pathology & Laboratory Medicine*. 2015;139(7):876-87.
39. Hosseini N, Shor J, Szabo G. Alcoholic Hepatitis: A Review. *Alcohol and alcoholism (Oxford, Oxfordshire)*. 2019;54(4):408-16.
40. Seth D, Haber PS, Syn W-K, Diehl AM, Day CP. Pathogenesis of alcohol-induced liver disease: Classical concepts and recent advances. *Journal of Gastroenterology and Hepatology*. 2011;26(7):1089-105.
41. Louvet A, Mathurin P. Alcoholic liver disease: mechanisms of injury and targeted treatment. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*. 2015;12(4):231-42.

42. Theurer S, Kälsch J, Schwertheim S, Kathemann S, Baba HA. Histopathologische Diagnostik und Differenzialdiagnostik der nichtalkoholischen Fettlebererkrankung. *Der Pathologe*. 2020;41(5):434-43.
43. Sivell C. Nonalcoholic Fatty Liver Disease: A Silent Epidemic. *Gastroenterology Nursing*. 2019;42(5).
44. Vernon G, Baranova A, Younossi ZM. Systematic review: the epidemiology and natural history of non-alcoholic fatty liver disease and non-alcoholic steatohepatitis in adults. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*. 2011;34(3):274-85.
45. Spengler EK, Loomba R. Recommendations for Diagnosis, Referral for Liver Biopsy, and Treatment of Nonalcoholic Fatty Liver Disease and Nonalcoholic Steatohepatitis. *Mayo Clinic proceedings*. 2015;90(9):1233-46.
46. Satapathy SK, Sanyal AJ. Epidemiology and Natural History of Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Semin Liver Dis*. 2015;35(03):221-35.
47. Salud DMd. INFORME SEMANAL DE DEFUNCIONES POR COVID19 N ° 39 In: Salud DdEeld, editor. 2021.
48. Forner A, Reig M, Bruix J. Hepatocellular carcinoma. *The Lancet*. 2018;391(10127):1301-14.
49. Hartke J, Johnson M, Ghabril M. The diagnosis and treatment of hepatocellular carcinoma. *Seminars in Diagnostic Pathology*. 2017;34(2):153-9.
50. Clark T, Maximin S, Meier J, Pokharel S, Bhargava P. Hepatocellular Carcinoma: Review of Epidemiology, Screening, Imaging Diagnosis, Response Assessment, and Treatment. *Current Problems in Diagnostic Radiology*. 2015;44(6):479-86.
51. Wallace MC, Preen D, Jeffrey GP, Adams LA. The evolving epidemiology of hepatocellular carcinoma: a global perspective. *Expert Review of Gastroenterology & Hepatology*. 2015;9(6):765-79.
52. Mittal S, El-Serag HB. Epidemiology of hepatocellular carcinoma: consider the population. *J Clin Gastroenterol*. 2013;47 Suppl(0):S2-6.
53. Frias M, López-López P, Rivero A, Rivero-Juarez A. Role of Hepatitis E Virus Infection in Acute-on-Chronic Liver Failure. *Biomed Res Int*. 2018;2018:9098535.
54. Swain MG, Jones DEJ. Fatigue in chronic liver disease: New insights and therapeutic approaches. *Liver International*. 2019;39(1):6-19.
55. An K, Jallo N, Menzies V, Kinser P, Robins JLW, Starkweather A. Integrative Review of Co-Occurring Symptoms Across Etiologies of Chronic Liver Disease and Implications for Symptom Management Research and Practice. *Journal of Nursing Scholarship*. 2015;47(4):310-7.
56. Aydın MM, Akçalı KC. Liver fibrosis. *The Turkish journal of gastroenterology : the official journal of Turkish Society of Gastroenterology*. 2018;29(1):14-21.
