



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

**MEDIADORES LIPÍDICOS DE ÁCIDOS GRASOS OMEGA-3: MODULACIÓN
DEL FENOTIPO MACROFÁGICO M1/M2 Y SU ACCIÓN
HEPATOPROTECTORA EN LA ENFERMEDAD HEPÁTICA CRÓNICA**

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

**AUTORAS: CATALINA AGUILERA BARRERA Y ESTEFANÍA ÁVALOS
LOYOLA
PROFESORA GUÍA: DRA. BQ. JESSICA ZÚÑIGA HERNÁNDEZ**

**TALCA – CHILE
AÑO 2020**

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, 2021

Agradecimientos

Una de las cosas más valiosas que alguien puede dedicarte es su tiempo. Por eso queremos agradecer en primer lugar a nuestra profesora guía, la Dra. Jessica Zúñiga Hernández, por las incontables horas que dedicó a enseñarnos y orientarnos, sin dejarnos solas ni siquiera en el apogeo de una pandemia. Su pasión por lo que hace es un ejemplo para nosotras. También agradecemos a nuestras familias, por haber sido refugio de nuestras preocupaciones y miedos. Su cariño y apoyo han sido fundamentales durante todo el proceso de formación.

Índice general

Contenido	Página
Índice general	I
Índice de tablas y figuras	IV
Glosario de términos	V
I. Resumen	1
II. Introducción	2
III. Objetivos	4
IV. Metodología de búsqueda	5
V. Marco teórico	6
5.1. Hígado	6
5.1.1. Morfología hepática	6
5.1.2. Fisiopatología hepática	8
5.1.2.1. Mecanismos de generación de enfermedad hepática crónica	10
5.2. Ácidos grasos	11
5.2.1. Ácidos grasos monoinsaturados	12
5.2.2. Ácidos grasos poliinsaturados	12
5.2.2.1. Ácidos grasos omega-6	13
5.2.2.2. Ácidos grasos omega-3	15
5.2.2.2.1. Funciones biológicas de los omega-3	15
5.2.2.2.1.1. Modulación de la inflamación	16
5.2.2.2.1.2. Funciones cardioprotectoras	17
5.2.2.2.1.3. Funciones hepatoprotectoras	18
5.3. Mediadores derivados de lípidos	19
5.3.1. Mediadores lipídicos derivados de FA omega-6	19
5.3.2. Mediadores lipídicos derivados de FA omega-3	20
5.3.2.1. Resolvinas	21
5.3.2.2. Protectinas	24

5.5.4.2.1. Enfermedad hepática crónica	54
5.5.5. Rol de los omega-3 en el fenotipo macrofágico M1/M2	56
5.5.5.1. Activación de PPAR γ	57
5.5.5.2. Interrupción de la señalización TLR-dependiente	59
5.5.5.3. Regulación de ROS y autofagia	60
5.5.5.4. Estimulación de FFA4	62
5.6. SPM y su relación con el fenotipo macrofágico M1/M2	64
VI. Conclusión	70
VII. Referencias bibliográficas	71

Índice de Tablas y Figuras

I. Tablas

	Contenido	Página
Tabla 1.	PUFA más comunes y los alimentos que las contienen	13
Tabla 2.	Funciones protectoras asociadas a los omega-3 y sus mecanismos	16
Tabla 3.	Acciones de los SPM y sus efectos en enfermedades crónicas	26
Tabla 4.	Principales componentes celulares del sistema inmune	28
Tabla 5.	Funciones de las principales citoquinas	30
Tabla 6.	Principales diferencias entre inmunidad innata y adaptativa	33
Tabla 7.	Funciones de los distintos isotipos de anticuerpos	39
Tabla 8.	Características ambientales y propias de los fenotipos macrofágicos M1 y M2	49

II. Figuras

	Contenido	Página
Figura 1.	Estructura tridimensional del lobulillo y sinusoide hepático	8
Figura 2.	Vías metabólicas de los omega-3 y omega-6	14
Figura 3.	Vías de producción de los SPM	22
Figura 4.	Vías de estimulación de los fenotipos macrofágicos M1/M2	53
Figura 5.	Mecanismos antiinflamatorios mediados por la activación de FFA4 por omega-3 en MΦ	63

Glosario de términos

Acrónimo	Significado
a.n.e	Antes de nuestra época
AA	Ácido araquidónico
ALA	Ácido α -linolénico
ALT	Alanina aminotransferasa
ALX/FPR2	<i>N-formyl peptide receptor 2</i>
AO	Ácido oleico
AP-1	<i>Activator protein 1</i>
APC	Células presentadoras de antígeno
BCL2	<i>B-cell lymphoma 2</i>
cAMP	AMP cíclico
CD	<i>Cluster of differentiation</i>
CDC	<i>Center for Disease Control</i>
cGMP/PKG	<i>Cyclic guanosine monophosphate- dependent protein kinase</i>
ConA	Concanavalina A
COX	Ciclooxigenasa
cPLA2	Fosfolipasa A ₂ citosólica
CVE	<i>Cardiovascular event</i>
DAMP	<i>Damage-associated molecular patterns</i>
DC	Células dendríticas
DEN	Dietilnitrosamina
DHA	Ácido docosahexaenoico
DSS	<i>Dextran sulfate sodium</i>
ECM	Matriz extracelular
EPA	Ácido eicosapentaenoico
ERK	<i>Extracellular signal-regulated kinase</i>
FA	<i>Fatty acids</i>
Fab	<i>Antigen binding fragment</i>

Fc	<i>Fragment crystallizable</i>
FcR	<i>Fragment crystallizable receptor</i>
FFA4	<i>Free-fatty-acid receptor-4</i>
GM-CSF	<i>Granulocyte Monocyte Colony-Stimulating Factor</i>
GPCR	<i>G protein-coupled receptors</i>
Hb	Hemoglobina
HCC	Hepatocarcinoma
HCDM	<i>Human Cell Differentiation Molecules</i>
HDL-C	Lipoproteínas de alta densidad
HMGB1	<i>High-mobility group box 1</i>
HSC	Células estrelladas hepáticas
HSP	<i>Heat shock protein</i>
ICAM1	<i>Intercellular adhesion molecule 1</i>
Ig	Inmunoglobulinas
IKK α	<i>IκB kinase Alpha</i>
IL	Interleucina
IL1Ra	<i>IL-1 receptor antagonist</i>
IL-RII	<i>Decoy receptor IL-1 receptor II</i>
INF	Interferón
iNOS	<i>Inducible nitric oxide synthase</i>
IRF	<i>Interferon regulatory factor</i>
IUPAC	<i>International Union of Pure and Applied Chemistry</i>
JAK	<i>Janus kinase</i>
JNK	<i>C-Jun N-terminal kinases</i>
KC	Células de Küpffer
KEAP1	<i>Kelch-like ECH-associated protein 1</i>
KLF4	<i>Krüppel-like factor 4</i>
LA	Ácido linoleico
LB	Linfocitos B
LC3	<i>Microtubule-associated protein 1A/1B-light chain 3</i>

LOX	Lipooxigenasa
LPS	Lipopolisacárido
LT	Leucotrienos
LT	Linfocitos T
MA	Macrófagos alveolares
MAPK	<i>Mitogen-activated protein kinases</i>
MaR1	Maresina 1
MC	Mastocitos
M-CSF	<i>Macrophage colony stimulating factor</i>
MHC	<i>Major histocompatibility complex</i>
MI	Macrófagos intersticiales
MMP	Metaloproteinasas
MO	Médula ósea
MRC1	<i>Mannose receptor</i>
mRNA	RNA mensajero
MUC1	<i>Mucin 1</i>
MUFA	<i>Monounsaturated fatty acids</i>
MΦ	Macrófagos
NAFLD	<i>Nonalcoholic fatty liver disease</i>
NASH	<i>Non-alcoholic steatohepatitis</i>
NET	Trampas extracelulares
NF-κB	<i>Nuclear factor kappa B</i>
NK	<i>Natural killer</i>
NO	Óxido nítrico
NPD1	Neuroprotectina
Nrf2	<i>Nuclear factor erythroid-derived 2-like 2</i>
PAI-1	Inhibidor del activador del plasminógeno
PAMP	<i>Pathogen-associated molecular patterns</i>
PD1	Protectina
PDGF	<i>Platelet derived growth factor</i>

PG	Prostaglandinas
PKA	<i>Protein kinase A</i>
PMN	Polimorfonucleares
PPAR	<i>Peroxisome proliferator-activated receptors</i>
PUFA	<i>Polyunsaturated fatty acids</i>
RA	Artritis reumatoide
RNS	Especies reactivas de nitrógeno
ROR α	<i>Retinoic acid-related orphan receptor α</i>
ROS	Especies reactivas de oxígeno
Rv	Resolvinas
RXR	<i>Retinoid X receptor</i>
SNC	Sistema nervioso central
SOCS-3	Proteínas supresoras de señalización de citocinas
SPM	<i>Specialized proresolving mediators</i>
SQSTM1	<i>Sequestosome-1</i>
ssRNA	<i>Single-stranded RNA</i>
ST2	<i>Suppression of tumorigenicity 2</i>
STAT	<i>Signal transducer and activator of transcription</i>
TAB1	<i>TGF-β Activated Kinase 1 Binding Protein</i>
TAK1	<i>TGF-β Activated Kinase 1</i>
TGF- β 1	<i>Transforming growth factor β1</i>
TGM2	<i>Transglutaminase 2</i>
TLR	<i>Toll like receptor</i>
TNFAIP3	<i>Tumor necrosis factor alpha-induced protein 3</i>
TNF- α	Factor de necrosis tumoral alfa
TREM2	<i>Triggering receptor expressed on myeloid cells 2</i>
TRPV1	Receptor de potencial transitorio V1
TX	Tromboxanos
u-PA	Activador del plasminógeno tipo uroquinasa
VEGF	<i>Vascular endothelial growth factor</i>

I. Resumen

La inflamación es el eje central de muchos procesos fisiopatológicos, siendo por lo general autolimitada en el tiempo y estrictamente regulada. En las últimas décadas, se ha encontrado evidencia de que la resolución de la inflamación sería un proceso activo, vale decir, las células inmunes actuarían de forma reactiva a las señales del medio, contribuyendo así a la restauración de la homeostasis. Entre estas células, los macrófagos serían capaces de activarse y polarizar hacia fenotipos proinflamatorios M1 o antiinflamatorios M2. Cuando las señales proinflamatorias, derivadas por lo general de un estímulo nocivo se mantienen en el tiempo, la inflamación perdura lo que a largo plazo genera el desarrollo de enfermedades crónicas, caracterizadas por la presencia de macrófagos M1. En este sentido, las enfermedades hepáticas crónicas cobran especial importancia debido a su creciente prevalencia, lo irremplazable de las funciones del hígado, lo variada de sus etiologías y lo pernicioso de su avance, donde el desarrollo de fibrosis -también denominada cirrosis- puede llevar a insuficiencia hepática e incluso a hepatocarcinoma, sin haber en el mercado tratamientos efectivos que sean capaces de detener su progreso. El reciente descubrimiento de mediadores endógenos pro-resolutivos derivados de ácidos grasos omega-3, abre la posibilidad de nuevas alternativas terapéuticas debido a que estas moléculas, conocidas como mediadores pro-resolutivos especializados (resolvinas, protectina y maresina), poseen efectos antiinflamatorios, regenerativos y analgésicos a bajas concentraciones, habiéndose observado además que son capaces de modular el fenotipo de los macrófagos hacia uno M2. En suma, estos nuevos mediadores tendrían la potencial capacidad de favorecer la resolución de estadios inflamatorios crónicos por lo que, a futuro, investigaciones de sus efectos en modelos de hepatopatías crónicas constituyen un prometedor campo de estudio.

Palabras clave: Enfermedad hepática crónica, Omega-3, Mediadores pro-resolutivos especializados, Macrófagos, Polarización M1/M2

II. Introducción

El consumo de grasas suele ser asociado con problemas metabólicos, sobrepeso y problemas cardiovasculares, sin embargo, desde los años 60, por medio de diversos estudios se han ido evidenciando variados efectos beneficiosos y protectores de la salud procedentes del consumo de ciertos ácidos grasos, conocidos como omega-3 y omega-6, presentes en aceites de pescado y algunas semillas, respectivamente. Esto ha llevado al descubrimiento de compuestos bioactivos derivados de estos ácidos grasos, que participan en la resolución fisiológica de la inflamación y que tendrían un rol terapéutico en un extenso abanico de patologías, tanto de características agudas como crónicas, encontrándose entre estas últimas, las hepatopatías.

En 2018, la cirrosis hepática crónica se encontraba como la onceava causa de muerte a nivel mundial, y dentro de las primeras 20 causas de pérdida de años de vida debido a enfermedad, discapacidad o muerte prematura (2). Esta consiste en una pérdida de la arquitectura normal del hígado donde el tejido funcional es reemplazado por nódulos regenerativos rodeados de tabiques fibrosos lo que, a largo plazo, genera una insuficiencia hepática pues la baja cantidad de tejido funcional remanente es incapaz de suplir de manera óptima las demandas metabólicas del sistema. Entre sus etiologías principales se encuentran: el consumo de alcohol, la infección por los virus de la hepatitis B y C (3) y aquellas derivadas de desórdenes metabólicos, tales como hígado graso no alcohólico (NAFLD, del inglés, *Nonalcoholic fatty liver disease*) cuya prevalencia, según predicciones realizadas por investigadores del *Center for Disease Control and Prevention analysis* (CDC), aumentaría en un 21% durante el periodo 2015-2030 en Estados Unidos (4), patrón que seguirían otros países occidentales. En Chile, en el periodo 1990-2007, las tasas de mortalidad por cirrosis hepática alcohólica y no alcohólica fueron de 18,6 personas por cada 100.000 habitantes, constituyendo un 3,1% del total de muertes (5), con una prevalencia que se observa al alza y que conlleva altos costos tanto económicos como sociales (6), situación que justifica la búsqueda de nuevos tratamientos no-invasivos con una mejor relación costo-efectividad. En este sentido, mediadores lipídicos recientemente descubiertos -entre los que se encuentran

resolvinas, protectinas y maresinas- han demostrado ser capaces de reducir la infiltración inflamatoria, favorecer la fagocitosis de detritos celulares y la regeneración del tejido, además de tener efectos analgésicos y antiinflamatorios (7). Debido a lo anterior, en particular a lo relativo sobre su rol en la inflamación, estos se podrían asociar a la acción de los macrófagos residentes del hígado o células de Küpffer, componentes inmunes cruciales que, en el microambiente inflamatorio sostenido que caracteriza al desarrollo la cirrosis crónica, expresan un fenotipo M1 (proinflamatorio) que estos mediadores lipídicos serían capaces de modificar hacia un fenotipo M2 (pro-resolutivo o inmuno-modulador), que regula procesos de reparación tardíos, resolución de la inflamación e inducción de la tolerancia inmune, pasos relevantes en el comienzo de la regeneración del tejido.

III. Objetivos

3.1. Objetivo general:

Describir la posible modulación del fenotipo macrofágico M1/M2 por mediadores lipídicos derivados de ácidos grasos omega-3 en el contexto de la enfermedad hepática crónica por medio de un análisis crítico de la literatura.

3.2. Objetivos específicos:

- 3.2.1. Caracterizar a los mediadores lipídicos derivados de ácidos grasos omega-3.
- 3.2.2. Precisar los mecanismos de activación clásico y alternativo del macrófago en un contexto de hepatopatía crónica.
- 3.2.3. Relacionar a los mediadores lipídicos de ácidos grasos omega-3 con la modulación del fenotipo macrofágico M1/M2 en el contexto de la evolución de una hepatopatía crónica.

IV. Metodología de Búsqueda

Se realizó una revisión bibliográfica de la información disponible sobre el efecto de los mediadores lipídicos de ácidos grasos omega-3 en la modulación del fenotipo macrofágico M1/M2 en el contexto de enfermedad hepática crónica. Para esta búsqueda, se consultó en revistas que cumplen criterios de calidad y que son indexadas en bases de datos como Scopus, Scielo, Web of Science y PubMed, tanto en inglés como en español. Los conceptos buscados fueron asociaciones entre los siguientes términos: *omega-3, fatty acids, metabolism, functions, mediators, omega-6, omega-9, PUFA y MUFA, DHA, EPA, cardioprotection, chronic hepatic disease, fibrosis, SPM, specialized pro-resolving mediators, maresin, MAR1, resolvins, RvD1, protectins, resolution, macrophage, polarization, Küpffer cells, Hepatocellular carcinoma, HCC, cirrosis, liver failure, M1 phenotype, M2 phenotype, protective effects, inflammation, inflammatory infiltrate*, entre otros. En cuanto a las búsquedas en las bases de datos, estas fueron filtradas por fecha de publicación y fueron seleccionados, en su mayoría, estudios publicados en los últimos diez años.

V. Marco Teórico

5.1. Hígado

La enfermedad hepática crónica es toda aquella afección de larga data que impida el funcionamiento normal del hígado. El daño hepático crónico es una importante causa de mortalidad en el mundo, siendo la 11^{ava} causa de muerte más frecuente, con aproximadamente dos millones de muertes por año (8). Las etiologías de esta enfermedad son variadas; en Chile la principal causa es el consumo de alcohol, cuyo desenlace más frecuente es la cirrosis, a la que se le atribuye un 50% del total de muertes por enfermedad hepática crónica. Otras etiologías frecuentes son la hepatitis viral -actualmente considerada la causa más frecuente de enfermedad hepática crónica- (9) y la enfermedad del hígado graso no alcohólico, siendo esta la enfermedad hepática más frecuente en la orbe, con un importante aumento en los últimos años debido al incremento de casos de diabetes y obesidad, enfermedades predisponentes para el desarrollo de esta (10). Por lo anterior, la prevalencia mundial de la enfermedad del hígado graso no alcohólico se encuentra en aumento, siendo actualmente 25%, con América del Sur como el continente con la mayor prevalencia (11), mientras que Chile, similar a la realidad universal, tiene una prevalencia del 23% (12). Cualquiera sea la etiología, las enfermedades hepáticas crónicas pueden evolucionar-en primer lugar, hacia cirrosis- para luego desarrollar hepatocarcinoma celular, neoplasia que actualmente corresponde a la sexta más frecuente a nivel mundial y a una de las principales causas de muerte por cáncer (13).

5.1.1 Morfología hepática

El hígado es un órgano ubicado en la cavidad abdominal, inferior al diafragma y anterior al estómago, riñón derecho y páncreas, ocupando gran parte de su masa la región hipogástrica

e hipocondrio derecho. Sus funciones son variadas y complejas, entre estas encontramos: secreción plasmática de diversas proteínas, reservorio energético, metabolismo lipídico y xenobiótico, facilitación de la digestión de alimentos, excreción de productos de degradación a través de la bilis y eliminación de bacterias del flujo sanguíneo proveniente del sistema gastrointestinal. En este sentido, la anatomía del hígado es única, teniendo una irrigación sanguínea doble, donde el 75% del flujo proviene de los intestinos, por medio de la arteria porta-hepática, siendo el resto aportado por la arteria hepática propia, la cual es una ramificación del tronco celiaco (14). El modelo más usado para describir la microarquitectura hepática es la forma lobulillar (*Figura 1*). En este, los lobulillos presentan forma hexagonal, encontrándose en su centro la vena hepática central o terminal, y en cada vértice los espacios portales, conformados por un canalículo biliar, una ramificación de la arteria hepática y una de la vena hepática portal. En este hexágono, los hepatocitos se ubican en forma radial a la VC, formando las láminas trabeculares, las cuales se encuentran separadas de los sinusoides por el espacio de Disse, el cual contiene componentes de la ECM. Además, entre trabéculas, se forman canalículos biliares cuyo contenido fluye hacia los espacios portales, en forma opuesta al sentido del flujo sanguíneo (5). En cuanto a los tipos celulares constituyentes del hígado, encontramos al parénquima que está compuesto por hepatocitos (los cuales son encargados de la mayoría de las funciones de este órgano). Los hepatocitos son células de aspecto cúbico, cuya membrana basolateral presenta microvellosidades que se extienden por el espacio de Disse hacia el sinusoides, permitiéndole entrar en contacto con el flujo sanguíneo, mientras que su membrana apical da hacia el canalículo biliar. Por otro lado, entre las células no parenquimatosas, se encuentran las células endoteliales del capilar sinusoides (SEC), las células de Küpffer (KC) y las células estrelladas hepáticas (HSC). Las KC, son macrófagos residentes ubicados en el espacio de Disse responsables de remover células sanguíneas viejas o dañadas, bacterias, virus, parásitos y células tumorales. Son reactivas ante los estímulos del medio, por lo que, ante la generación de daño e inflamación, comienzan a secretar citoquinas, óxido nítrico (NO) e interferón (INF). Por su parte, las HSC son un reservorio de vitaminas, particularmente vitamina A, y moléculas de almacén energético. Ante estímulos inflamatorios, son capaces de adquirir un fenotipo miofibroblastoide productor de colágeno. En conjunto, estas células tienen un rol importante en los procesos inflamatorios, regenerativos y resolutivos del hígado (14, 15).

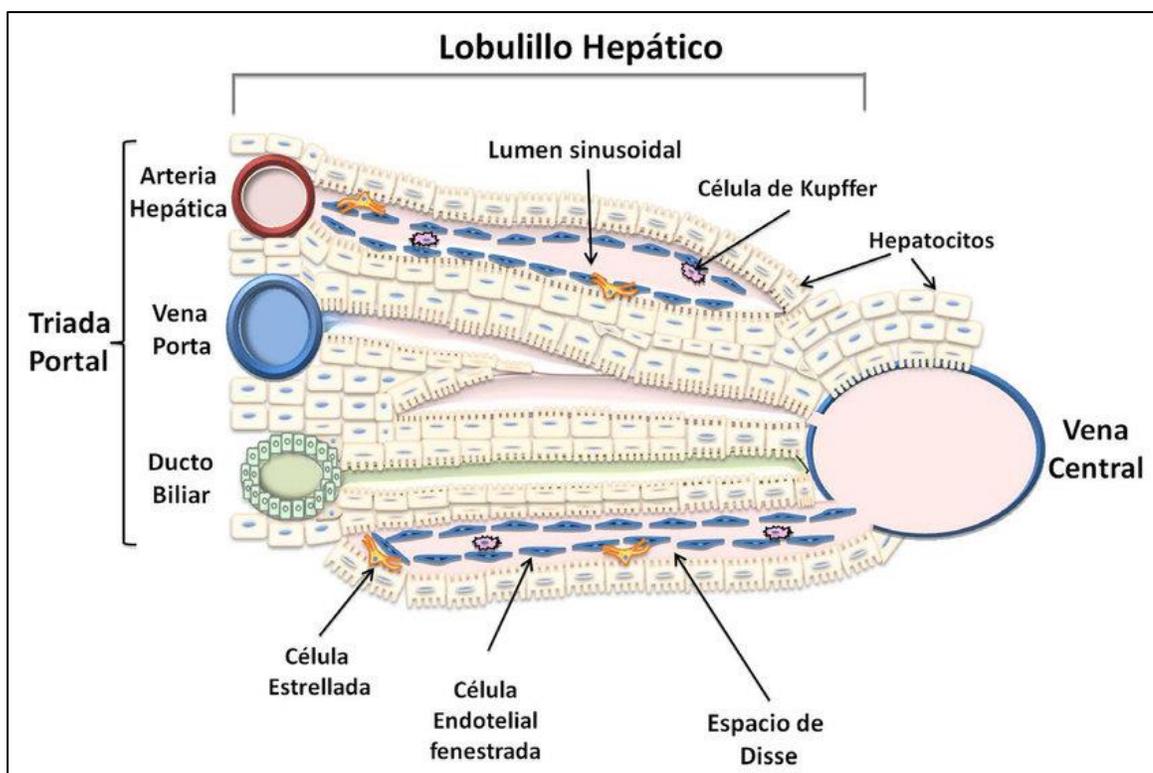


Figura 1: Estructura tridimensional del lobulillo y sinusoide hepático. Los hepatocitos se organizan en capas celulares y entre estas se encuentran los sinusoides, los cuales son recubiertos por células endoteliales fenestradas. Las células de Küppfer se encuentran en el lumen sinusoidal, mientras que las células estrelladas se ubican en la periferia de este. Tomado y adaptado de (Coello, B) 2017 (16).

5.1.2. Fisiopatología hepática

Los hepatocitos son células altamente resistentes a las variaciones de su medio. Son capaces de sufrir una serie de cambios reversibles, entre los que se cuentan la acumulación de grasa o esteatosis y la de bilirrubina, también llamada colestasis. Sin embargo, cuando el daño supera los mecanismos homeostáticos del hepatocito, este entra en muerte celular, pudiendo esto ocurrir por necrosis o apoptosis. En el caso de la necrosis, los hepatocitos “estallan” por pérdida de la integridad de su membrana, liberándose el contenido celular y atrayendo consigo macrófagos y otras células de la respuesta inmune innata. Esto suele ocurrir ante hipoxia y daño por especies reactivas de oxígeno (ROS). La apoptosis, por otro lado, es un fenómeno más organizado y puede ocurrir tanto en lesiones isquémicas, como en

hepatitis crónicas y agudas, dependiendo principalmente de la intensidad del daño y la forma en la que la célula se ve afectada (16). Entre las principales etiologías del daño hepático se encuentran: ***i) Hepatitis víricas:*** comprenden aquellas infecciones ocasionadas por una serie de virus hepatotropos de diversas familias clasificados de la A a la E, donde las variedades B y C se encuentran comúnmente asociadas un desarrollo de crónico de la enfermedad y a una transmisión parenteral, mientras que las variedades A y E suelen ser de desarrollo agudo y de transmisión enteral (14); ***ii) NAFLD:*** comprende un conjunto de trastornos metabólicos que generan esteatosis en los hepatocitos de pacientes que no consumen alcohol en cantidades considerables. Se ha asociado principalmente al padecimiento de síndrome metabólico debido a la dieta y a diabetes, donde la resistencia a la insulina genera acumulación de grasa con lesión oxidativa hepática que termina llevando a una necrosis del parénquima. Su forma más severa y avanzada, caracterizada por infiltración inflamatoria y daño hepatocelular con o sin fibrosis, pasa a denominarse esteatohepatitis no alcohólica (NASH, del inglés *Non-alcoholic steatohepatitis*)(17); ***iii) Hepatopatía alcohólica:*** Se presenta en pacientes que consumen alcohol con frecuencia y en cantidades considerables. En este tipo de lesión, se acumulan gotículas de lípidos al interior de los hepatocitos por aumento del acetaldehído derivado del alcohol, lo cual induce la peroxidación de los lípidos y la formación de aductos entre acetaldehído y proteínas, aumento de ROS, reducción del glutatión, causantes, como conjunto, de un daño irreversible en la célula (14); ***iv) Hepatocarcinoma (HCC):*** el tumor primario más frecuente del hígado. Los hepatocitos sufren una transformación maligna que les permite evadir la muerte celular y multiplicarse en forma descontrolada, invadiendo y disminuyendo la cantidad de tejido funcional. Como factores desencadenantes de esta transformación se encuentran mutaciones heredadas o adquiridas por exposición a elementos carcinogénicos, infección por el virus de la hepatitis B y cirrosis, la cual es, a su vez, consecuencia del daño hepático crónico (18). En cuanto al tratamiento de la enfermedad Hepática Crónica, actualmente se puede clasificar las terapias farmacológicas en cuatro tipos: ***i) medicamentos de target metabólico*** como inhibidores de la lipogénesis y agentes reductores de lípidos ***ii) medicamentos relacionados al estrés oxidativo/inflamación*** por ejemplo el uso de antioxidantes ***iii) medicamentos moduladores de la interacción intestino-hígado***, como medicamentos anti obesidad y ***iv) medicamentos anti fibróticos*** enfocados en la prevención y disminución de la fibrosis. (19). A pesar de lo anterior, considerando la variedad etiológica y multifactorial de esta enfermedad, en la actualidad no

existe una terapia farmacológica definida en su totalidad para la enfermedad hepática crónica, por lo que es imperante continuar con los estudios en esta materia

5.1.2.1. Mecanismos de generación de enfermedad hepática crónica

Cuando una cantidad considerable de tejido se necrosa, el espacio donde debiese haber hepatocitos es reemplazado por detritos celulares, las citoquinas inflamatorias derivadas de este proceso atraen a polimorfonucleares (PMN) y activan a las HSC, haciéndoles adquirir un fenotipo miofibroblastoide que aumenta su proliferación y fibrogénesis y causa la pérdida de los retinoides que almacena la célula en su estado basal (20). En condiciones normales, la ECM del espacio de Disse está compuesta por colágenos tipo I, III y IV, fibronectina, laminina, heparán sulfato y dermatán sulfato. Al prolongarse el estímulo nocivo, la producción de las HSC empieza a alterar las proporciones de estas fibras, pudiendo llegar a aumentar de tres a cinco veces la cantidad total de matriz colágena y no colágena, y aumentando la proporción de colágenos tipo I y II, además de fibronectina. Esta alteración favorece la disfunción del tejido, ya que en condiciones normales, estos componentes de la ECM interactúan con las células vecinas, siendo capaces de regular su forma, motilidad, supervivencia, diferenciación y expresión génica (21). Esta producción desmedida de ECM evoluciona a tabiques fibrosos cuando el daño es cuantioso, lo que adquiere importancia en las hepatopatías crónicas, donde estos tabiques terminan por rodear a nódulos de hepatocitos en regeneración formando una cicatrización difusa o cirrosis. Así, puede considerarse la fibrosis como un indicador de la extensión del daño crónico, pudiendo esta resultar en hipertensión portal e insuficiencia hepática, que es cuando el hígado no es capaz de mantener estable su homeostasis debido a una caída drástica del tejido funcional (14) .

5.2. Ácidos grasos

Los ácidos grasos (FA, del inglés *fatty acids*) son moléculas de naturaleza lipídica que cumplen diversas funciones en el organismo. Químicamente, corresponden a cadenas hidrocarbonadas con un grupo carboxilo en un extremo y un grupo metilo en el otro (22). Estos pueden ser adquiridos por la dieta o bien sintetizados *de novo*. Sin embargo, la ausencia de algunas enzimas en las células humanas hace imposible sintetizar todos los tipos de FA desde cero, por lo que, en algunos casos, su adquisición se encuentra limitada a la ingesta. A estos últimos se los conoce como FA esenciales. Los FA son utilizados para la síntesis de otras biomoléculas, como los fosfolípidos y los triglicéridos, cumpliendo funciones estructurales y de almacenamiento, respectivamente. Estructuralmente, en forma de fosfolípidos, conforman la membrana celular, variando su rigidez y grosor en base a las características de estos, así como también los canales, enzimas y receptores asociados a esta. Son capaces de asociarse a proteínas, como ocurre en el caso de las lipoproteínas, principales transportadoras de lípidos en el suero, y también circulan por la sangre como moléculas libres, aunque en menor cantidad. Una de las principales funciones de los FA es como reservorio de energía, siendo almacenados los excesos en el tejido adiposo (23).

La nomenclatura de los FA se encuentra definida por la IUPAC (del inglés, *International Union of Pure and Applied Chemistry*) de acuerdo con características como: presencia de ramificaciones, dobles enlaces (insaturaciones) y número de carbonos. Ciertos FA de importancia biológica se les llama según la nomenclatura omega, donde se les nombra en base a la ubicación de la primera insaturación a partir del carbono en el extremo metilo (carbono “omega” terminal), dando lugar a denominaciones como omega-9, omega-6 y omega-3. En relación con el largo de los FA, durante su síntesis, los carbonos de la cadena alifática son agregados de par en par, por lo que la mayoría de los FA presentan un número par de carbonos, siendo los más comunes aquellos con 16 y 18 carbonos (oleico y linoleico, por ejemplo) y muy escasos aquellos menores a 14 carbonos (de cadena corta) o superiores a 22 carbonos.

De acuerdo con la presencia o ausencia de dobles enlaces en su cadena hidrocarbonada, los FA pueden clasificarse como saturados, cuando entre los carbonos de la cadena solo hay enlaces simples, e insaturados, en el caso de tener uno o más enlaces dobles. En este sentido, cuando presentan sólo un enlace doble se denominan MUFA (del inglés, *monounsaturated fatty acids*) y si presentan más de uno, pasan a llamarse poliinsaturados (PUFA, del inglés *polyunsaturated fatty acids*) (22). Un aspecto que resulta importante en la estructura de estos últimos es la forma en la que se orientan los hidrógenos unidos a los carbonos del doble enlace. Estos se pueden encontrar en el mismo lado de la molécula, es decir, en configuración *cis*, o en lados opuestos, denominándose *trans*. En el caso de *cis*, esto genera un cambio en la orientación de los carbonos, dándole una curvatura a la cadena que le hace ocupar un mayor espacio. Esta característica afecta la fluidez de las membranas plasmáticas, confiriéndoles mayor fluidez cuanto mayor sea su contenido de FA en configuración *cis* (23).

5.2.1. Ácidos grasos monoinsaturados

Entre los FA más nombrados, omega-9, a diferencia de omega-3 y 6 que presentan más de una insaturación, son clasificados como MUFA. El principal exponente de este grupo de grasas es el ácido oleico (AO). Este FA se encuentra presente en el aceite de oliva, ampliamente utilizado en la dieta mediterránea, la cual ha mostrado beneficios metabólicos en relación a enfermedades como la diabetes mellitus, prevención de eventos cardiovasculares, entre otros (24). Adicionalmente, existen evidencias que muestran que el AO tiene efectos protectores frente eventos de sepsis y generación de radicales libres (25).

5.2.2. Ácidos grasos poliinsaturados

Dentro de los PUFA, destacan por su importancia biológica aquellos de cadena larga, que son moléculas de 20 a 22 átomos de carbonos sintetizados en el cuerpo a partir de PUFA precursores como el ácido α -linolénico (ALA) y el ácido linoleico (LA), los cuales son

considerados compuestos esenciales que deben adquirirse mediante la dieta desde fuentes alimentarias que se describen en la *Tabla 1* (26) y que, además, según el sistema de nomenclatura omega, serían representantes de los omega-3 y omega-6, respectivamente. La producción de PUFA de cadena larga, sin embargo, no es muy eficiente, por lo que se deben suplementar parcialmente en la dieta. Entre estos, se encuentran el ácido eicosapentaenoico (EPA), el ácido docosahexaenoico (DHA) y el ácido araquidónico (AA). Los PUFA más comunes se presentan en la *Tabla 1*.

Tabla 1: PUFA más comunes y los alimentos que las contienen. Tomado y adaptado de (Saini RK, 2018) (27).

Nombre común	Nombre sistemático	Nomenclatura omega	Fuente alimentaria
LA	ácido linoleico	18C:2 n-6	Aceites vegetales, frutos secos, cereales, grasa animal
ALA	ácido α -linolénico	18C:3 n-3	Vegetales, linaza, frutos secos, chía, canola
ARA	ácido araquidónico	20:4 n-6	Carnes, lácteos, huevos
EPA	ácido eicosapentaenoico	20C:5 n-3	Salmón, trucha, sardinas, algas
DHA	ácido docosahexaenoico	22C:6 n-3	Salmón, anchoas, atún, algas

5.2.2.1. Ácidos grasos omega-6

Omega-3 y omega-6 pertenecen a la familia de los PUFA. La diferencia entre estos compuestos recae en la posición del último doble enlace más cercano al grupo metilo final de la molécula (28). Los PUFA omega-6 son sintetizados a partir de LA y su metabolismo genera el AA que a su vez, genera productos de tipo eicosanoide como prostaglandinas (PG), tromboxanos (TX) y leucotrienos (LT), que se han visto relacionados a procesos patológicos de tipo inflamatorio y neoplásico (29) (*Figura 2*) El carácter proinflamatorio de estas

moléculas se relaciona a su acción quimiotáctica, con el consecuente reclutamiento de neutrófilos y secreción de sustancias como citoquinas y mediadores crónicos de inflamación entre las que destacan las interleucinas (IL) como IL-1 β , IL-6, IL-8 y TNF- α (del inglés, *Tumoral Necrotic Factor*) (30). Estas citoquinas a su vez aumentan la permeabilidad vascular reclutando inmunoglobulinas, fracciones del complemento y en consecuencia activan linfocitos, exacerbando la reacción inflamatoria (31). Si bien los eicosanoides derivados del AA son de carácter proinflamatorio, estos también tienen importantes roles en la regulación, promoción y resolución de la inflamación como respuesta del sistema inmune, actuando como moléculas homeostáticas en este proceso (32).

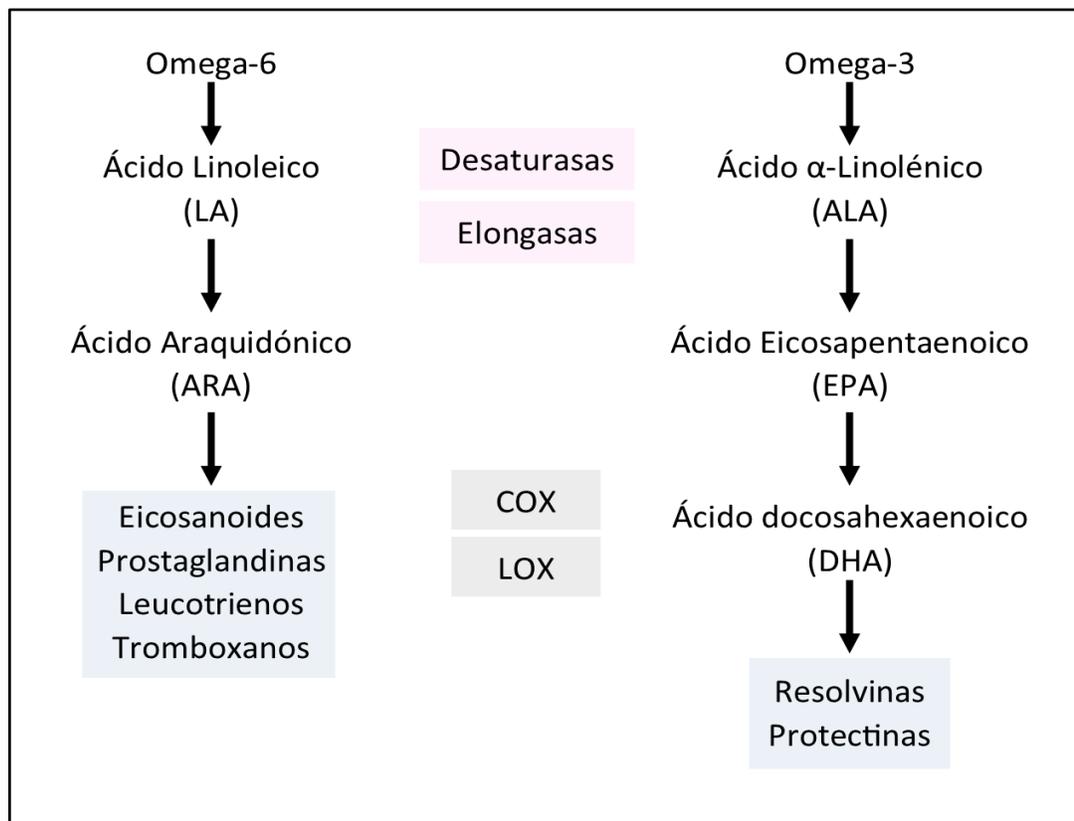


Figura 2: Vías metabólicas de los omega-3 y omega-6. Los omega-3 y omega-6 son metabolizados por enzimas desaturasas y elongasas, generando compuestos como el AA y el EPA, precursores que al ser metabolizados por las enzimas COX y LOX dan origen a moléculas de carácter proinflamatorio (eicosanoides, PG, LT, TX) y antiinflamatorio (resolvinas, protectinas), respectivamente. Tomado y adaptado de (Fabian, C) 2015 (1).

5.2.2.2. Ácidos grasos omega-3

El estudio de los omega-3 data desde los inicios de la década de los 60. Los investigadores daneses Bang y Dyerberg observaron que las personas nativas de Alaska, con una dieta alta en omega-3, derivado del consumo de carne de foca y pescado, presentaban una menor incidencia de enfermedades cardiacas (33). Este estudio inició a una serie de investigaciones en las que se presentó la importancia y los beneficios de este tipo de grasas en la dieta. Los omega-3 se encuentran en 3 principales formas: ALA (18C:3 n-3), EPA (20C:5 n-3) y DHA (22C:6 n-3). En los alimentos, encontramos EPA y DHA en pescados como el salmón, atún o algas, mientras que aceites vegetales, chía y frutos secos son los principales alimentos con alto contenido de ALA (18C:3 n-3) (34). Diversos estudios muestran la importancia de mantener el consumo omega-6/omega-3 en una proporción entre 1/1 a 4/1, se debe considerar que la dieta occidental promedio, basada fuertemente en el consumo de carnes y grasas animales, posee una proporción aproximada de 16/1 en a lo que el consumo de omega-6 y omega-3 se refiere (35). Se ha visto que esto tiene como consecuencia un aumento en el metabolismo de los PUFA omega 6, generando una mayor cantidad de mediadores metabólicos que, como se ha mencionado anteriormente, tienen propiedades proinflamatorias y neoplásicas (29).