57. Lai M, Afdhal NH. Liver Fibrosis Determination. *Gastroenterology Clinics of North America*. 2019;48(2):281-9.
58. Departamento de Estadísticas e Información de Salud D, Salud Md. Indicadores básicos de salud Chile 2017. 2017.
59. Tsochatzis EA, Bosch J, Burroughs AK. Liver cirrhosis. *Lancet*. 2014;383(9930):1749-61.
60. Smith A, Baumgartner K, Bositis C. Cirrhosis: Diagnosis and Management. *Am Fam Physician*. 2019;100(12):759-70.
61. Parola M, Pinzani M. Liver fibrosis: Pathophysiology, pathogenetic targets and clinical issues. *Molecular Aspects of Medicine*. 2019;65:37-55.
62. Marra F, Tacke F. Roles for chemokines in liver disease. *Gastroenterology*. 2014;147(3):577-94.e1.
63. Heymann F, Tacke F. Immunology in the liver — from homeostasis to disease. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*. 2016;13(2):88-110.

64. Gaskell H, Ge X, Nieto N. High-Mobility Group Box-1 and Liver Disease. *Hepatology communications*. 2018;2(9):1005-20.
65. Cayrol C, Girard J-P. Interleukin-33 (IL-33): A nuclear cytokine from the IL-1 family. *Immunological Reviews*. 2018;281(1):154-68.
66. Szabo G, Petrasek J. Inflammasome activation and function in liver disease. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2015;12(7):387-400.
67. Alegre F, Pelegrin P, Feldstein AE. Inflammasomes in Liver Fibrosis. *Semin Liver Dis*. 2017;37(2):119-27.
68. Palomo J, Dietrich D, Martin P, Palmer G, Gabay C. The interleukin (IL)-1 cytokine family--Balance between agonists and antagonists in inflammatory diseases. *Cytokine*. 2015;76(1):25-37.
69. Hayden MS, Ghosh S. NF- κ B in immunobiology. *Cell Res*. 2011;21(2):223-44.
70. Williams LM, Gilmore TD. Looking Down on NF- κ B. *Mol Cell Biol*. 2020;40(15).
71. Lawrence T. The nuclear factor NF-kappaB pathway in inflammation. *Cold Spring Harb Perspect Biol*. 2009;1(6):a001651.
72. Napetschnig J, Wu H. Molecular basis of NF- κ B signaling. *Annu Rev Biophys*. 2013;42:443-68.
73. Sun SC. The non-canonical NF- κ B pathway in immunity and inflammation. *Nat Rev Immunol*. 2017;17(9):545-58.
74. Kesar V, Odin JA. Toll-like receptors and liver disease. *Liver Int*. 2014;34(2):184-96.
75. Petrasek J, Csak T, Szabo G. Toll-like receptors in liver disease. *Adv Clin Chem*. 2013;59:155-201.
76. Bilzer M, Roggel F, Gerbes AL. Role of Kupffer cells in host defense and liver disease. *Liver Int*. 2006;26(10):1175-86.
77. Duffield JS, Forbes SJ, Constandinou CM, Clay S, Partolina M, Vuthoori S, et al. Selective depletion of macrophages reveals distinct, opposing roles during liver injury and repair. *J Clin Invest*. 2005;115(1):56-65.
78. Tacke F, Zimmermann HW. Macrophage heterogeneity in liver injury and fibrosis. *Journal of Hepatology*. 2014;60(5):1090-6.
79. Lee J, French B, Morgan T, French SW. The liver is populated by a broad spectrum of markers for macrophages. In alcoholic hepatitis the macrophages are M1 and M2. *Exp Mol Pathol*. 2014;96(1):118-25.
80. Wang M, You Q, Lor K, Chen F, Gao B, Ju C. Chronic alcohol ingestion modulates hepatic macrophage populations and functions in mice. *J Leukoc Biol*. 2014;96(4):657-65.
81. Ramachandran P, Pellicoro A, Vernon MA, Boulter L, Aucott RL, Ali A, et al. Differential Ly-6C expression identifies the recruited macrophage phenotype, which orchestrates the regression of murine liver fibrosis. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2012;109(46):E3186-95.