5.2.2.2.1. Funciones biológicas de los omega-3

Estudios muestran que EPA y DHA disminuyen el daño oxidativo en el DNA de células endoteliales, reduciendo la concentración de peróxido de hidrogeno (H_2O_2) y de ROS a nivel intracelular. Estos hallazgos sugieren que los omega-3 tienen efectos protectores a nivel genético mediante mecanismos que reducen el daño al material genético sin promover la reparación de este (36). Basado en lo anterior, se ha visto que el consumo de omega-3 se relaciona con una mejora en la función endotelial asociada a un aumento de NO en las células endoteliales (37). De hecho, experimentaciones en ratones suplementados con omega-3 muestran una normalización en la disfunción endotelial inducida por la exposición al humo

del tabaco (38). Sumado a lo anterior, se ha observado que la administración de omega-3 posee funciones protectoras en el desarrollo de patologías, tanto en modelos murinos (39) como en pruebas clínicas (40), siendo EPA y DHA factores protectores tanto preventivos como terapéuticos, en las funciones que se detallan en los siguientes párrafos (ver *Tabla 2*).

Tabla 2: Funciones protectoras asociadas a los omega-3 y sus mecanismos.

PUFA involucrado	Mecanismo	Efecto	Modelo estudiado
DHA	Inducción de PPAR γ	Disminución de la respuesta inflamatoria	PMN humanos periféricos (41)
DHA	Inhibición de TLR4	Disminución de la respuesta inflamatoria	Monocitos murinos (42)
EPA	Disminución de potenciales de membrana	Enlentecimiento de los latidos	Cardiomiocitos de rata (43)
EPA/DHA	Disminución de ST2	Disminución de estrés en células miocárdicas	Suero de pacientes con CVE (40)
EPA/DHA	Inhibición de TGF- β 1 vía GMP/PKG	Disminución de la fibrosis miocárdica	Fibroblastos cardiacos murinos (39)
EPA/DHA	Disminución de los niveles de triglicéridos y aumento de HDL-C	Menor deposición de grasa en hígado	Modelo murino con dieta alta en grasas (44)

5.2.2.2.1.1. Modulación de la inflamación: Entre las funciones de EPA y DHA, encontramos que estos son capaces de modular factores de transcripción, regulando sus propias vías metabólicas (gluconeogénesis, por ejemplo) y otras vías asociadas, siendo ligandos inhibitorios de factores como NF- κ B (del inglés *nuclear factor kappa B*)- un importante factor de transcripción presente en la mayoría de las células, que regula en forma

positiva la supervivencia celular y respuestas inflamatorias agudas- e inductores de la superfamilia de receptores nucleares PPAR (del inglés *peroxisome proliferator-activated receptors*), que responden ante ligandos lipofílicos, y dependiendo del subtipo estimulado, favorecen el metabolismo lipídico (PPAR- α , PPAR γ), regulando las vías inflamatorias en macrófagos (PPAR γ , PPAR- δ/β) (41). Lo anterior resulta relevante en respuestas inflamatorias ante patógenos, donde ciertos patrones moleculares, como el LPS (lipopolisacárido) es reconocido por receptores TLR4 (del inglés, *Toll-like-receptor-4*), presentes en células de linaje mielóide e incluso en células no inmunes, generando una cascada que causa la traslocación nuclear de NF- κ B, produciendo disfunción endotelial en células mesenquimales y respuesta inflamatoria en células inmunes, lo que es característico de procesos sépticos (45). En este sentido, se ha observado que la activación de TLR4 y NF- κ B por la fracción lipídica del LPS, compuesta por FA saturados, se ve reducida en presencia de EPA y DHA (42), lo que marcaría su posible importancia en la resolución y supervivencia a una sepsis. Asimismo, se ha observado que la administración de omega-3 en macrófagos (M Φ) activados por LPS, es capaz de disminuir la fosforilación de la vía MAPK (del inglés *Mitogen-activated protein kinases*) y de la vía JNK (del inglés *c-Jun N-terminal kinases*), proteínas que participan en la generación de mediadores inflamatorios y que utilizan como factor de transcripción AP-1 (del inglés, *activador protein 1*) (45).

5.2.2.2.1.2. *Funciones cardioprotectoras:* Además de los efectos antiinflamatorios, los omega-3 tienen características hipocolesterolémicas, hipotrigliceridémicas, antitrombóticas e hipotensoras (46). Por lo anterior, se les reconoce como potentes agentes cardioprotectores (47). En diversos estudios, se ha encontrado que una ingesta frecuente de omega-3, se relaciona con una disminución de eventos de falla cardíaca (CVE, del inglés *cardiovascular event*) y con una menor reincidencia en aquellos pacientes que ya habían sufrido uno, aumentando la supervivencia de estos (48, 49). En este sentido, entre los principales mecanismos postulados como causantes de este efecto protector se encontraría una capacidad antiarrítmica, derivada de la disminución de la excitabilidad de las células en presencia de omega-3 (49), esto ha sido probado tanto en modelos animales, donde la administración de omega-3 proporciona protección frente a CVE, como en modelos celulares (cardiomiocitos de rata) donde se demostró que la administración de EPA, incluso ante

moléculas inductoras de taquiarritmias como ouabaína o altas concentraciones de iones de calcio, era capaz de enlentecer los latidos cardiacos (43). Esta misma capacidad de regulación del impulso eléctrico podría tener efectos positivos protectores en otros órganos con características similares, como cerebro y músculo esquelético. Otra de sus funciones cardioprotectoras tiene relación con la supresión de la fibrosis miocárdica. Tras la generación de un CVE, el tejido no infartado sufre de una serie de cambios inflamatorios que se ven potenciados por la sobrecarga mecánica puesta sobre el tejido, estos llevan a una hipertrofia de los cardiomiocitos y a un aumento de la ECM (50). Tras la administración de omega-3 en pacientes con antecedentes de CVE, se ha observado una disminución de las citoquinas proinflamatorias, así como del biomarcador sérico ST2 (del inglés, *Suppression of tumorigenicity 2*), una versión soluble del receptor transmembrana de IL-33. ST2 es expresado en células del miocardio en respuesta a estrés, disfunción e incluso necrosis (50) y compite con su versión transmembrana por su unión a IL-33, antagonizando sus efectos cardioprotectores (disminuye la fibrosis, la hipertrofia y la apoptosis) (40). Finalmente, en modelos celulares de fibroblastos cardiacos, EPA y DHA son capaces de inducir a la vía cGMP/PKG (del inglés, *Cyclic guanosine monophosphate-dependent protein kinase*), la cual bloquea a TGF- β 1 (del inglés, *transforming growth factor β 1*), un importante receptor expresado en células cardiacas que es modulador positivo de la activación fibroblástica y potenciador de la deposición de colágeno en el extracelular (39).

5.2.2.2.1.3. Funciones hepatoprotectoras: En múltiples estudios se ha observado que los omega-3 y omega-6 tienen acciones protectoras sobre el desarrollo de patologías crónicas hepáticas, por ejemplo, ratones transgénicos capaces de producir estos PUFA, se encuentran protegidos del desarrollo de hígado graso, hepatocarcinoma inducido por DEN (dietilnitrosamina) y NASH (51). Se ha observado que la ingesta de aceites de pescado ricos en EPA y DHA no lleva a un gran almacenamiento de triglicéridos en adipocitos, sino a una disminución de la grasa corporal total y de su acumulación a nivel hepático en modelos murinos (44), mientras que a nivel metabólico, conducen a un aumento en los niveles de HDL-C (lipoproteínas de alta densidad) y una disminución en los niveles sistémicos de triglicéridos, siendo esto explicado por su capacidad de regular la expresión de proteínas de vías lipogénicas. Además de la influencia de DHA-EPA en los perfiles lipídicos en el

desarrollo de hepatopatías, se ha observado que también sus roles antiinflamatorios juegan un papel importante, disminuyendo los niveles de proteína C reactiva, un marcador de inflamación producido en el hígado, además de disminuir los niveles de TNF- α e IL proinflamatorias como IL- β e IL-6 (52). Sin embargo, es importante tomar en consideración que los posibles beneficios de la ingesta de omega-3, son dependientes de la proporción omega-6/omega-3, cuyo aumento se ha relacionado con un aumento de la lipogénesis, el desarrollo de obesidad e incluso de NAFLD a largo plazo (44).

5.3. Mediadores derivados de lípidos

5.3.1. Mediadores lipídicos derivados de PUFA omega-6

El principal precursor de los mediadores lípidos derivados de los PUFA omega-6 es el AA. La síntesis de estos compuestos comienza con la enzima fosfolipasa A2, la cual libera las moléculas de AA desde la membrana lipídica para que luego las enzimas ciclooxigenasa (COX) y lipooxigenasa (LOX), tras una serie de reacciones, convierte el AA en eicosanoides, los cuales son moléculas lipídicas con actividad biológica entre las que se incluyen prostanoïdes, TX y LT (53). Específicamente, los eicosanoides más importantes son los prostanoïdes de tipo PG y TX que se obtienen por la acción de COX-1 (de tipo constitutiva) y COX-2 (de tipo inducible) y LT, que se producen por la acción de LOX sobre el AA. La importancia clínica de estas moléculas es que han sido asociadas en múltiples ocasiones a procesos patológicos como inflamación y cáncer (54). Las **PG** son moléculas fundamentales en la respuesta proinflamatoria ya que participan en el reclutamiento de PMN y monocitos promoviendo la vasodilatación y edema en el sitio de la inflamación (55). Particularmente, las PG junto con las prostaciclina actúan como moduladores tardíos de la inflamación, estimulando a los receptores de moléculas como la histamina y quinina, las cuales tienen un importante rol en el desarrollo y mantención del proceso inflamatorio (56). Además de su rol proinflamatorio, las PG participan en procesos como la división celular, la respuesta inmune y la regeneración de tejido, por lo que, a pesar de ser moléculas proinflamatorias,

estas son necesarias para la homeostasis general. Las isoformas constitutiva e inducible de COX actúan de forma similar en la síntesis de las PG. La principal diferencia entre estas dos enzimas radica en que COX-1 (constitutiva) cataliza la producción de PG necesarias para la mantención de la homeostasis y procesos fisiológicos, mientras que COX-2 (inducible por mediadores inflamatorios) sintetiza moléculas que aumentan la permeabilidad vascular y la vasodilatación y a su vez promueven la síntesis y migración de citoquinas al sitio de inflamación (57). Entre los **TX**, destaca TXA2 que participa en la hemostasia, generando un *feedback*-positivo que lleva a la agregación, cambio de forma y liberación de gránulos por parte de las plaquetas. Se caracteriza por tener actividad vasoconstrictora y ser un potente agente hipertensivo, teniendo esto implicancia además en inflamación, donde se ha encontrado que se genera una alta secreción de esta molécula, con la consecuente activación de sus cascadas señalizadoras, en tejido como endotelio y musculo liso (58). La síntesis de TXA2 ocurre en la mayoría de las células, pero se destacan tejidos como pulmón o riñón y las plaquetas. Una característica importante de TXA2 es que corresponde a una molécula evanescente, lo que significa que tiene una vida media muy acortada, de aproximadamente 30 segundos (59). Los **LT** son un grupo de moléculas que son sintetizados a partir del AA presente en la membrana de los leucocitos, por la acción exclusiva de LOX. Tienen diversas funciones, entre las que destacan la quimiotaxis, agregación y degranulación de PMN además de la estimulación de la adherencia de leucocitos a la pared endotelial durante la formación del infiltrado inflamatorio (56). LTB4, uno de los principales LT, promueve la producción de mediadores inflamatorios como superóxido y citoquinas mientras que LTC4, LTD4 y LTE4, que son producidos específicamente por eosinófilos y basófilos, contribuyen al proceso inflamatorio al producir constricción arterial e hipersensibilidad general (60).

5.3.2. Mediadores lipídicos derivados de omega-3

Los omega-3 han sido asociados con capacidad antiinflamatoria y protectora desde fines de los años 50. En un inicio, estas propiedades fueron atribuidas a un posible efecto supresor sobre la síntesis de eicosanoides derivados del AA. Sin embargo, estudios de los últimos 15 años evidencian la existencia mediadores lipídicos derivados de los omega-3 con poderes

resolutivos y amortiguadores de la inflamación, conocidos como resolvinas, protectinas y maresinas, los cuales han sido agrupados bajo el término SPM (del inglés *specialized proresolving mediators*) (61). Estas moléculas fueron aisladas por primera vez de exudados inflamatorios de modelos murinos y son producto de una serie de reacciones enzimáticas, donde EPA y DHA son metabolizados por las mismas enzimas COX y LOX que participan en el metabolismo del AA. Cabe destacar que estas enzimas tienen una mayor afinidad por el AA, por lo que se requieren altas concentraciones de EPA y DHA intracelular para su utilización (62).

5.3.2.1. Resolvinas

Entre los derivados de EPA, se encuentran las **Resolvinas** (Rv) de la serie **E**: RvE1 (*5S,12R,18R-trihydroxy-6Z,8E,10E,14Z,16E-EPA*) y RvE2 (*5S,18R-dihydroxy-6E,8Z,11Z,14Z,16E-EPA*). Su síntesis es iniciada en presencia de aspirina (ácido acetilsalicílico) la cual genera la acetilación la enzima COX-2 (*ver Figura 3*) que, en su estado nativo, es productora de PG (63). Esto último explica las acciones antiinflamatorias observables tras la administración de dicho medicamento. También pueden ser producidas de forma independiente de aspirina por medio del citocromo P450. Tienen potentes acciones bioactivas a bajas dosis -a diferencia de sus precursores y etapas intermediarias- lo que se evidencia en que la administración de tan solo 100 ng por ratón, es capaz de detener por sobre un 50 % la infiltración inflamatoria en un modelo murino de inflamación aguda (64). Además, otras de las acciones reportadas es promover la ingestión macrofágica de PMN, reducir el dolor inflamatorio y regular la actividad de leucocitos y plaquetas (64). Por otro lado, entre los derivados de DHA, se encuentran las Rv de serie D, cuya síntesis se describe en la *Figura 3*. Entre los efectos descritos para RvDs es posible referir que: i) **RvD1** (*7S,8R,17S-trihydroxy-4Z,9E,11E,13Z,15E,19Z-DHA*) (que posee además una forma inducida por aspirina denominada ATRvD1) es capaz de disminuir la migración a través del endotelio de PMN de forma dosis-dependiente, sin encontrarse diferencias significativas entre esta y ATRvD1. Se ha observado también que RvD1 induce la fagocitosis de zimosano (un glicano presente en la pared de levaduras que es usado en modelos inflamatorios) y de

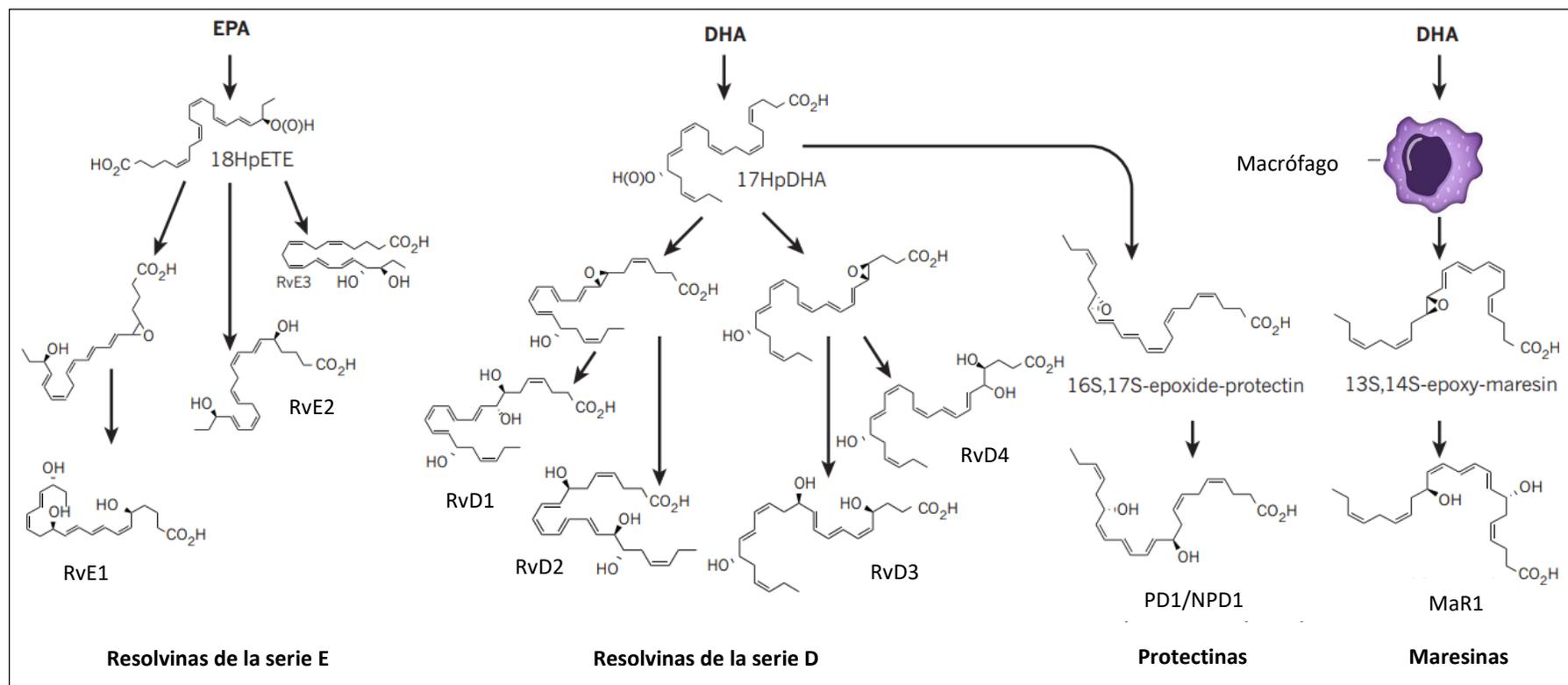


Figura 3: Vías de producción de los SPM. Las RvE, son producto de la oxigenación de EPA por COX-2 acetilada, lo que genera 18hpETE, el cual es reducido vía peroxidasa y tras una segunda lipooxigenación (5-LO) es transformado a epóxido, si este es hidrolizado, produce **RvE1** y si es reducido se genera **RvE2**. En el caso de las RvD, su síntesis es iniciada por la oxigenasa 15-LOX; el producto es luego reducido, y vuelve a ser oxigenado por 5-LOX, llevando a la formación de las Rv trihidroxiladas **RvD1** y **RvD2**, cuya oxigenación ocurre en el carbono (C)-7 -con generación de un epóxido que es luego hidrolizado. La formación del grupo **RvD3**, **RvD4** y **RvD6** ocurre si la oxigenación se produce en (C)-4. A partir de DHA, sobre el cual actúa la enzima 15-LOX, se forma un epóxido intermediario que es modificado enzimáticamente para formar **PD1/NPD1**. (64) La síntesis de **MaR1**, es iniciada en MΦ por la 14-lipooxigenación de DHA, cuyo producto forma luego el epóxido 13S,14S-epoxy-maresin que, tras una hidrólisis enzimática, genera el producto final (65). Tomado y adaptado de (Serhan, C) 2014 (55).

PMN apoptóticos, por medio de receptores de lipoxinas como ALX/FPR2 (del inglés, *N-formyl peptide receptor 2*) u otros receptores asociados a proteína G, como GPR32 (64), disminuyendo la polimerización de actina y afectando la adhesión, ambos fenómenos cruciales para la plasticidad mecánica de las células fagocíticas en inflamación.ii) **RvD2** (*7S,16R,17S-trihydroxy-4Z,8E,10Z,12E,14E,19Z-DHA*), por su parte, ha demostrado ser capaz de disminuir de manera importante la infiltración de PMN en modelos de peritonitis, a dosis tan bajas como 10 pg, posiblemente mediante la inducción de la producción de NO a nivel endotelial, lo cual sería un fenómeno de carácter focalizado. También redujo los niveles de citoquinas proinflamatorias y aumentó el *clearance* bacteriano en modelos de sepsis (64); iii) **RvD3** (*4S,10,17S-trihydroxy-5E,7E,9E,13Z,15E,19Z-DHA*), estudiado en modelos de peritonitis de ratón inducida por zimosano, disminuyó los recuentos de neutrófilos en el exudado inflamatorio (lo que se atribuye a una disminución de quimioattractantes) al igual que las cantidades de citoquinas y mediadores lipídicos proinflamatorios (LT, PG y TX). Cuando estos efectos fueron evaluados en un modelo de peritonitis murina de causa infecciosa, se observó que reducía los recuentos máximos de PMN, favoreciendo el *clearance* de PMN apoptóticos por MΦ y la fagocitosis bacteriana. Todos estos efectos fueron comprobados también en leucocitos humanos (66); iv) **RvD4** (*4S,5R,6E,8E,10Z,13Z,15E,17S,19Z-4,5,17-trihydroxyDHA*), tendría los mismos efectos que RvD3 (temporalmente más tardíos que sus contrapartes RvD1 y RvD2) en el *clearance* bacteriano, fagocitosis de PMN y en la producción de PG y LT. En este caso, además, se comprobó que tiene efectos inductores sobre fibroblastos humanos, aumentando su fagocitosis de PMN (67); v) **RvD5** (*7S,17S-dihydroxy-5Z,8E,10Z,13Z,15E,19Z-DHA*) es capaz de reducir el infiltrado inflamatorio tanto en modelos de peritonitis murina como en modelos de isquemia-reperfusión intestinal y colitis inducida por DSS (del inglés, *dextran sulfate sodium*), pero en esta última, no tuvo efectos significativos sobre los niveles de citoquinas proinflamatorias. Sus efectos son atribuidos a una reducción de la adhesión de leucocitos circulantes a nivel endotelial (68). Finalmente, vi) **RvD6** (*4S,17S-dihydroxy-5E,7Z,10Z,13Z,15E,19Z-DHA*), es una de las resolvinas con menor número de estudios a la fecha, reportándose efectos regenerativos en nervios y heridas corneales (69).