82. Wu J, Li J, Salcedo R, Mivechi NF, Trinchieri G, Horuzsko A. The proinflammatory myeloid cell receptor TREM-1 controls Kupffer cell activation and development of hepatocellular carcinoma. *Cancer Res*. 2012;72(16):3977-86.
83. Ding T, Xu J, Wang F, Shi M, Zhang Y, Li SP, et al. High tumor-infiltrating macrophage density predicts poor prognosis in patients with primary hepatocellular carcinoma after resection. *Hum Pathol*. 2009;40(3):381-9.
84. Elufioye TO, Habtemariam S. Hepatoprotective effects of rosmarinic acid: Insight into its mechanisms of action. *Biomed Pharmacother*. 2019;112:108600.
85. Domitrović R, Škoda M, Vasiljev Marchesi V, Cvijanović O, Pernjak Pugel E, Štefan MB. Rosmarinic acid ameliorates acute liver damage and fibrogenesis in carbon tetrachloride-intoxicated mice. *Food and Chemical Toxicology*. 2013;51:370-8.

86. Luan H, Kan Z, Xu Y, Lv C, Jiang W. Rosmarinic acid protects against experimental diabetes with cerebral ischemia: relation to inflammation response. *J Neuroinflammation*. 2013;10:28.
87. Wei J, Huang Q, Huang R, Chen Y, Lv S, Wei L, et al. Asiatic acid from *Potentilla chinensis* attenuate ethanol-induced hepatic injury via suppression of oxidative stress and Kupffer cell activation. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*. 2013;b13-00634.
88. Shrimali D, Shanmugam MK, Kumar AP, Zhang J, Tan BKH, Ahn KS, et al. Targeted abrogation of diverse signal transduction cascades by emodin for the treatment of inflammatory disorders and cancer. *Cancer Letters*. 2013;341(2):139-49.
89. Iwanowycz S, Wang J, Altomare D, Hui Y, Fan D. Emodin Bidirectionally Modulates Macrophage Polarization and Epigenetically Regulates Macrophage Memory. *Journal of Biological Chemistry*. 2016;291(22):11491-503.
90. Zúñiga J, Venegas F, Villarreal M, Núñez D, Chandía M, Valenzuela R, et al. Protection against in vivo liver ischemia-reperfusion injury by n-3 long-chain polyunsaturated fatty acids in the rat. *Free Radic Res*. 2010;44(8):854-63.
91. Swanson D, Block R, Mousa SA. Omega-3 fatty acids EPA and DHA: health benefits throughout life. *Adv Nutr*. 2012;3(1):1-7.
92. Serhan CN, Dalli J, Karamnov S, Choi A, Park C-K, Xu Z-Z, et al. Macrophage proresolving mediator maresin 1 stimulates tissue regeneration and controls pain. *The FASEB Journal*. 2012;26(4):1755-65.
93. Han Y-H, Shin K-O, Kim J-Y, Khadka DB, Kim H-J, Lee Y-M, et al. A maresin 1/ROR α /12-lipoxygenase autoregulatory circuit prevents inflammation and progression of nonalcoholic steatohepatitis. *The Journal of Clinical Investigation*. 2019;129(4):1684-98.
94. Im D-S. Maresin-1 resolution with ROR α and LGR6. *Progress in Lipid Research*. 2020;78:101034.
95. Laiglesia LM, Lorente-Cebrián S, Martínez-Fernández L, Sáinz N, Prieto-Hontoria PL, Burrell MA, et al. Maresin 1 mitigates liver steatosis in ob/ob and diet-induced obese mice. *International Journal of Obesity*. 2018;42(3):572-9.
96. Rius B, Duran-Güell M, Flores-Costa R, López-Vicario C, Lopategi A, Alcaraz-Quiles J, et al. The specialized proresolving lipid mediator maresin 1 protects hepatocytes from lipotoxic and hypoxia-induced endoplasmic reticulum stress. *The FASEB Journal*. 2017;31(12):5384-98.