5.3.2.2. Protectinas

Dentro del grupo de eicosanoides encontramos a la Protectina (PD1) o Neuroprotectina (NPD1) (*10R,17S-dihydroxy-4Z,7Z,11E,13E,15Z,19Z-DHA*). Su denominación cambia dependiendo de donde ocurre su biosíntesis: el sufijo *neuro* (para formación de NPD1) es añadido cuando esta ocurre en células neurales y del ectodermo neural, mientras que PD1 es sintetizado principalmente en células inmunes (*Figura 3*) (70). Al igual que las resolvinas, tiene propiedades antiinflamatorias relacionadas a la disminución de la infiltración de PMN y leucocitos al exudado inflamatorio, y además limita la expresión de citoquinas de este tipo como IL-6. Sumado a lo anterior, PD1 disminuye el daño celular y a su vez, promueve la recuperación del tejido (71). Particularmente, PD1 ha sido relacionado a una disminución de la infiltración leucocitaria en modelos murinos de sistema inmune, cardiovascular y renal, mientras que NPD1 se ha estudiado en modelos de daño cerebral mediado por *stroke*, que se define como lesiones cerebrales asociadas a una interrupción de la irrigación sanguínea a este órgano y daños oculares donde ha mostrado una potente acción protectora de la retina y el cerebro, confiriéndole su carácter neuro-protector (65).

5.3.2.3. Maresinas

Por otra vía de oxigenación, que ocurre en MΦ y plaquetas (*Figura 3*), DHA puede dar lugar a la formación de maresina 1 (MaR1, *4Z,7R,8E,10E,12Z,14S,16Z,19Z-DHA*). Al igual que Rv y según lo descrito en estudios recientes dirigidos por Serhan *et al.*, (2012), esta molécula estaría involucrada en forma directa en la resolución, al tener efecto directo sobre los fagocitos. Fue descubierta en un modelo murino de inflamación, donde se observó la acumulación de un marcador metabólico indicativo de la biosíntesis de un mediador lipídico -hasta el momento desconocido- en el exudado inflamatorio peritoneal de ratón durante la fase resolutoria (72). La administración de estos marcadores metabólicos, directamente a MΦ tanto humanos como murinos, dio como resultado la producción y aislamiento del isómero MaR1 y se comprobó que su administración, tanto *in vivo* como *in vitro*, a concentraciones

muy bajas (0,2 ng/ratón), era capaz de disminuir la infiltración de PMN al sitio de la inflamación, así como aumentar la fagocitosis de PMN apoptóticos y zimosano, favoreciendo la resolución de esta y el *clearance* bacteriano (72). Estas acciones estarían relacionadas con un acortamiento de la fase de resolución de la inflamación y restauración de la homeostasis, ya que se reduce la entrada de nuevos PMN, a la vez que se limpia el área de detritos celulares. Esto protege además a las células remanentes, que se ven menos expuestas a estrés oxidativo y por tanto son capaces de mantener su homeostasis. En estudios posteriores (7), usando el mismo modelo murino de inflamación (peritonitis aguda), se volvió a demostrar que en cantidades muy reducidas (10 ng/animal) MaR1 reducía la infiltración de PMN en hasta un 80 %, mostrando un potente efecto agonista de la fagocitosis de células necróticas. También se evaluó su efecto en un modelo de regeneración tras resección quirúrgica en planarias (gusanos planos de vida libre cuyo cuerpo posee células pluripotentes que promueven una rápida regeneración), observándose que MaR1 aceleraba de forma significativa la regeneración, con características concentración-dependiente. Como otra variable importante derivada de los procesos inflamatorios, se tiene que, en neuronas sensitivas primarias, el receptor de potencial transitorio V1 (TRPV1, un mediador del dolor), y las corrientes generadas por este pueden ser bloqueadas por MaR1, demostrando, de acuerdo con este y otros modelos probados en este estudio, que esta molécula tendría efectos analgésicos y antiinflamatorios. Finalmente, los efectos de MaR1 superarían incluso, en algunos casos, a los producidos por otras moléculas pro-resolutivas cuyos efectos ya han sido probados, como la RvD1, lo cual abre la discusión de su eficacia en modelos más complejos y exhaustivos y su posible rol, a largo plazo, como tratamiento de enfermedades inflamatorias (7).

5.3.3. SPM en la enfermedad crónica

Las acciones pro-resolutivas de estos SPM han suscitado interés en la comunidad científica, especialmente su potencial uso terapéutico en enfermedades crónicas y agudas de diversa índole, debido a que aquellos desórdenes asociados a inflamación prolongada en el tiempo o fuera de control son los más difíciles de tratar. La evidencia actual indica que los SPM, especialmente en enfermedades crónicas donde existen un estado inflamatorio

prolongado, actúan sobre la resolución de la inflamación, acelerando el restablecimiento de la homeostasis de los tejidos mediante mecanismos como la inhibición de vías pro-inflamatorias, disminución de la infiltración leucocitaria, reducción de la apoptosis inducida por estrés, entre otros (73). En este sentido, sus efectos pro-resolutivos, antiinflamatorios y regenerativos han sido probados en diversos modelos (*Tabla 3*), entre ellos cardioprotectores, de aterosclerosis, regeneración corneal, isquemia-reperfusión, dolor inflamatorio, asma y esteatosis hepática (64).

Tabla 3: Acciones de los SPM y sus efectos en enfermedades crónicas (7, 64, 72, 74)

SPM involucrado	Acción	Posibles efectos en enfermedades crónicas
RvE1	Detener infiltración inflamatoria Promover ingestión macrofágica de PMN	Detención de fenómenos inflamatorios y potenciamiento de la resolución en áreas con infiltrado inflamatorio
RvD1	Reducir migración trans-endotelial de PMN Inducción de la fagocitosis de PMN apoptóticos	Potenciamiento de la resolución de la inflamación localizada
RvD2	Disminución de citoquinas proinflamatorias	Detención del <i>feedback</i> positivo que se genera en la inflamación prolongada en el tiempo
PD1/NPD1	Disminución de infiltrado inflamatorio	Potenciamiento de la resolución de la inflamación localizada
MaR1	Disminución de dolor inflamatorio Inducción de la fagocitosis de PMN apoptóticos Potenciamiento de la regeneración	Potenciamiento de la resolución y de la generación de nuevo tejido en áreas necróticas y/o fibróticas por daño inflamatorio prolongado en el tiempo

5.4. Inmunidad

5.4.1. Contexto

La inmunología, del latín *immunis* que significa exento, es una disciplina cuyos inicios se remontan al año 430 a.n.e. Se cree que el estudio de la inmunología surge con la observación de protección frente a una segunda infección en enfermedades y plagas de la época. El sistema inmune es el principal mecanismo de defensa del organismo contra agentes nocivos. Esta respuesta inmune puede ser del tipo innata, siendo una respuesta inespecífica o bien del tipo adaptativa, con una respuesta altamente específica. El sistema inmune responde de formas distintas a los diferentes microorganismos, pudiendo ser estos bacterias, hongos, virus o parásitos, principalmente.

5.4.1.1. Rol fisiológico

En términos generales, el mecanismo del sistema inmune se basa en la coordinación entre sus componentes, siendo especialmente relevantes las células que participan en este proceso (ver *Tabla 4*). Uno de los tipos celulares más importantes son los leucocitos. Morfológicamente, son células que presentan un amplio espectro de antígenos glicoproteicos diferenciadores en su membrana, conocidos como antígenos de diferenciación, (CD, del inglés *Cluster of differentiation*) (75). Los leucocitos maduros provienen de la diferenciación de células hematopoyéticas pluripotenciales de médula ósea (MO) que progresan hacia células progenitoras de las líneas mieloides o linfoides. En este punto, las células progenitoras linfoides dan origen a cuatro grandes poblaciones de linfocitos maduros: células B (LB), células T (LT), células *natural killer* (NK) y células NK-T, las cuales son células T que expresan en su membrana el marcador asociado a NK, CD161 (76). Por otro lado, las células progenitoras mieloides dan origen a células de la línea granulocítica, megacariocitos, plaquetas y eritrocitos.

Tabla 4: Principales componentes celulares del sistema inmune. Tomado y adaptado de (Abbas, 2017) (77)

Morfología	Tipo celular	Origen	Funciones
	Neutrófilos (PMN)	Derivados de MO	Fagocitar y destruir en su interior células necróticas y agentes infecciosos en una reacción rápida y de corta duración. Liberan sus gránulos (degranulación) con lisozimas, colagenasas y elastasas y crean trampas extracelulares (NET) para destruir agentes en zonas localizadas. Migran por quimiotaxis.
	Fagocitos mononucleares	Circulantes derivados de MO y residentes en tejidos derivados de <i>stem cells</i> fetales	Reacciones más lentas y prolongadas para fagocitosis y destrucción lisosomal de agentes infecciosos, células necróticas o apoptóticas y detritos celulares. Producción de citoquinas. Migran por quimiotaxis. Los residentes tienen funciones especializadas según el órgano. Presentan antígenos. Promueven la reparación del tejido estimulando angiogénesis y producción de ECM.
	Células dendríticas (DC)	Derivadas de MO	Principales presentadoras de antígenos (expresan un gran número de TLR). Secretan citoquinas e IFN, las cuales inician el reclutamiento de leucocitos.
	Mastocitos (MC)	<i>Stem cells</i> en tejidos conectivos o mucosas	Hacen de centinelas en epitelios y mucosas. Tras activarse, se degranulan liberando enzimas proteolíticas y aminas vasoactivas, que destruyen bacterias y aumentan la capilaridad vascular, aumentando el reclutamiento de otras células inmunes. Secretan mediadores lipídicos y citoquinas.
	Linfocitos	Derivados de MO	Regulan un muy amplio rango de funciones de la inmunidad innata y adaptativa, dependiendo del subtipo de linfocito. Estimulan la inflamación, activan o suprimen a otras células, secretan anticuerpos y citoquinas. Destruyen células infectadas y tumorales.

Las células de la línea granulocítica tienen importantes roles en el sistema inmune. En este grupo de células encontramos a los neutrófilos, monocitos, MΦ, eosinófilos, basófilos, y mastocitos (*Tabla 4*), cuya función inmune se basa en la producción de moléculas inmunológicamente activas, como en el caso de los neutrófilos que producen cantidades considerables de ROS, los cuales son citotóxicos para bacterias patógenas. Además de lo anterior, los neutrófilos juegan un importante rol en la reparación del tejido y en la producción de quimioquinas y citoquinas como TNF y IL-12, promoviendo la activación de células colaboradoras del sistema (78). Los monocitos y MΦ son células que tienen función fagocítica contra agentes patógenos y partículas externas. Estas células llegan a la zona de infección/inflamación tras ser reclutados por los neutrófilos y permanecen en estos sitios por largos periodos. Al igual que los neutrófilos, secretan citoquinas como IL-12 e IFN-γ con las cuales potencian la respuesta inmune y moléculas citotóxicas como NO con la cual ejercen su acción patógeno-destructora. Dependiendo de las señales activadoras que reciban en su proceso de diferenciación, los MΦ pueden adoptar dos distintos fenotipos, de los cuales se hablará más en detalle en las siguientes secciones (79). Otra de las líneas celulares de gran importancia es la línea de los LT, los cuales identifican y destruyen células infectadas y fragmentos peptídicos de los antígenos recolectados por las células presentadoras de antígenos (APC) que realizan su función en conjunto con complejos de histocompatibilidad (MHC, del inglés *Major histocompatibility complex*, antígenos glucoproteicos), los cuales se expresan en la gran mayoría de las células nucleadas y se encargan de presentar los antígenos externos para que sean reconocidos por LT. Particularmente MHC clase I es reconocido por LT citotóxicos CD8+, mientras que MHC clase II es reconocido por LT CD4+. En ambos casos, el reconocimiento de estas estructuras conlleva a la activación de estos LT, desencadenando una respuesta inmune (80).

5.4.1.2. Linfoquinas y quimioquinas

Las linfoquinas y quimioquinas son moléculas pertenecientes a la familia de las citoquinas, las cuales son proteínas que participan y regulan la comunicación intercelular, proliferación y diferenciación celular, quimiotaxis, entre otros (ver *Tabla 5*).

Tabla 5: Funciones de las principales citoquinas. Tomado de (Turner, 2014) (81).

	Citoquinas	Efectos	Síntesis
Citoquinas Proinflamatorias	IL-1	Acción pirógena en respuesta a estímulos microbianos. Genera la activación de LT-helper (LTh)	
	TNF- α	Estimulación de proteínas de fase aguda	
	IL-6	Acción pirógena. Genera la síntesis de proteínas de fase aguda	PMN M Φ
	IL-8	Activación de neutrófilos gracias a características quimiotácticas	
	IL-12	Activación de LTh y estimulación de citotoxicidad por células T citotóxicas y células NK	
Citoquinas de Inmunidad Celular	IFN- γ	Diferenciación de LTh y activación de DC y M Φ	LT NK LTh
	IL-2	Proliferación de subpoblaciones linfocitarias mediante liberación de factores de crecimiento para células T	
Citoquinas de Inmunidad Humoral	IL-4	Acción antiinflamatoria. Bloqueo de síntesis <i>de novo</i> de citoquinas	LB Mastocitos Eosinófilos M Φ
	IL-5	Estimulación de crecimiento de células B. Aumento de la síntesis de inmunoglobulinas y activación de eosinófilos	
	IL-10	Acción antiinflamatoria. Inhibición de la síntesis de citoquinas proinflamatorias por parte de LT y M Φ	
	IL-13	Modulación de la síntesis de citoquinas proinflamatorias. Estimulación de la diferenciación de células B	
Citoquinas Homeostáticas	Factores estimulantes	Proliferación y diferenciación de células precursoras de líneas celulares.	Células estromales

Las citoquinas son producidas por diversos tipos celulares donde destacan los linfocitos, M Φ activados, PMN, células endoteliales epiteliales y adipocitos. De acuerdo con sus características, existen citoquinas quimiotácticas o quimioquinas; estas moléculas participan en la activación y reclutamiento de leucocitos circulantes hacia los sitios de lesión, y cumplen

funciones en la coordinación de procesos inflamatorios, vigilancia y memoria del sistema inmune, inflamación y regulación del ciclo celular (82). De acuerdo con su acción efectora, las citoquinas se pueden clasificar en cuatro distintas categorías, descritas en la *Tabla 5*.

5.4.1.3. Rol fisiopatológico

La inflamación es un mecanismo de defensa natural del cuerpo que en condiciones fisiológicas normales involucra a neutrófilos y monocitos, los cuales migran a la zona de infección por un tiempo determinado. Esto es conocido como inflamación aguda, y se da estrictamente en respuesta a eventos patógenos. En contraste, existe la inflamación crónica donde son los MΦ y linfocitos los que actúan en conjunto con moléculas como IL-1β, IL-6 y TGF-β (83). Relacionado a lo anterior, la desregulación IL-6, una de las principales citoquinas proinflamatorias, se ha asociado a inflamación crónica y desordenes autoinmunes mediante la activación de la vía JAK/STAT3 (del inglés, *Janus Kinasa/ Signal transducer and activator of transcription 3*), promoviendo la proliferación de rutas patológicas en enfermedades como cáncer y Alzheimer (84). Otra molécula de interés es IL-23, que al igual que IL-6, se vincula con la capacidad proinflamatoria de linfocitos Th17. IL-23 es una importante citoquina inmuno-reguladora secretada por MΦ activados y su función es promover la diferenciación de células T CD4+ a LTh17, las cuales también se han visto relacionadas con daño tisular en enfermedades como psoriasis y enfermedad de Crohn (85).

5.4.2. Inmunidad innata, ligandos y receptores

La inmunidad innata es la primera línea de defensa contra patógenos. Es filogenéticamente la parte más antigua del sistema inmune y está constituida por un conjunto de células y factores solubles que han evolucionado en conjunto con los agentes infecciosos y que se encargan de la protección del organismo ante estos. A diferencia de la inmunidad adaptativa, este tipo de inmunidad no requiere de exposición previa al antígeno, por lo tanto,

la respuesta es de acción inmediata y no se modifica con la reexposición. Dentro de los componentes de la inmunidad innata encontramos a las barreras físicas, como la integridad de la piel y las mucosas del trato respiratorio, digestivo y urogenital, que responden a los estímulos con características propias de la anatomía y fisiología de la zona. En la inmunidad innata además participan células como linfocitos, mastocitos, PMN, células NK, las cuales tienen la capacidad de circular por el organismo ejerciendo una vigilancia eficiente y oportuna frente a procesos infecciosos (ver *Tabla 4*).

Las bacterias y otros agentes, como virus y hongos, poseen una serie de moléculas comunes, que suelen ser esenciales para su metabolismo o estructura, denominados PAMP (del inglés, *Pathogen-associated molecular patterns*). Entre estos se encuentran proteínas (pilina, flagelina), ácidos nucleicos (ssRNA, *Single-stranded RNA*), carbohidratos, LPS y el ácido lipoteicoico. Asimismo, las células del propio organismo, al ser dañadas ya sea de forma estéril o infecciosa, liberan DAMP (del inglés, *Damage-associated molecular patterns*), moléculas que la célula produce en respuesta al estrés, como HSP (del inglés, *heat shock protein*) o en forma fisiológica, pero que deberían encontrarse en el medio intracelular y no en el medio externo, donde pasan a llamarse alarminas. Entre estas últimas se encuentran componentes mitocondriales, proteínas nucleares como histonas y HMGB-1 (del inglés, *High-mobility group box 1*) y cristales (77). Entre los receptores más importantes en el reconocimiento de PAMP y DAMP, se encuentran los TLR, presentes en las membranas plasmáticas y endosomales de fagocitos, LB y muchas otras células. Algo que caracteriza a los receptores que forman parte del sistema inmune innato es que cada uno es capaz de reconocer un número limitado de moléculas “por defecto” (*Tabla 6*). La regulación de receptores, cobra especial importancia en el hígado, que se encuentra expuesto en forma constante a PAMP que llegan desde del intestino por medio de la irrigación portal. La alteración de la modulación y tolerancia a estos agentes se relacionan con un amplio espectro de patologías: hepatitis, cirrosis, daño por isquemia-reperfusión, NAFLD y NASH, además de la progresión inflamación-fibrosis-carcinoma (86). Un aumento en los niveles de PAMP, debido a cambios en la microbiota, aumentando la señalización LPS/TLR4 (o una activación por PUFA saturados, como ocurre en modelos de obesidad) es considerado como el paso inicial que fomenta la persistencia de la inflamación, la disminución de la tolerancia y el

desarrollo de fibrosis, esto último debido a la inducción de TGF- β , una citoquina pro-fibrogénica (87). Además, se ha observado que la inhibición -producida por el virus de la hepatitis C- de las vías de señalización de TLR tiene un rol importante en la generación de cronicidad (88) y una activación alterada del receptor en respuesta a DAMP podría ser catalizador de patologías autoinmunes (87); en este sentido, TLR4 es capaz de ser activado por HMGB-1, HMGB-2 y S100A4 (una proteína de unión al calcio), entre otros DAMP liberados en hepatotoxicidad (89). Los TLR participan no solo en la activación de respuestas inmunes, sino también en la regeneración, inflamación estéril y en la modulación tumoral.

Tabla 6: Principales diferencias entre inmunidad innata y adaptativa. Tomado y adaptado de (Abbas, 2017) (77)

	Inmunidad innata	Inmunidad adaptativa
Especificidad	Estructuras compartidas por varias clases de agentes infecciosos (mismo receptor, varios agentes)	Por detalles estructurales específicos de cada agente infeccioso (varios anticuerpos para diferentes antígenos específicos)
Nº de estructuras reconocidas	Alrededor de 1000 PAMP.	>10 ⁷ antígenos.
Receptores	<100 receptores no variantes, diversidad limitada, codificados en línea germinativa.	2 tipos de receptores (Ig y TCR). Gran diversidad, genes codificados por recombinación somática
Distribución de receptores	No clonal: receptores idénticos en células del mismo linaje.	Clonal: clones de linfocitos expresan diferentes receptores (LB y LT)
Discriminación de elementos propios y ajenos	Sí, células del hospedero no son reconocidas, expresan moléculas que impiden reacciones.	Sí, eliminación/inactivación de linfocitos auto-reactivos; puede ser imperfecta (autoinmunidad)
Patologías crónicas asociadas	Defectos de señalización de TLR, enf. granulomatosa crónica, deficiencias de células NK, síndrome Chédiak-Higashi, deficiencias de adhesión leucocitarias.	Lupus eritematoso sistémico, anemia autoinmune, psoriasis, esclerosis múltiple, artritis reumatoide, diabetes tipo 1, enfermedad de Crohn.

5.4.2.1. Sistema del Complemento

El sistema del complemento está compuesto por cerca de 30 proteínas que potencian la acción de los anticuerpos y fagocitos contra los microorganismos externos, pero también se asocian a inflamación y citólisis como mecanismo inmune. Las proteínas del complemento, de C1 a C9 circulan libremente de forma inactiva y, cuando detectan un elemento patógeno o externo, se activa una cascada proteolítica amplificadora que concluye en la unión de las proteínas a la superficie bacteriana, favoreciendo el reclutamiento de leucocitos y terminando por abrir poros de membrana, lo que lleva a la lisis de algunas bacterias. El sistema del complemento tiene consideradas dos etapas; en la primera etapa se produce la activación del sistema por tres posibles vías: i) Vía clásica del complemento: se desencadena con la formación de un complejo antígeno-anticuerpo; ii) Vía alterna del complemento: es activada por el reconocimiento de complejos lipídicos y glúcidos presentes en la membrana de bacterias y hongos. Se desencadena por la hidrólisis espontánea de C3 hacia C3a y C3b. iii) Vía de las lectinas del complemento: es desencadenada por la unión de la proteína lectina de unión a manosa a residuos hidrocarbonados, como manosa, glucosa o N-acetilglucosamina presentes en la superficie celular de microorganismos. Esta unión activa a MASP-1 y MASP-2, las cuales son enzimas serino proteasas asociadas a MBL que hidrolizan a C4 y C2 inactivos a sus formas activas. La segunda etapa del sistema del complemento es la convergencia de las tres vías mencionadas y en esta se destaca la unión de C5b a la membrana donde C6, C7, C8 y C9 se unen y juntos forman un poro de 70-100 ángstroms que genera desequilibrio electrolítico generando la muerte de la célula.

5.4.2.2. Mecanismos celulares y de protección de la inmunidad innata

Entre las células que se consideran parte de la inmunidad innata se encuentran los neutrófilos, MΦ, mastocitos, DC, NK y algunos linfocitos con variabilidad de receptores reducida. Pese a esta clasificación, *in vivo* las respuestas ante patógenos y procesos inflamatorios se da en forma coordinada y conjunta con el sistema inmune adaptativo, y las

células cumplen más de una función, participando en vías complejas. Algunos de los mecanismos en los cuales participan las células del sistema inmune innato se comentan a continuación:

5.4.2.3. Protección frente a infecciones

El principal tipo celular de la inmunidad innata es el fagocito, término que incluye a neutrófilos, eosinófilos, basófilos, derivados de monocitos circulantes y MΦ residentes en tejidos. Los MΦ son activados tras el reconocimiento de PAMP en áreas donde ha ingresado un patógeno, esto induce la translocación de NF-κB hacia el núcleo, iniciando la transducción de TNF, así como de IL-1, los cuales inducen la producción de quimioquinas como CXCL8, CCL2 y E-selectina en las células endoteliales, favoreciendo el reclutamiento de neutrófilos y monocitos desde circulación. Esto favorece la formación de un infiltrado inflamatorio, y una vez allí, tras la unión de ciertos receptores a sus ligandos presentes en la bacteria, el MΦ engulle a la bacteria estirando proyecciones de su membrana y rodeándola dentro de una vesícula denominada fagosoma, que ingresa a su citoplasma. Al encontrarse activado por IFN-γ y vía TLR, se activa la enzima iNOS (del inglés, *inducible nitric oxide synthase*), que cataliza la producción de NO, el cual, en conjunto con ROS y enzimas proteolíticas, ingresan al fagosoma y destruyen a la bacteria al sobrecargar sus mecanismos antioxidantes y abrir poros en sus membranas (77). MΦ derivados de monocitos, DC, endoteliales y fibroblastos son además capaces de secretar IL-6 que, en forma sistémica, es capaz de inducir la generación de proteínas de fase aguda en el hígado y la producción de neutrófilos en MO. Estos últimos, también son capaces de generar NET que son redes conformadas por cadenas de DNA e histonas que son expulsadas al extracelular (llevando a la muerte al neutrófilo en el proceso) para atrapar mecánicamente al agente infeccioso (77). En el caso de infecciones virales, se estimula la producción de IFN-α e INF-β, cuyo receptor señala por las vías STAT1, STAT2 e IRF9 (del inglés, *Interferon regulatory factor 9*), evitando la propagación viral mediante la producción de kinasas y proteínas que bloquean la transcripción y favorecen la degradación de RNA viral, además de estimular la citotoxicidad de las células NK, otro importante componente celular de la inmunidad innata. También las células infectadas, se

verían particularmente sensibles a entrar en apoptosis por TNF el cual es secretado por DC y MΦ ante infecciones virales.

5.4.2.4. Eliminación de células dañadas e inicio de procesos de reparación

Se han asociado los MΦ a la regulación de la fibrosis, esto atribuido a su señalización en relación con los fibroblastos, los cuales, al ser activados, generan citoquinas y M-CSF (del inglés, *macrophage colony stimulating factor*), que atraen a los MΦ hacia el área e induciendo estos, a su vez, la fibrosis mediante la secreción de mediadores como TGF-β1 y PDGF (del inglés *platelet derived growth factor*). TGF-β, cuando es producido por MΦ, bloquea la degradación de ECM, al aumentar la producción de metaloproteasas, además de promover la síntesis de colágenos intersticiales (90), aumentando la deposición de fibras en el ECM (generación de cicatrices). Algo que regula este fenotipo pro-fibrótico es que los MΦ son capaces de fagocitar células apoptóticas y los detritos celulares de áreas dañadas, disminuyendo las reacciones inflamatorias, la libre circulación de alarminas y produciendo un *feedback* negativo en la generación de TGF-β1 (90). Estas acciones opuestas pero complementarias, dependerían del tipo de activación de los MΦ, así como de señales del microambiente inflamatorio.

5.4.2.5. Estimulación de la inflamación aguda de etiología estéril

La liberación de DAMP en el daño tisular por causa estéril es un inductor de la respuesta inflamatoria aguda. Al igual que en la inflamación de etiología infecciosa, esta se caracteriza por la acumulación localizada de células circulantes que han migrado a través del endotelio en respuesta a citoquinas y por la expresión de receptores endoteliales. Es un proceso que resulta necesario para la remodelación del tejido dañado, ya que las células del sistema inmune coordinan funciones con el parénquima y mesénquima para la deposición de material en la ECM (cicatrización), proliferación (producción de factores de crecimiento) y limpieza

de los detritos celulares de células necróticas y/o apoptóticas, procesos que no podrían ser realizados por el tejido por sí solo. Sin embargo, la desregulación de estos procesos por exposición sostenida a factores estresantes, ya sean mecánicos, químicos o físicos, es causa de muchas enfermedades crónicas. Un ejemplo de esto es la fibrosis hepática, donde tras una lesión, especialmente de tipo inflamatoria, las células estrelladas hepáticas propias de este órgano se activan, proliferan y producen grandes cantidades de ECM, generando una acumulación de tejido cicatricial que reemplaza progresivamente al funcional. Como desencadenante inaugural de la respuesta regenerativa de este órgano, se encuentra la necrosis y apoptosis de hepatocitos. Esto activa al sistema inmune innato, que reconoce a DAMP las cuales promueven y exacerbaban la respuesta inflamatoria. Estos se unen a receptores TLR en MΦ, células endoteliales y hepatocitos, potenciando el paso de factores de transcripción citosólicos al interior del núcleo los cuales favorecen la transcripción de genes asociados a la mitosis (proteínas reguladoras de la transición G0 a G1 y de G1 a S), y además, dependiendo de la célula estimulada, benefician la producción de citoquinas como IL-6 e IL-1β, TNF-α, además de INF-γ, PG y factor activador de plaquetas, con funciones proliferativas y anti-apoptóticas. Mediante estas señales, se da inicio a la etapa de cebado de los hepatocitos (pasan de la etapa G0 a la G1 del ciclo celular). Estos presentan receptores para TNF (TNF-RI y TNF-RII, entre otros) y de IL-6 (IL-6R/gp130), los cuales, al unirse a sus respectivas moléculas, activan cascadas enzimáticas como la MAPK. Entre ellas, JAK, que al activarse fosforila al factor de transcripción preformado STAT-3, que promueve la expresión de genes de respuesta precoz inmediata (IEGs), entre los que se encuentran c-fos, c-jun y c-myc, todos los cuales son responsables del inicio del ciclo celular, además de factores anti-apoptóticos como las proteínas Bcl 2 y X (91).

5.4.2.6. Estimulación del sistema inmune específico

Las respuestas innatas ocurren primero con respecto a las del sistema adaptativo y las moléculas señalizadoras liberadas al medio durante la activación innata son potentes inductores de las respuestas adaptativas. En primera instancia, la activación de DC o fagocitos por medio de TLR, estimula respuestas mediadas por LT, mediante la producción

de citoquinas. Estas últimas son capaces de promover: la diferenciación de LT (IL-1 e IL-6, entre otras), la supervivencia de LT de memoria (IL-15), la producción de anticuerpos por LB (IL-6). Finalmente, la producción de IFN de tipo I en infecciones virales causa el secuestro de linfocitos en los linfonodos y esto maximiza la oportunidad de que estos se encuentren con los antígenos virales (77).

5.4.3. Inmunidad adaptativa

La inmunidad específica o adaptativa, a diferencia de la inmunidad innata, reconoce de manera específica a los patógenos y su respuesta se lleva a cabo mediante procesos sistémicos altamente especializados entre los que destaca la generación de una memoria inmunitaria, confiriendo al organismo una tolerancia frente a un segundo encuentro con los patógenos reconocidos. Este tipo de inmunidad involucra una interrelación entre las APC y los LT y LB, los cuales promueven vías inmunes patógeno-específicas y además la generación de la memoria inmunológica. Entre los componentes celulares de la inmunidad adaptativa se encuentran los LT y los LB los cuales, luego de madurar en los órganos linfoides primarios (timo y médula ósea respectivamente) se dirigen a los órganos linfoides secundarios (nodos linfáticos y bazo) donde recolectan los antígenos circulantes por la linfa y sangre. En este punto los LT son activados mediante la interacción de receptores de LT (TRC) presentes en su membrana y las moléculas MHC presentes en las APC, lo que se conoce como sinapsis inmunológica. Tras el reconocimiento TRC-MHC, los linfocitos emigran de los órganos linfoides secundarios y se dirigen hacia la circulación a ejercer sus funciones efectoras, siendo una de las principales la eliminación de células patógeno-infectadas, pero también pueden activar células fagocíticas mononucleares y actuar como células auxiliares, liberando citoquinas para promover las respuestas de otros LT y LB. además de lo anterior, se cree que los LT también poseen un rol regulador de la respuesta inmune, limitando el daño tisular por respuestas autorreactivas o excesivamente inflamatorias (92).

La inmunidad adaptativa de tipo humoral se basa en la producción de anticuerpos por parte de las células plasmáticas. Estas células provienen del linaje de los LB, los cuales

surgen desde células hematopoyéticas pluripotenciales en la médula osea. Los anticuerpos, también llamados Inmunoglobulinas (Ig) se constituyen de cadenas polipeptídicas ligeras y pesadas, dispuestas en regiones C (constantes) y regiones V (variables), las cuales participan en la interacción celular y el reconocimiento antigénico donde encontramos los sitios de unión al antígeno, que permiten el encuentro de los epítomos con los antígenos, respectivamente. Existe una región particular del anticuerpo llamada región Fab, (del inglés *antigen binding fragment*), la cual corresponde a la zona específica de unión al antígeno, mientras que la región Fc (del inglés *Fragment crystallizable*) es una zona del anticuerpo que interactúa con los receptores celulares del tipo Fc presente en células. En cuanto a los anticuerpos, en el ser humano existen cinco isotipos de Ig conocidos como IgA, IgD, IgE, IgG e IgM, los cuales son determinados por el tipo de cadena pesada que presente la estructura (α , δ , ϵ , γ y μ , respectivamente), y dependiendo de este, cumplen diferentes funciones (Tabla 7).

Tabla 7: Funciones de los distintos isotipos de anticuerpos. (Tomado y adaptado de (Abbas, 2017) (77)

Isotipo	Funciones Efectoras
IgG	Opsonización de antígenos para fagocitosis mediante MΦ y neutrófilos Activación de la vía clásica del complemento Citotoxicidad dependiente de anticuerpo mediada por células NK Inmunidad neonatal: transferencia transplacentaria de anticuerpos maternos Neutralización de toxinas y microorganismos
IgM	Activación de la vía clásica del complemento
IgA	Inmunidad de las mucosas por secreción de IgA al lumen de tracto respiratorio y gastrointestinal Neutralización de microorganismos y toxinas en lumen de órganos mucosos
IgE	Degranulación de mastocitos Protección mediada por eosinófilos contra helmintos

La activación de las células B y la producción de anticuerpos es estimulada por la presencia de antígenos y LTh, los cuales son células T CD4+ efectoras capaces de activar los LB, siendo su principal función participar en la producción de inmunoglobulinas. Las Ig contribuyen a la defensa inmune mediante tres principales mecanismos: neutralización, opsonización y activación del complemento (93). La neutralización es el proceso en el que el anticuerpo impide la entrada del patógeno a la célula mediante la unión de IgA e IgM a la superficie de los microorganismos provocando una agregación de estos que tiene como consecuencia la desestabilización de los patógenos además de disminuir la interacción patógeno-célula disminuyendo su poder infectivo (94). Adicionalmente, las Ig pueden neutralizar microorganismos post contacto celular, como en el caso de los virus, donde las IgA e IgM bloquean la interacción entre proteínas virales necesarias para la fusión y su respectivo receptor celular impidiendo su multiplicación (95). La opsonización es un proceso inmune en el que las opsoninas, principalmente IgG e IgE y componentes del complemento, marcan patógenos externos para promover su eliminación por parte de los fagocitos. En el caso de la opsonización por anticuerpos, los sitios de unión de antígeno de las Ig reconocen a los epítopos de los antígenos *target* y a su vez, se unen a los receptores de opsoninas presentes en los fagocitos. Cabe destacar que múltiples anticuerpos se unen a un mismo antígeno, lo cual potencia la respuesta y eficacia de la fagocitosis contra el patógeno que, tras ser incorporado al fagosoma es destruido en el lisosoma.

5.4.3.1. Funciones de los anticuerpos

La actividad biológica de los anticuerpos está mediada principalmente por interacciones entre Fc y receptores de Fc presentes en células cumpliendo importantes roles de señalización para la defensa contra patógenos. Estos receptores (FcR) están involucrados en procesos como la fagocitosis, citotoxicidad dependiente de anticuerpos, degranulación y la producción de mediadores inflamatorios y citoquinas. Se encuentran en distintas células del sistema inmunológico, incluyendo a granulocitos, fagocitos y linfocitos. Su función recae en el reconocimiento de anticuerpos que se encuentran unidos a la superficie de microorganismos y células infectadas, promoviendo la eliminación de los patógenos, pues tras ser reconocidos los Fc γ R son incorporados a la membrana celular de forma que se potencien vías de

señalización cuyo objetivo final es la activación de células fagocíticas como neutrófilos y MΦ que, una vez activados, ingieren y destruyen a los agentes patógenos marcados con IgG mediante el proceso de fagocitosis (96). Específicamente, los FcR desarrollan su función gracias a activaciones moleculares sucesivas que conducen a la expresión y la activación de factores como MAPK y NF-κB (97). La interacción Fc-FcR es un importante mecanismo de activación que participa en procesos como la fagocitosis y el sistema del complemento.

5.4.4. Mecanismos que limitan la respuesta inmune

La respuesta inmune necesita ser regulada. Gracias a una regulación adecuada, se limita la inflamación a sitios localizados, se evita el daño colateral a tejidos sanos y la generación de autoinmunidad, entre muchos otros efectos adversos. Algunos ejemplos de ello son los MΦ presentes en el colon que en condiciones normales, se encuentran constantemente estimulados por IL-10 y se encargan de bloquear la generación de respuestas inflamatorias en la mucosa, a menos que se produzca una interrupción del flujo de esta citoquina (98). Otra situación similar ocurre en los MΦ de la zona marginal del bazo, que deben disminuir la auto-reactividad a células apoptóticas. Se ha observado que una depleción de estos MΦ lleva a la generación de auto-anticuerpos (99), como ocurre en el lupus eritematoso sistémico. Además, la respuesta inmune participa en la regulación de los procesos proliferativos, donde resulta importante el estricto control de la detención del ciclo celular y la remodelación del nuevo tejido. Un ejemplo de ello es la detención de proliferación de hepatocitos en el hígado, un órgano con gran capacidad regenerativa. Aquí, vuelven a ser importantes las citoquinas, esta vez en su rol antiinflamatorio, proapoptótico y hepatostáticas, como la IL-10, las proteínas supresoras de señalización de citocinas (SOCS-3), el inhibidor del activador del plasminógeno (PAI-1) y en especial, el TGF-β. Este último señala a través de dos receptores que activan a los SMAD, unos factores de transcripción que, al translocarse al núcleo, inhiben la proliferación celular a nivel de G1. La ECM juega también un rol importante en la regeneración, ya que al romperse la barrera endotelio-sinusoidal, se libera el activador del plasminógeno tipo uroquinasa (u-PA) y metaloproteinasas, los cuales activan a los factores de crecimiento y también generan DAMP a partir de macromoléculas como fibrinógeno,

laminina y fibronectina. Este mecanismo, podría, de hecho, ser uno de los primeros por los cuales se promueve la neoformación del nuevo parénquima, puesto que la ECM acumulada y en desorden, descontinuaría la comunicación entre células, que es crucial para mantener la división controlada (91).

5.5. Macrófagos

Los M Φ son células inmunes que fueron descubiertas en el siglo XIX por Metchnikoff, pero no fue hasta la década de 1920 que recibieron su nombre como tal, gracias a los estudios de Aschoff, quien además definió el Sistema retículo-endotelial, compuesto de M Φ y otras células como monocitos e histiocitos que desde el año 1969 se conoce como Sistema fagocítico mononuclear (100). En un principio, y hasta hace unos años, se creía que los M Φ son células derivadas exclusivamente desde los monocitos tras su reclutamiento hacia los tejidos; sin embargo, existe evidencia que indica que los M Φ corresponden también a grupos celulares originados y establecidos durante el desarrollo embrionario que persisten en los tejidos de forma independiente a los monocitos circulantes. Dado lo anterior, en la actualidad se reconoce que los M Φ se originan tanto por mecanismos dependientes e independientes del reclutamiento monocítico (101).

5.5.1. Origen y maduración

El origen de los M Φ se remonta a las etapas tempranas de la gestación, donde ocurre una hematopoyesis primitiva en el saco vitelino extraembrionario que tiene como producto exclusivamente glóbulos rojos y M Φ , que en este caso no tienen un progenitor monocítico. En paralelo, desde el mesodermo surgen las células madre hematopoyéticas, las cuales son responsables de la producción de todas las células sanguíneas, y que consecuentemente generarán los distintos linajes celulares. Son estas células madre hematopoyéticas las que durante la embriogénesis migran hacia el hígado fetal, donde ocurre una hematopoyesis

temporal que tendrá por resultado la generación de células sanguíneas de la línea roja y blanca, entre los que se encuentran los monocitos, que una vez en circulación se diferencian a MΦ (102). Finalizado el desarrollo embrionario, el hígado pierde la capacidad hematopoyética tras la migración de las células madre hacia la MO de huesos largos, lugar donde ocurre la hematopoyesis definitiva. Por lo tanto, basado en la evidencia existente se conoce que los MΦ tienen tres posibles orígenes: MΦ del saco vitelino, monocitos de hígado fetal y monocitos de MO (103).

La maduración y diferenciación de monocitos se produce en respuesta a la secreción de factores estimuladores de colonia por parte de las células pluripotenciales y células endoteliales de la MO durante el proceso hematopoyético. Las células mieloides, precursoras de la línea celular roja, son estimuladas por factores como IL-3, GM-CSF (del inglés *Granulocyte Monocyte Colony-Stimulating Factor*) y M-CSF dando resultado a monoblastos, promonocitos y monocitos. Estos últimos salen de la MO a circulación por aproximadamente 8 horas para luego llegar a los tejidos donde aumentan su tamaño y reciben el nombre de MΦ, los cuales pueden residir en los distintos órganos en los que se encuentren ejerciendo diversas funciones fisiológicas protectoras (104). El estudio de mapas celulares ha permitido aclarar que la mayor parte de los MΦ residentes en los tejidos son de origen embrionario, mayoritariamente originados en el saco vitelino y derivados de monocitos de hígado fetal (105). Este tipo de MΦ, a diferencia de otras células mieloides que son frecuentemente renovadas mediante la hematopoyesis en MO, persisten en los tejidos durante largos periodos de tiempo independientes de los monocitos hematopoyéticos en circulación (106).

5.5.2. Características generales de los macrófagos

Los MΦ maduros se caracterizan por poseer marcadores de linaje mieloide como CD45, CD11b, CD14, CD43, CD64, CD115, CD163 y CD169, marcador de maduración de MΦ, 25F9 y ser negativos para CD93, un marcador monocítico de inmadurez (107). En cuanto a su función, los MΦ son células fagocíticas profesionales que se encargan de envolver y

asimilar detritos celulares y células *target* -como bacterias, células infectadas y células muertas- mediante el proceso de fagocitosis, mecanismo inmune de defensa y eliminación de agentes potencialmente patógenos, pudiendo también procesar antígenos fagocitados y presentarlos mediante MHC, estimulando cascadas inmunológicas mediadas por linfocitos. La fagocitosis se lleva a cabo gracias a la producción de inflamasomas (complejos proteicos que desencadenan la síntesis y liberación de citoquinas como IL-1 β), enzimas y factores de crecimiento que, en conjunto, generan una activación de los M Φ reclutados. Además de lo anterior, los M Φ son células que expresan un vasto repertorio de receptores de membrana que reconocen y responden a ligandos propios y externos actuando como intermediarios en procesos homeostáticos como el metabolismo del hierro, síntesis de surfactante, regeneración de tejido, entre otros (108). También se ha descrito a los M Φ como una fuente importante de factores de crecimiento para las células adyacentes en los tejidos en que se encuentren (109).

5.5.3. Subtipos de macrófagos

Como se ha mencionado, gran parte de los M Φ presentes en los tejidos son suplidos sólo en forma parcial por aquellos derivados de MO (110), que son reclutados por gradientes quimiotácticos y moléculas de adhesión. Esto se ha comprobado en estudios realizados en ratones parabióticos (ratones unidos quirúrgicamente que comparten la misma circulación sanguínea), que indican que algunos M Φ residentes -como microglías y M Φ alveolares- se mantienen independientes a cada ratón mientras que los M Φ del intestino, dermis y corazón se mezclan entre ambos individuos. Esto sugiere que estos M Φ surgen principalmente desde el saco vitelino y su población se mantiene por el resto de la adultez a diferencia de los M Φ de intestino, dermis y corazón, cuyo origen se asocia tanto a progenitores embrionarios como a monocitos de hígado fetal y monocitos de MO en circulación (111). Los M Φ residentes pueden encontrarse en diversos órganos y en cada uno reciben un nombre distinto. En su mayoría, los M Φ residentes son de origen embrionario; en este sentido destacan las KC en el hígado, M Φ alveolares en el pulmón, osteoclastos en tejido óseo, entre otros.

5.5.3.1. Macrófagos residentes del hígado

Los MΦ residentes del hígado o KC derivan de colonias de progenitores eritro-mieloides del saco vitelino, que migran al hígado en etapas tempranas de la gestación murina, siendo posteriormente capaces de auto-renovarse sin necesidad de recurrir a progenitores de la MO (112) pero pudiendo estos últimos diferenciarse hasta KC completamente funcionales en caso de ser necesario, como ocurre en procesos inflamatorios. Estos comprenden uno de las mayores reservas de MΦ residentes, comprendiendo aproximadamente un 20% de las células no-parenquimatosas del hígado, ubicándose en el lumen de los sinusoides hepáticos (113). La ubicación de las KC favorece la fagocitosis de cualquier patógeno que se encuentre en circulación, además de eliminar partículas innecesarias e incluso células moribundas tanto del flujo sanguíneo como del parénquima hepático, manteniendo una homeostasis del hígado, característica que se conoce como fenotipo tolerogénico. Frente a ciertos estímulos, especialmente frente al desarrollo de enfermedades inflamatorias de tipo crónicas, las KC cambian su fenotipo tolerogénico hacia un fenotipo activado donde, gracias a la producción de citoquinas y otros mecanismos, enfoca sus funciones hacia el desarrollo de un estado inflamatorio que, sumado a la disminución de las funciones homeostáticas, contribuyen al desarrollo de estados patológicos en este órgano (114). La literatura refiere que tanto las KC como los monocitos circulantes murinos se caracterizan por expresar F4/80, un antígeno de membrana que, en comparación, los monocitos circulantes expresan en niveles bajos a intermedios (115). Además, las KC residentes expresarían pobremente CD11b, expresando mayoritariamente CD68, caracterizándose por poseer una fuerte actividad fagocítica y bactericida, en contraste con los MΦ derivados de MO, CD11b+, que serían principalmente productores de citoquinas (IL-12, TNF) (116) y que durante la inflamación, se acumulan y activan en el área afectada. Sobre lo anterior, tal como indica Beattie *et al.*, si bien existen diferencias fenotípicas entre las KC residentes (derivadas de saco vitelino) y derivadas de MO, las funciones preferentes que estas exhiben no son excluyentes pudiendo ambos linajes expresar un fenotipo tolerogénico que contribuye a la protección y homeostasis del hígado (117).

5.5.3.2. Macrófagos residentes del pulmón

En el pulmón se reconocen dos clases de MΦ: MΦ alveolares (MA) y MΦ intersticiales (MI) (118). Guilliams y cols mostraron que los MΦ del pulmón tienen distinto origen; los MA se originan principalmente a partir de monocitos de hígado fetal mientras que los MI provienen en su mayoría desde monocitos de MO (119). Los MA (CD11c +; CD11b -) residen en el lumen del alveolo en exposición directa al aire, realizando fagocitosis de partículas externas y degradando el surfactante que recubre la superficie alveolar, previniendo su colapso. No poseen marcadores como CD86, una molécula co-estimuladora necesaria para la activación de LT, por lo que los activan pobremente (120). Los MI (CD11c +/-; CD11b +) se encuentran en el espacio interalveolar (entre el alveolo y el endotelio). Su función principal es la mantención y modelación del tejido, además de actuar como APC (121). La regulación de la inflamación en la vía aérea involucra a varias patologías crónicas como fibrosis quística, fibrosis pulmonar, asma y alergias. Entre los mecanismos involucrados, se encontrarían desequilibrios de citoquinas (IL-10 como principal antiinflamatoria) y la deposición de ECM (122).

5.5.3.3. Macrófagos residentes del bazo

Como un órgano linfoide secundario, el bazo comparte características con los linfonodos, y cuenta con una compartimentalización que condiciona la generación de cuatro subtipos de MΦ (123). En la pulpa roja, los MΦ (F4/80+, CD11b+ bajo) participan en el *clearance* de glóbulos rojos senescentes que quedan atrapados en los sinusoides, regulando el metabolismo de hierro derivado de la hemoglobina (Hb), por medio de CD163 (receptor del complejo Hb-haptoglobina), hemo oxigenasa y ferroportina (un transportador de hierro). En la pulpa blanca, se pueden encontrar MΦ (F4/80-, CD68+) que fagocitan a células apoptóticas, generalmente LB hiperproliferantes, con mutaciones y/o autorreactivos. Para ello, estos MΦ presentan mayores receptores fagocíticos (como CD68, Mertk, Timd4 y CD36). Finalmente, en la zona marginal, ubicada entre la pulpa roja y la blanca, se pueden encontrar dos tipos de

MΦ (CD169+): MΦ metalofílicos, íntimamente asociados con células endoteliales, que degradan virus, inducen a LT (124) e inician procesos quimiotácticos; el segundo tipo de MΦ de esta zona, en forma más externa al anillo de células endoteliales, trabaja junto a LB especializados y DC, en una red de conductos estromales, participando en la fagocitosis de bacterias encapsuladas y parásitos (123).

5.5.3.4. Macrófagos del Sistema Nervioso Central

Los principales MΦ en este tejido se conocen como microglías. Estas son células con funciones fagocíticas de aspecto ramificado que además desarrollan funciones de soporte en el sistema nervioso central. Particularmente, las células microgliales provienen únicamente desde progenitores del saco vitelino, los cuales durante el desarrollo se alojan en el cerebro y se desenvuelven y persisten de forma autónoma hacia la adultez, cumpliendo funciones de remoción de desechos como proteínas aberrantes y digestión de neuronas moribundas (125). Las microglías residentes del Sistema Nervioso Central (SNC) corresponden a un 10-15% de la población celular total presente en el parénquima cerebral, y al ser un componente importante de este tejido se ha descrito que además están involucradas en procesos regulatorios críticos para el desarrollo como el refinamiento de la arquitectura, mantención del ambiente neural propicio y remodelación y reparación del tejido, por lo que la desregulación de estas células se asocia a desordenes neurológicos y neurodegenerativos. La activación de las microglías ha sido descrita con el paradigma de los fenotipos macrofágicos M1 y M2 que si bien ha sido útil para la comprensión de las actividades macrofágicas *in vitro*, las células microgliales rara vez muestran un fenotipo determinado puesto que su activación se ha descrito dependiente del contexto neural expresando factores neuroprotectores y neurotóxicos simultáneamente (126).

5.5.4. Fenotipos macrofágicos M1 y M2

En respuesta al microambiente, los MΦ pueden activarse, iniciando la transcripción de genes específicos, por medio de dos vías: la clásica, que da lugar a un fenotipo proinflamatorio denominado M1 y la vía alternativa, con generación de un fenotipo M2 inmuno-modulador, derivando la notación “1 y 2” de la participación en ambos eventos de LT CD4+ *helper* Th1 y Th2. Este fenómeno por el cual los MΦ cambian de un fenotipo a otro en respuesta a señales ambientales, se conoce como polarización y es un signo del alto nivel de plasticidad que poseen los MΦ, siendo un MΦ M1 capaz de responder y cambiar ante señales de uno M2 y viceversa. Los principales inductores, vías de señalización y moléculas características de cada fenotipo, se resumen en la *Tabla 8*. En el caso de **M1**, este es activado por factores estimuladores de colonias granulocíticas, como GM-CSF, PAMP como LPS, IFN-γ y TNF-α, entre otros. Secretan citoquinas proinflamatorias como TNF-α, IL-6, IL-1, IL-12, IL-18 e IL-23 (127) y son capaces de inducir apoptosis y estimular a los LT *helper-1* (Th1), linfocitos productores de IFN-γ que participan en la eliminación de patógenos intracelulares y en las reacciones de hipersensibilidad retardadas mediadas por células. Además, el fenotipo M1 favorece la producción de NO, ROS y especies reactivas de nitrógeno (RNS) e inducen la presentación de antígenos (128).

Por su parte, los MΦ **M2** son activados por M-CSF, IL-4, IL-10 e IL-13 y promueven la actividad de Th2, linfocitos productores de IL-4, IL-5, IL-9 e IL-13 y partícipes de la protección contra patógenos extracelulares. Además de tener efectos antiinflamatorios, M2 posee 4 subtipos (M2a, M2b, M2c y M2d)(127), los cuales son inducidos por diferentes estímulos: (a) **M2a** es inducido por IL-4 e IL-13 y produce altos niveles de CD206, IL-RII (del inglés, *decoy receptor IL-1 receptor II*) e IL1Ra (del inglés *IL-1 receptor antagonist*). (b) **M2b**, por su parte, podría ser inducido por complejos inmunes, agonistas de TLR o ligandos receptores de IL-1 y producen citoquinas tanto anti como proinflamatorias (IL-10, IL-1β, IL-6 y TNF-α). (c) **M2c** es inducido por glucocorticoides e IL-10, y libera IL-10 y TGF-β, con una fuerte actividad antiinflamatoria contra células apoptóticas. (d) **M2d**, finalmente, es inducido también por agonistas de TLR por medio del receptor de adenosina,

lo que conlleva a la supresión de la producción de citoquinas proinflamatorias y a la inducción de la de citoquinas antiinflamatorias (IL-10, IL-12) y VEGF (del inglés, *Vascular endothelial growth factor*), con propiedades pro-angiogénicas (Tabla 8) (129).

Tabla 8: Características ambientales y propias de los fenotipos macrofágicos M1 y M2. Tomado y adaptado de (Nasser *et al.*, 2020) (127).

	M1	M2
Inductores	IFN- γ , LPS, GM-CDF, TNF- α , estrés oxidativo, FA, HMGB1	M-CSF, IL-4, IL-10, IL-13, TGF- β , AMPGC, estrógenos, glucocorticoides, vitamina D, HCG, HL-G5, HAMSC
Marcadores celulares	CD80, CD86, MHC II, CD64, CD40, CD11c, TLR2, TLR4	CD206, CD163, CD209, CD301, CD36, CD200R, CD32, CD16, CD23
Factores de transcripción	NF- κ B, STAT1, IRF1, IRF5, HIF-1 α , KLF6, SOCS1	STAT3, STAT6, IRF4, SOCS3, KLF4, PPAR γ , cMaf, cMyc
Citoquinas y quimioquinas que producen	TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-12, IL-23, CXCL9, CXCL10, CXCL11, CCL5, CX3CL1, CCL5, CCL16	IL-4, IL-10, TGF- β , IL1ra, CCL17, CCL22, CCL24, CCL18, CCL1, CCL16, CXCL13
Funciones	Proinflamatoria, bactericida, con efectos antitumoral	Antiinflamatoria, inmunoregulador, alergia, reparación tisular, pro-tumoral

La producción de citoquinas proinflamatorias por M1, regularía inicialmente los procesos de reparación y respuesta ante bacterias y patógenos intracelulares, mientras que en presencia de citoquinas antiinflamatorias como IL-4, IL-10 e IL-13, se favorecería el fenotipo M2, que regula procesos de reparación tardíos, inmunidad mediada por Th2, resolución de la inflamación e inducción de la tolerancia inmune; siendo ambos estadios representativos de los extremos de un espectro difuso *in vivo*. Debido a la falta de criterios para delimitar ambos

fenotipos con exactitud, este modelo de polarización no está exento de controversias. Las funciones que tradicionalmente se les atribuyen a ciertas vías y patrones moleculares no son necesariamente un reflejo certero de sus funciones *in vivo* y, asimismo, estos fenotipos se encuentran limitados por las técnicas usadas, que caracterizan a los MΦ y su microambiente en un punto determinado del espacio y tiempo, reduciendo las variables estudiadas a un mínimo dentro de las miles de posibilidades existentes. Sin embargo, pese a sus limitaciones, este modelo constituye un inicio razonable para el estudio de MΦ en modelos inflamatorios tanto agudos como crónicos, siendo la inflamación y la polarización procesos fundamentales e imposibles de dividir debido a sus complejas interacciones (130).

5.5.4.1. Vías de señalización involucradas en la polarización M1/M2

Entre los estímulos más comunes para la generación del fenotipo M1, se encuentra **IFN-γ** (producido por Th1, NK y MΦ). Su receptor, compuesto por las cadenas IFNGR-1 y IFNGR-2, recluta a JAK1 Y JAK2, que activan a STAT1 y a IRF-1 e IRF-8. Esto activa a genes de receptores para citoquinas: *IL15RA*, que codifica el receptor de alta afinidad de IL-15, que al unirse a su ligando favorece la proliferación celular e inhibe la apoptosis, por medio de BCL2L1/BCL2-XL y BCL2 (del inglés, *B-cell lymphoma 2*, una subfamilia de proteínas mitocondriales anti-apoptóticas); además de *IL2RA* (con actividad similar a IL-15) e *IL6R*, que codifica parte del receptor para IL-6 (citoquina capaz de inducir polarización hacia M2 (131)). También activa la producción de marcadores de activación como CD36, CD38, CD69 y CD97, y de moléculas de adhesión como ICAM1 (del inglés, *intercellular adhesion molecule 1*), integrinas y MUC1 (del inglés, *mucin 1*) (Figura 4) (132). Otros inductores importantes de la activación hacia el fenotipo M1 son los PAMP, siendo el más estudiado el **LPS**, que es reconocido clásicamente por medio de TLR4 en MΦ. Su activación induce a MyD88 y Mal/Tirap, proteínas adaptadoras involucradas en las vías de señalización compartidas por IL-1 y TLR, que llevan a la activación vía IFN-γ (como STAT1 e IRF), además de NF-κB, MAPK y JNK, con altos niveles de producción de citoquinas proinflamatorias (IFN-β, IL-12, TNF, IL-6 e IL-1β), quimioquinas y moléculas que favorecen la presentación de antígenos (peptidasas, MHC y moléculas co-estimuladoras)(132). **GM-**

CSF, otro inductor de M1, es producido por células parenquimales y MΦ y su receptor recluta a JAK2, activando a STAT5, ERK (del inglés, *Extracellular signal-regulated kinase*, parte de la vía MAPK) y Akt, así como también llevando a la traslocación de NF-κB e IRF5, teniendo efectos similares a los inducidos por IFN y LPS: favorecer la presentación de antígenos, fagocitosis, quimiotaxis leucocitaria, adhesión y producción de citoquinas proinflamatorias, aunque en menor grado.

Uno de los primeros inductores del fenotipo M2a observado es **IL-4** (producido por eosinófilos, basófilos, MΦ y Th2). Es capaz de unirse principalmente a dos complejos de los cuales puede formar parte su receptor -siendo el tipo 1 (IL-4Rα unido a una cadena γ común) el que tiene especificidad para IL-4 y el tipo 2 (IL-4Rα unido a una cadena IL-13Rα1) el que puede unir tanto IL-4 como IL-13. En el caso del receptor tipo 1, este activa JAK1 y JAK3, que genera la traslocación al núcleo de STAT6, induciendo la expresión de BCL2L1/BCL-X(L). Su activación también media por c-Myc e IRF4. Estas vías generan una disminución de la apoptosis, fusión de MΦ y producción de TGM2 (del inglés, *Transglutaminase 2*), una aciltransferasa inducible que modifica proteínas, funciona como correceptor de las integrinas β1 y β3; y promueve la transcripción de TGF-β1 (133); además de la producción de MRC1 (del inglés, *Mannose receptor*) y COX-2 (producción de PG). También favorece la traslocación de IRF4, KLF4 (del inglés, *Krüppel-like factor 4*) y PPARγ, siendo este último capaz de reclutar a STAT6 en forma independiente de ligando al formar un heterodímero con RXR (del inglés, *retinoid X receptor*) en etapas más tardías de la polarización en respuesta a la repetición del estímulo con IL-4 (mecanismo regulatorio), haciendo a las células cada vez menos sensibles a IFN-γ (134). Para la activación del sub-fenotipo M2b, se debe producir la unión de **Ig** (en sus receptores, FcγRs, siendo de particular importancia CD32) en MΦ activados por LPS, lo cual cambia el patrón de secreción de IL-12 a IL-10 (132). Para el sub-fenotipo M2c, el receptor de **glucocorticoides** (GCR), al unirse a sus ligandos, activa directamente a los factores de transcripción, induciendo la producción de proteínas del complemento y de IL1R2, IL-10 y CD163. El tratamiento con glucocorticoides es capaz de disminuir la presentación de antígenos al disminuir la expresión de MHC II y sus moléculas co-estimuladoras (135). En el caso M2c, la autofosforilación del receptor de **IL-10** tras unirse a su ligando (producido por Mos y Th2, principalmente), lleva a la traslocación de STAT-3,

que inhibe la producción de citoquinas proinflamatorias e induce la producción de algunos quimioatrayentes como CXCL13 y CXCL4 y de los TLR1 y TLR8. Otro factor inductor es **M-CSF**, capaz de inducir la activación de ERK, PI3K (del inglés, *phosphatidylinositol 3-kinase*), fosfolipasa C, entre otros, involucrados en la promoción del ciclo celular, junto con una baja de producción de HLA, TLR7 y proteínas del complemento (132). Finalmente, **TGF- β** ha sido recientemente estudiado por sus acciones en la promoción de tumores y como inductor del fenotipo M2, específicamente mediante la vía SNAIL, vía que favorece transformación epitelial-mesenquimal en el avance de la displasia, y que al mismo tiempo regula procesos de supervivencia e inmunidad. En M Φ , esta vía reduce la expresión de TNF- α , IL-12 y moléculas co-estimuladoras como CD80 y CD86, características de M1; sin tener efectos sobre la expresión de IL-10 (136) (ver resumen de las vías M2 en *Figura 4*).

5.5.4.2. Fenotipos M1/M2 en la enfermedad crónica

Cuando un tejido recibe un daño, los M Φ están altamente involucrados en el proceso de reparación, que suele descomponerse en tres fases principales y progresivas: inflamación, proliferación y remodelación. Tanto en daño agudo como crónico, en primera instancia, se liberan quimioquinas, PAMP y DAMP que activan a M Φ hacia un fenotipo M1, que limpian el sitio de bacterias, detritos y células muertas. Entonces, a medida que el tejido empieza a repararse y proliferar, la población macrofágica pasa progresivamente hacia uno M2, que favorece la deposición de matriz colágena, la formación de nueva vasculatura, para finalmente degradar la ECM sobrante con metaloproteinasas (MMP) (137). Por lo anterior, es que la proporción entre M Φ M1/M2 ha sido estudiada en varios modelos de enfermedad crónica, puesto que su polarización es capaz de modular las etapas de la regeneración y extender en el tiempo los fenómenos inflamatorios. Entre las patologías crónicas que se observan desbalances de la proporción de M Φ M1/M2 podemos destacar artritis reumatoide (138-140), trastornos cardiovasculares (127, 141), enfermedades neurodegenerativas (142-146), y la enfermedad hepática crónica, que será descrita en el siguiente apartado.

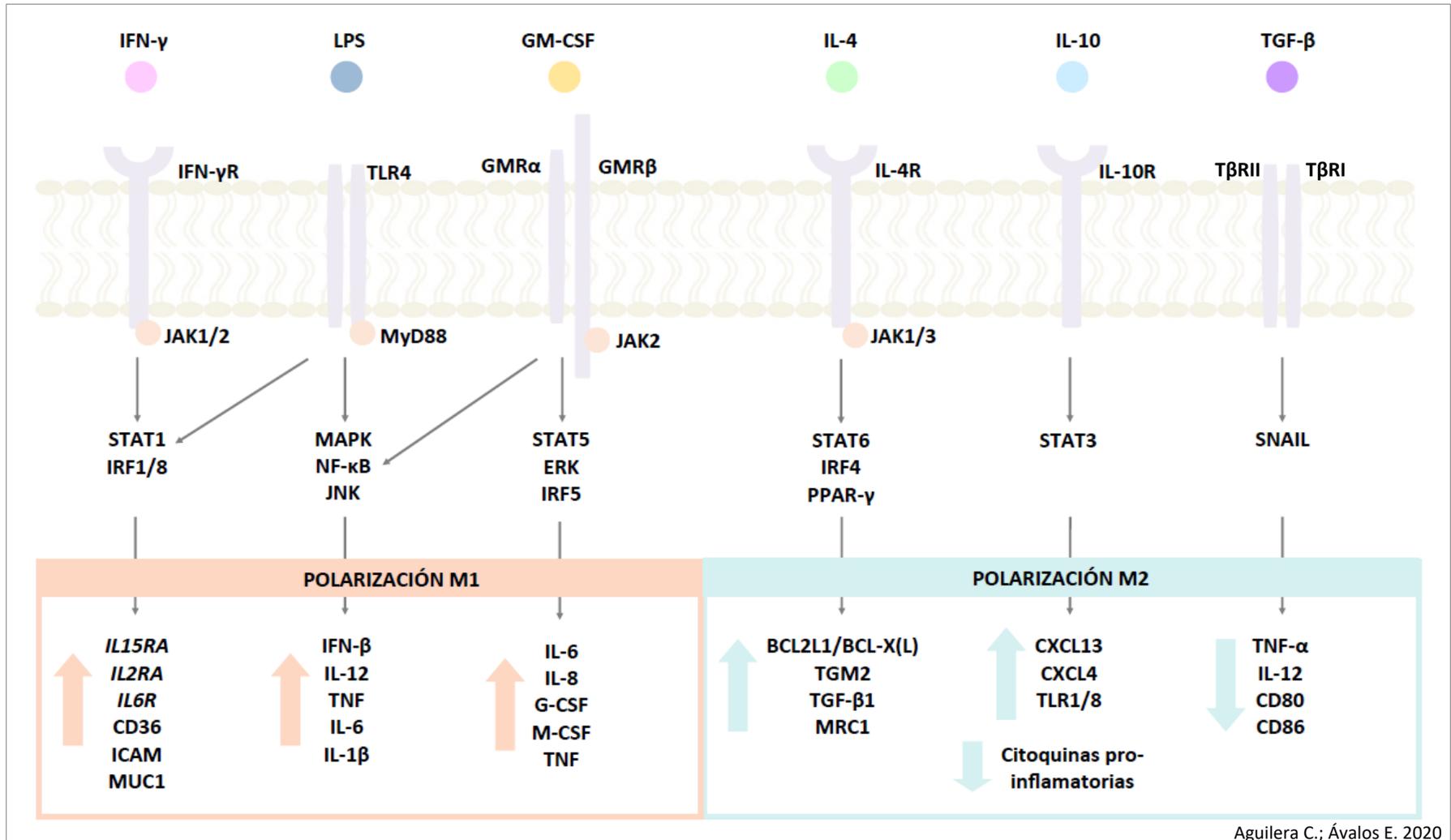


Figura 4: Vías de estimulación de los fenotipos macrofágicos M1/M2. La figura esquematiza las principales moléculas inductoras, sus receptores y vías que inducen la polarización de los MΦ hacia un fenotipo M1 o M2.

5.5.4.2.1. Enfermedad hepática crónica

Las KC son capaces de regular el estado inflamatorio del hígado mediante la secreción de citoquinas, quimioquinas, ROS y factores de crecimiento, así como también mediante la secreción de enzimas que degraden la ECM. Durante el daño hepático se liberan DAMP (en etiología estéril) y/o PAMP (en etiología infecciosa) capaces de estimular y favorecer la polarización hacia un fenotipo M1, por lo que el reestablecer un equilibrio en la polarización M1/M2 es un *target* terapéutico importante en las patologías crónicas hepáticas. Al estudiarse un modelo murino de NAFLD inducido por la dieta, se observó que en este contexto, las KC polarizaban hacia M1 (113), lo que favorecía la progresión de la enfermedad debido a que el aumento en la secreción de citoquinas proinflamatorias es capaz de activar a las HSC, lo que genera infiltración, inflamación y fibrosis, elementos característicos de la progresión de NAFLD a NASH. En el caso específico del NAFLD, la acumulación de PUFA de características saturadas en el microambiente hepático, estimula a NF- κ B en las KC - probablemente mediante TLR4- por lo que los PUFA saturados, estarían actuando como un PAMP y estimulando, en consecuencia, el fenotipo M1; por otro lado, los omega-3 no activarían esta vía (113). En este mismo estudio, tanto los PUFA saturados como aquellos omega-3 fueron capaces de activar a PPAR γ (sin activación consecuente de STAT-6), induciendo un fenotipo M2 y disminuyendo la traslocación de NF- κ B y su consecuente secreción de citoquinas proinflamatorias. Esto lleva a una reducción del componente inflamatorio de la esteatosis, mejorando la condición (113). El gasto calórico mediante actividad física (ejercicio) generaría un efecto similar, observándose en estudios recientes - realizados en un modelo de ratón cuya dieta inducía NAFLD- que el ejercicio constante junto con restricción calórica, polarizaba a los M Φ hacia un fenotipo M2, con aumento de IL-10 y supresión de MCP1, TNF α , IL-1 β y IL-6, tanto en sangre como hígado (147). Por otra parte, el estudio de los fenotipos macrofágicos en modelos de falla hepática confiere una especial importancia en este proceso a las KC, las cuales tendrían roles críticos en la determinación del grado de injuria en este órgano. De hecho, la activación inicial del fenotipo M1 en las KC, con la consecuente producción y liberación de mediadores proinflamatorios como TNF- α , ROS y IFN- γ , promueve la injuria hepática y contribuye a la alteración del tejido, pudiendo ser un desencadenante para la falla hepática (148). En la evolución de esta patología también

participan los MΦ M2: si bien las KC activadas alternativamente contribuyen con mecanismos antiinflamatorios beneficiosos, se ha observado que una respuesta antiinflamatoria excesiva por parte de las KC puede resultar en una disfunción de los MΦ hepáticos, con una consecuente pérdida de funciones inmunes esenciales para la protección del hígado como la presentación de antígenos y el combate de infecciones oportunistas (149). Si bien la participación de las KC tiene relevancia en esta patología, los mecanismos moleculares y celulares involucrados en la regulación del fenotipo macrofágico no están claros (150). También cabe destacar que, a pesar de que M2 se asocia a la secreción de mediadores pro-fibróticos, la evidencia señala que la polarización de KC hacia un fenotipo M2, no favorecería la expresión de genes fibrogénicos y que de hecho, una inclinación hacia este fenotipo antiinflamatorio, tendría efectos anti-fibróticos (151).

Una consecuencia habitual de la progresión del NASH es el hepatocarcinoma (HCC). Si bien se sabe que la inflamación sostenida y, por tanto, los MΦ M1 participarían en esta transformación, los mecanismos exactos no están del todo claros. Se ha postulado que en presencia de carcinógenos, patologías como NAFLD y NASH se vuelven importantes factores predisponentes al desarrollo de HCC (152). En un estudio publicado en 2020, se encontró que en un contexto M1 inducido por CCl₄, se favorecía el crecimiento de células cancerosas inyectadas, observándose en las áreas cancerosas una infiltración prominente de MΦ M2 pro-tumorales, derivados de monocitos circulantes, sin embargo, aún se discute si el rol de estos en el desarrollo de HCC prevalece por sobre el de las KC, puesto a que tendrían una supuesta mayor plasticidad que estos residentes (153). En este sentido, se cree que la activación M1 de KC, favorecería la secreción de CCL2 que atrae a monocitos circulantes, favoreciendo la infiltración (154). De esto, se deduce que los KC tienen una cualidad dual y en apariencia contradictoria en el desarrollo de enfermedades hepáticas, puesto que el fenotipo M1, generado en respuesta a los estímulos nocivos del ambiente, perpetua la inflamación, daña a los hepatocitos y estimula a las HSC, que estimulan la angiogénesis y favorecen la fibrosis, la cual si ocurre de manera descontrolada, lleva a la generación de una insuficiencia hepática (cuando gran parte del tejido funcional es reemplazado por tejido cicatricial). Además, y en forma opuesta, cuando el estímulo nocivo se detiene, los MΦ pasan a un estado M2 reparativo, que promueve la regresión de la fibrosis y la proliferación de

hepatocitos, funciones que nuevamente, en desbalance, pueden ocasionar el favorecimiento de una proliferación descontrolada patológica (155). Debido a lo central que resultan estos procesos en la patogenia de las enfermedades hepáticas crónicas, la polarización macrofágica de las KC son consideradas importantes eslabones en el desarrollo de alternativas terapéuticas. (153). En este sentido, se cree que la activación M1 de KC, favorecería la secreción de CCL2 que atrae a monocitos circulantes, favoreciendo la infiltración (154). De esto, se deduce que los KC tienen una cualidad dual y en apariencia contradictoria en el desarrollo de enfermedades hepáticas, puesto que el fenotipo M1, generado en respuesta a los estímulos nocivos del ambiente, perpetua la inflamación, daña a los hepatocitos y estimula a las HSC, que estimulan la angiogénesis y favorecen la fibrosis, la cual si ocurre de manera descontrolada, lleva a la generación de una insuficiencia hepática (cuando gran parte del tejido funcional es reemplazado por tejido cicatricial). Además, y en forma opuesta, cuando el estímulo nocivo se detiene, los MΦ pasan a un estado M2 reparativo, que promueve la regresión de la fibrosis y la proliferación de hepatocitos, funciones que nuevamente, en desbalance, pueden ocasionar el favorecimiento de una proliferación descontrolada patológica (155). Debido a lo central que resultan estos procesos en la patogenia de las enfermedades hepáticas crónicas, la polarización macrofágica de las KC son consideradas importantes eslabones en el desarrollo de alternativas terapéuticas.

5.5.5. Rol de los omega-3 en el fenotipo macrofágico M1/M2

EPA y DHA son moléculas derivadas del metabolismo de los omega-3 cuyas funciones metabólicas han sido motivo de estudio en los últimos años, particularmente por el carácter antiinflamatorio y pro-resolutivo con el que han sido asociados. Los efectos de estas moléculas son de gran interés en la comunidad científica, tanto en el ámbito de enfermedades crónicas como en la polarización de los fenotipos macrofágicos M1 y M2. En este sentido, son múltiples los estudios sobre EPA y DHA que evidencian su participación en la reducción de los mediadores lipídicos derivados de AA y la modulación de la inflamación.

Estudios sobre el efecto de los omega-3 en la polarización macrofágica, realizados en células de linaje monocítico humano (U937 y THP-1) tratadas con DHA, mostraron un favorecimiento de la polarización hacia M2, con secreción de citoquinas antiinflamatorias (TGF- β , IL-10) y marcadores característicos (CD23, CD206). Al comparar esto con la polarización causada por IL-4, uno de los principales inductores del fenotipo M2, se observa que DHA actúa en forma dependiente de la fosforilación de la vía de p38 MAPK que participa en la polarización y producción de citoquinas y lleva a un aumento del factor de transcripción KLF4, un regulador de la actividad de NF- κ B (156). Existen diversos estudios que comparan los efectos de EPA y DHA cuando son administrados de forma independiente. En refuerzo de lo anterior, Allam *et al.*, encontró que una combinación de EPA/DHA en una proporción de 1:1 favorece la modulación de la inflamación, con efectos dosis-dependientes y la inhibición de la polarización hacia M1 es dependiente de la etapa en la que es administrado el PUFA: por ejemplo, EPA parece tener mayores efectos en un ambiente donde la inflamación ya está establecida, es decir, posee efectos resolutivos, mientras que DHA y la mezcla de EPA/DHA presentaron mayor potencia cuando son administradas al mismo tiempo que el inductor proinflamatorio, que en este caso era LPS (157). Existe evidencia de factores que serían claves en la modulación de omega-3 sobre la polarización de los M Φ y dada su importancia estos serán descritos a continuación.

5.5.5.1. Activación de PPAR γ

PPAR corresponde a una familia de factores de transcripción que participan en la homeostasis de los lípidos y la inflamación (158). La evidencia indica que existen tres isotipos: PPAR- α , encontrado principalmente en el hígado donde participa en la regulación del transporte de ácidos grasos, β -oxidación y cetogénesis (159); PPAR- β/δ , presentes en el musculo esquelético donde están involucrados en la regulación del catabolismo de ácidos grasos (160) y PPAR γ , que se encuentra en el tejido adiposo y células inmunes donde regula el almacenamiento de ácidos grasos y la secreción de adipocinas (161). Debido a su presencia en las células del sistema inmune, la activación de PPAR γ es uno de los principales mecanismos moduladores de la respuesta inflamatoria en M Φ estudiados. En este sentido, se

han realizado diversos estudios de los efectos de los omega-3 en esta vía. La evidencia indica que EPA y DHA juegan importantes roles en la activación de PPAR γ (162). De hecho, se ha demostrado que, además de los inductores clásicos de M Φ M2 como IL-4 e IL-13, DHA también actuaría como un ligando natural para este receptor, explicando la importancia de este PUFA en la polarización de los M Φ . Incluso, se ha visto que además de la activación de PPAR γ , DHA aumenta los niveles de su mRNA y la translocación nuclear de este receptor. La activación de PPAR γ por parte de DHA ha demostrado estimular la capacidad fagocítica característica de M2, aumentando tanto el número de M Φ con función fagocítica como el número de partículas fagocitadas por estas células (163). Incluso, se ha visto que esta vía de activación no solo es importante en los M Φ como tal, sino que también es de interés en células precursoras de los M Φ , como por ejemplo los monocitos resultantes de la hematopoyesis en MO, cuya activación sería un estímulo inicial para la diferenciación y maduración de estas células hacia un fenotipo macrofágico M2 (163). Concordante a lo anterior, Chang *et al.*, mostró que el consumo de EPA y DHA en la dieta se relaciona con un aumento en la activación de PPAR γ , generando una sobre estimulación de los M Φ M2 y una supresión simultánea del fenotipo M1 macrofágico (163). Además, encontraron que frente a niveles despreciables de EPA y DHA los M Φ tienden a un aumento de la expresión de marcadores típicos de M1 como CD80 y CD86 en la membrana y un aumento en la secreción de citoquinas proinflamatorias como IL-6, IL-12 e IL-23, por lo que la deficiencia de EPA y DHA ha sido asociada a una hiperactivación del fenotipo M1. En concordancia a lo anterior, los M Φ M2 con bajas concentraciones de DHA mostraron una merma en la activación de la vía STAT6 y un aumento en la expresión de CD80 y CD86. De lo anterior se desprende que EPA y DHA cumplen funciones sustanciales en la plasticidad de los M Φ promoviendo en general el carácter antiinflamatorio de estos (164).

Los omega-3 tendrían un efecto modulador del fenotipo en M Φ de distintos tejidos. En este sentido, el grupo de Luo *et al.*, estudiaron el efecto de la administración de EPA y DHA en modelos de KC M1 donde evidenciaron una mantención de marcadores típicos del fenotipo proinflamatorio, pero a su vez un aumento en la expresión de los marcadores de fenotipo M2, sugiriendo que la administración de omega-3 estimula la activación de la vía PPAR γ promoviendo la polarización de M Φ hacia un fenotipo antiinflamatorio. Los efectos

de la polarización de KC hacia un fenotipo antiinflamatorio no solo se relacionan a la disminución de la inflamación, sino que también los MΦ M2 estimulados por omega-3 en el hígado tienen un importante rol en el metabolismo lipídico promoviendo la oxidación de los ácidos grasos (165), disminuyendo las ROS y aminorando el daño de la arquitectura hepática en procesos de fibrosis (166). La evidencia más reciente señala que, de acuerdo con un modelo de ratones alimentados con una dieta rica en grasas y sucrosa (modelo de síndrome metabólico), la administración de EPA (en forma de fosfolípidos), disminuía las citoquinas IL-1 β , TNF- α , y CCL2 en el suero. Por lo general, en este modelo se observa infiltración de MΦ M1 en el tejido hepático, lo que se redujo tras la administración, comprobándose además la polarización de KC hacia M2, lo que se replicó en tejido adiposo y en MΦ de la línea RAW264.7, esto se sugiere, ocurriría mediante la estimulación de PPAR γ , adicional a una reducción en la activación NF- κ B (167). En síntesis, EPA y DHA promueven la polarización macrofágica de tipo M2 mediante la activación de la vía PPAR γ .

5.5.5.2. Interrupción de la señalización TLR-dependiente

La literatura indica que los omega-3 tienen efectos directos en la polarización de los MΦ. En este sentido, y como se ha mencionado anteriormente, EPA y DHA han sido asociados a la cardioprotección y recientemente, a la disminución del riesgo de formar placas de ateroma, un proceso en donde los MΦ tienen un rol crucial; en modelos murinos de aterosclerosis (ratones Apo E^{-/-}, con un bajo *clearance* de lipoproteínas que lleva a una acumulación de ésteres de colesterol en sangre (168)) se observó que la administración oral de EPA y DHA disminuye la disposición de TLR4 en balsas lipídicas de MΦ y otras células, que son microdominios de la membrana celular ricas en colesterol y esfingolípidos que participan en la modulación de fenotipos al servir como plataformas de señalización; afectando también su organización, ya que al incorporarse en la membrana lipídica y aumentar su fluidez, podrían disolver estos microdominios, lo que disminuiría la generación de respuestas inflamatorias (169), vale decir, inhibiendo la polarización hacia un fenotipo proinflamatorio M1 (170). Adicionalmente, EPA y DHA han mostrado disminuir la actividad de la enzima NADPH oxidasa disminuyendo la producción de ROS, inductores de la activación de la vía TLR4. Lo

anterior ha sido asociado a una reducción en su dimerización, inhibiendo su activación y el consecuente fenotipo macrofágico M1 (171). Si bien los omega-3 están involucrados en la inhibición de TLR4, estudios en MΦ RAW 264.7 muestran que aunque DHA es incorporado en las membranas, este no afecta la expresión del receptor ni de sus complejos y se ha propuesto que la inhibición ocurriría más abajo en la cascada de señalización e incluso que podría ser citoquina específica, al observarse que tanto EPA como DHA son capaces de disminuir la activación M1 de los MΦ estimulados con LPS, gracias a una supresión en la activación de TLR-4, teniendo como consecuencia una disminución en la secreción de IL-6 mucho mayor que la de TNF- α (172). De lo anterior, se concluye que los omega-3 participan en la inhibición de la vía TLR4 e inhiben la polarización de los MΦ hacia un fenotipo proinflamatorio M1.

5.5.5.3. Regulación de ROS y autofagia

Al tener efectos protectores sobre patologías cuyas etiologías tienen relación con el desbalance de ROS, las vías reguladoras antioxidantes toman particular interés en el estudio de EPA y DHA. En este contexto, destaca Nrf2 (del inglés, *Nuclear factor erythroid-derived 2-like 2*), un factor de transcripción maestro regulador de la respuesta antioxidante. En 2007, Gao *et al.*, observaron que la oxidación de EPA y DHA, *in vivo*, inducía las vías antioxidantes mediadas por Nrf2 (173), lo cual se ha comprobó nuevamente al comparar MΦ murinos peritoneales Nrf2^(-/-) con Nrf2^(+/+), donde se generaba una disminución de iNOS, COX-2 y citoquinas proinflamatorias como IL-1 β , IL6, TNF- α e incluso reduciendo los efectos de la inducción por LPS, con disminución de CXCL10, tras estimulación con EPA y DHA, sólo en aquellos que poseían el gen para Nrf2 (173, 174), lo cual se ha comprobó nuevamente al comparar MΦ murinos peritoneales Nrf2^(-/-) con Nrf2^(+/+), donde se generaba una disminución de iNOS, COX-2 y citoquinas proinflamatorias como IL-1 β , IL6, TNF- α e incluso reduciendo los efectos de la inducción por LPS, con disminución de CXCL10, tras estimulación con EPA y DHA, sólo en aquellos que poseían el gen para Nrf2 (174), deduciéndose que los efectos de inhibición del fenotipo M1 eran mediados, al menos en parte, por este factor. Esto, sin embargo, no se replica de igual forma si al momento de la

administración estos PUFA ya se encuentran oxidados y, de hecho, por el contrario, se ha notado que esto promueve una respuesta proinflamatoria (175). También se le ha atribuido un rol polarizador M1/M2 importante a la autofagia, un proceso por el cual las células eliminan proteínas mal plegadas u otros componentes celulares mediante autofagosomas, lo que según Nakahira *et al.*, permitiría la eliminación de inflamomas (176), favoreciendo la polarización M2. En este contexto, en 2014 se observó que, en monocitos U937, EPA y DHA inducen la expresión de LC3-II, un conjugado de LC3 (del inglés, *Microtubule-associated protein 1A/1B-light chain 3*), proteína involucrada e indicadora de la formación de autofagosomas capaces de degradar inflamomas como NLRP3, AIM2 y NAIP5/NLRC4, que participan en la secreción de citoquinas como IL-1 β e IL-8, características del fenotipo M1 (156, 177). Englobando tanto autofagia como ROS, una investigación en 2017, realizada por Mildenerger *et al.*, reportó que la administración de PUFA omega-3 en M Φ RAW264.7, causaba un aumento en la formación de cuerpos proteicos SQSTM1/p62, los cuales almacenan temporalmente, en un contexto de estrés celular, proteínas mal plegadas listas para eliminarse. Estos cuerpos se encuentran formados por moléculas que además de participar directamente en la autofagia, modulan la inflamación y la acumulación de ROS. Entre estas se encuentran: el receptor de macroautofagia SQSTM1 (del inglés, *Sequestosome-1*), el sensor de ROS KEAP1 (del inglés, *Kelch-like ECH-associated protein 1*) y la enzima TNFAIP3 (del inglés, *Tumor necrosis factor alpha-induced protein 3*) (178). SQSTM1 forma agregados para secuestrar proteínas ubiquitinadas; KEAP1 destaca por su interacción con Nrf2, estimulando su traslocación al núcleo en presencia de ROS, mientras que la enzima TNFAIP3 limita la respuesta inflamatoria derivada de TNF- α ; postulándose la oxidación transitoria de omega-3 al interior de la célula, como mecanismo activador de las acciones de estas moléculas. Por tanto, todas estas vías, estimuladas por EPA y DHA, tienen en común la limitación de las características M1 en M Φ : defectos en la autofagia de M Φ causarían la promoción de un fenotipo proinflamatorio (179), por lo que, tanto esta como la activación de Nrf2, disminuirían la secreción de citoquinas proinflamatorias e impedirían el arresto del ciclo celular inducido por proteínas mal plegadas y el daño oxidativo (180). Por tanto, todas estas vías, estimuladas por EPA y DHA, tienen en común la limitación de las características M1 en M Φ : defectos en la autofagia de M Φ causarían la promoción de un fenotipo proinflamatorio (179), por lo que, tanto esta como la activación de Nrf2, disminuirían la

secreción de citoquinas proinflamatorias e impedirían el arresto del ciclo celular inducido por proteínas mal plegadas y el daño oxidativo (180).

5.5.5.4. Estimulación de FFA4

Otro posible mediador de los efectos de EPA y DHA en la polarización M1 a M2 es FFA4 (del inglés, *Free-fatty-acid receptor-4*, también llamado GPR120) un receptor acoplado a proteína G de PUFA de cadena media y larga, cuya presencia se ha demostrado en las KC del hígado, MΦ intraperitoneales, y en MΦ M1 y M2 de la línea murina RAW264.7 (181). Pertenece a la superfamilia de las GPCR (del inglés, *G protein-coupled receptors*), gran grupo de receptores que participan en la señalización entre células y tejidos. Son varios los miembros de esta familia que participan en la señalización de los PUFA libres, pero es FFA4 quien reconoce a los PUFA insaturados de cadena larga como EPA y DHA (182). La activación del receptor, dependiente de su interacción con proteínas adaptadoras β -*arrestin*, es capaz de reducir la migración de MΦ M1 al tejido adiposo y modular la fosforilación de IKK β y JNK, al igual que la traslocación de NF- κ B (*Figura 5*), lo que se traduce en una inhibición del fenotipo M1 (183), mecanismo que es capaz de mantener la inflamación bajo control en órganos como el hígado (183), donde se ha observado que la expresión disfuncional del receptor, lleva al desarrollo de obesidad y esteatosis a temprana edad (184).

La administración intravenosa de omega-3 ha demostrado tener efectos protectores sobre lesiones de isquemia-reperfusión murinos, en forma dependiente de su actividad sobre el FFA4 presente en las KC, disminuyendo el número de células necróticas y aumentando los niveles de citoquinas antiinflamatorias características de M2, incluso en hígados que no habían recibido daño alguno (185). En MΦ RAW264.7 también se ha comprobado que DHA, por medio de FFA4, es capaz de activar vía fosforilación de ERK1/2 a la fosfolipasa A₂ citosólica (cPLA₂), que cataliza la liberación de AA desde la membrana y posee capacidad moduladora de la inflamación; y a COX-2, generando la liberación de PGE₂, que juega un rol antiinflamatorio al inhibir tanto la liberación de IL-6 inducido por LPS, como

parcialmente a NF- κ B, por medio del receptor de PGE₂ (EP4) (181). De lo anterior se desprende que EPA y DHA estimulan la polarización del fenotipo macrofágico M2 mediante la activación de FFA4.

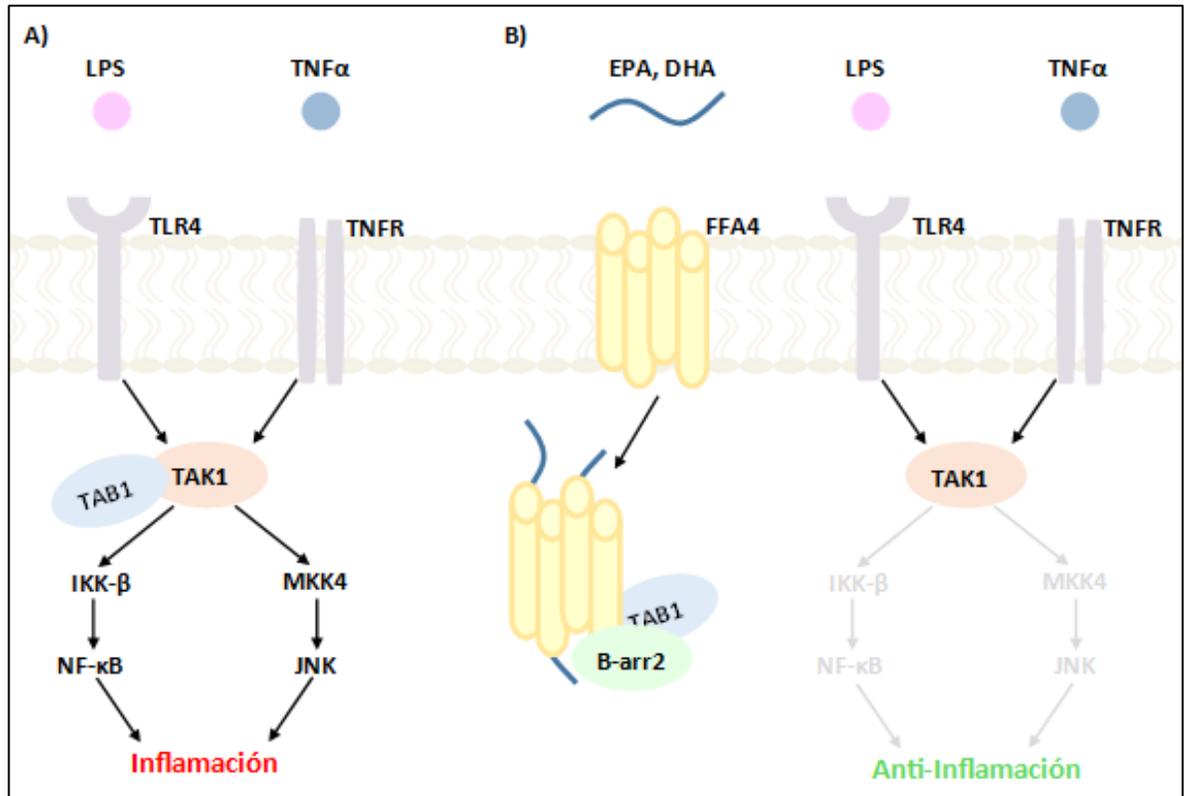


Figura 5: Mecanismos antiinflamatorios mediados por la activación de FFA4 por omega-3 en M Φ . A) La activación de TLR4 y TNFR mediante LPS y TNF- α respectivamente, convergen en una misma vía citoplasmática que involucra la asociación de TAK1 (del inglés, *TGF- β Activated Kinase 1*) y TAB1 (del inglés, *TGF- β Activated Kinase 1 Binding Protein*) y que tiene por consecuencia la activación de NF- κ B y JNK, resultando en un proceso inflamatorio. B) La activación de FFA4 mediante omega-3 como EPA y DHA resulta en la internalización de este receptor que en el intracelular se asocia a β -arrestina 2 y TAB1, secuestrando este último, y como consecuencia inhibe la cascada inflamatoria. Tomado y adaptado de (Talukdar, S.) 2011 (186).

En síntesis, la administración de EPA y DHA es capaz de actuar sobre una gran variedad de procesos macrofágicos, tendiendo a favorecer la polarización hacia un fenotipo M2 antiinflamatorio. Estos PUFA actúan por medio de la estimulación del factor de transcripción Nrf2 y el receptor PPAR γ , lo que lleva a un aumento de moléculas antioxidantes, con disminución consecuente de ROS, lo que disminuye la activación mediada TLR,

característica del fenotipo M1 y con efectos proinflamatorios. Son capaces también de favorecer la autofagia al aumentar la producción de LC3II y SQSTM1/p62, que participan en la degradación de inflamomas cruciales para la producción de citoquinas proinflamatorias. Mediante p38 MAPK, son capaces de disminuir la inducción de NF- κ B, un clásico modulador de la respuesta inflamatoria. Y mediante FFA4, secuestran a proteínas señalizadoras de la respuesta inflamatoria, inhibiéndola. Todas estas interacciones, en conjunto, caracterizan a EPA y DHA como moduladores negativos de la respuesta proinflamatoria en M Φ y polarizadores hacia M2, habiéndose observado en concordancia con estas conclusiones que, en bajas concentraciones de estos PUFA, hay hiperactivación de un fenotipo M1 (164).

5.6. SPM y su relación con el fenotipo macrofágico M1/M2

La evidencia exhibida anteriormente indica que EPA y DHA participan en la polarización del fenotipo macrofágico. En este punto, resulta interesante esclarecer la relación de los mediadores lipídicos pro-resolutivos derivados de EPA y DHA sobre la modulación del fenotipo macrofágico. Históricamente, se ha caracterizado a los SPM como moléculas con características antiinflamatorias y resolutivas mediante mecanismos como la reducción de la infiltración inflamatoria, disminución de la migración trans epitelial de PMN, disminución en la expresión de citoquinas proinflamatorias y un aumento de la fagocitosis de PMN apoptóticos. Lo anterior ha sido relacionado con una mejoría en la fase resolutiva de los procesos inflamatorios y una restauración de la homeostasis general, por lo que es probable que los SPM actúen sobre el ambiente inflamatorio promoviendo la polarización de los M Φ hacia el fenotipo M2. Investigaciones de los últimos años indican que los mediadores lipídicos de características proinflamatorias (eicosanoides) y antiinflamatorias (SPM) son sintetizados por los fenotipos macrofágicos M1 y M2, respectivamente. De hecho, se ha visto que los M Φ M2 producen MaR1 y niveles más bajos de LTB4 y PG que los M Φ M1 (187). Dalli y Serhan (2012) observaron que los M Φ en esferocitosis, aumentan la producción de RvD1, situación que promueve los niveles de marcadores asociados a M2. Al mismo tiempo, la esferocitosis de PMN crea un *feedback* positivo, que favorece la producción de SPM como

RvD2, LXB4 y RvE2 en MΦ (187). También se ha observado -en estudios recientes de inflamación pulmonar inducida por nanomateriales (modelo murino)- que hay una correlación temporal entre los *peaks* de resolvinas endógenas y la polarización hacia un fenotipo macrofágico M2 (188). La exposición prolongada de los MΦ a nanomateriales que estimulaban a M1, citoquinas proinflamatorias y la producción de LTB4 y PGE2, a los pocos días evoluciona a un fenotipo que presenta una disminución dichas moléculas y un aumento, también progresivo, de los marcadores M2, en conjunto con los SPM RvD1 y RvE1 (vía ALOX15 en MΦ murinos, equivalente a 15-LOX en MΦ humanos) (188), lo que se condice con otros estudios (189, 190). Los efectos de estas Rv, al igual que en otros modelos, inducen la disminución de la infiltración de PMN, el primer paso para la resolución de la inflamación. Por otra parte, Werz *et al.*, evidenciaron (en modelos de MΦ expuestos a cepas de *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*), que tanto el fenotipo M1 -sintetizando LT y PG que inician el proceso inflamatorio- como el fenotipo M2 -que se desenvuelve en la resolución y desenlace de la inflamación mediante la liberación de SPM- participan en la respuesta frente a patógenos. En este mismo estudio, Werz *et al.*, encontraron que la patogenicidad de los microorganismos es un factor contribuyente al desencadenamiento de la respuesta inflamatoria, especialmente en la síntesis y secreción de LTB4 por parte del fenotipo M1 macrofágico, la cual se vio disminuida frente en la exposición de MΦ a cepas de *E. coli* no patogénica (191). Una relación comúnmente observada es que los MΦ M1 presentan una mayor síntesis de eicosanoides como TXB2 y LTB4, además de RvD2, la cual tiene efectos antibacterianos (187).

Estudios realizados por Titos *et al.*, demostraron que RvD1, además de ser producido por MΦ, al ser administrado a ratones obesos reduce la expresión de TNF- α e IL-6 y aumenta la expresión de Arg1 en la membrana de MΦ de tejido adiposo, evidenciando que RvD1 disminuye y aumenta la expresión de marcadores típicos de M1 y M2, respectivamente. Adicionalmente, los autores hallaron que la administración de RvD1 no solo aumentó la actividad fagocítica, sino que también atenuó la producción de ROS, proceso típicamente asociado al fenotipo M1 (192). Algo similar fue reportado por Kang *et al.*, donde se halló, en modelos de enfermedad hepática crónica, que la administración de RvD1 además de promover la reducción de mediadores proinflamatorios tales como TNF- α e IL-6, aumentó

la expresión de F4/80 en la membrana de los MΦ, siendo este un marcador típico de MΦ alternativos (193). Lo anterior sustenta fuertemente la participación de SPM en la polarización M2 macrofágica (192). Sin embargo, y considerando lo mencionado anteriormente, no existe certeza de que la relación SPM-MΦ M2 sea exclusiva, puesto que en un estudio sobre las implicancias de la administración de MaR1 en tejido adiposo, si bien se evidenció una disminución en la tasa de infiltración, no se halló una estimulación hacia la polarización macrofágica de tipo M2 (194).

La polarización hacia M2, es capaz de causar eventos en apariencia contradictorios pues, por una parte, favorece la resolución, pero también se han asociado las moléculas que producen a un favorecimiento del ambiente tumoral, por promover la angiogénesis, entre otros factores. En oposición a esta idea, Shan *et al.*, reportaron que la ingesta de DHA puede inhibir el cáncer prostático *in vivo*, lo que no se replicó en los ensayos con células tumorales *in vitro* a menos que se usara un sistema de co-cultivo con MΦ. En este mismo estudio se reportó que la administración de RvD1 y D2 ejerce este mismo efecto anti-tumoral por medio de los MΦ, promoviendo la polarización hacia un fenotipo M2a y modulando a los MΦ M2d, que tradicionalmente se asocian a la producción de moléculas pro-tumorales (195). Las vías por las cuales estas Rv mediarían sus respuestas, serían diferentes de las clásicamente descritas para sus PUFA precursores, al tener efectos sobre PKA (del inglés, *Protein kinase A*) (195), una enzima que se fosforila y activa en forma dependiente de cAMP (AMP cíclico), molécula cuyas concentraciones aumentan en respuesta a RvD1 y RvD2 (196). PKA tendría efectos diferenciales dependiendo de su ubicación celular, interacciones con otras proteínas y de las vías activadas, suprimiendo vías mediadas por IFN-γ (M1) y favoreciendo aquellas inducidas por IL-4 (M2a) (197), lo que explicaría los efectos diferenciales de las RvD sobre cada fenotipo.

En cuanto a la participación de los SPM en la polarización macrofágica y su rol en la enfermedad hepática crónica, se ha evidenciado que la administración de MaR1 puede inducir la división celular, promoviendo el ciclo y la proliferación celular, características resolutivas de los MΦ M2. Además de lo mencionado, la administración de MaR1 demostró

tener efectos en la modulación de citoquinas primarias M1 (como TNF- α e IL-6), las cuales son generadas por las KC durante la reperfusión, estimulando la regeneración del tejido hepático. Esto tiene especial importancia en la comprensión de la polarización macrofágica, donde la administración de MaR1 mostró, además de la estimulación del ciclo celular, la disminución de la actividad de NF- κ B, por lo que, en este contexto, es posible que el fenotipo M2 macrofágico esté relacionado a este compuesto (198).

Por otra parte, en un modelo murino de hepatitis inmune inducida por concanavalina A (ConA) -una lectina con capacidad mitógena- donde MaR1 fue capaz de revertir varios de los signos inflamatorios en el tejido hepático. En este, se generó agregación de KC, infiltrado con aumento de citoquinas proinflamatorias y apoptosis de hepatocitos. MaR1 redujo la mortalidad causada por ConA y la generación ROS y activación de la vía NF- κ B en M Φ presentes en el hígado, lo que indicaría una inhibición de la vías M1 de polarización; estos resultados se repitieron *in vitro*, en M Φ RAW264.7 a los que se les había administrado ConA, donde MaR1 promovía su apoptosis, inhibía la liberación de citoquinas proinflamatorias y favorecía la liberación de las antiinflamatorias (199), promoviendo un fenotipo M2, con la limitación de que la línea celular usada reflejaría el comportamiento únicamente de los M Φ infiltrados y no necesariamente el de las KC.

Como se mencionó anteriormente, el estudio de modelos de síndrome metabólico llevó a la observación de los efectos polarizadores M2 de DHA sobre los M Φ del tejido adiposo, lo que era inducido vía FFA4, sin embargo, también se observaron efectos positivos sobre la esteatosis hepática, a pesar de la baja presencia de FFA4 en este tejido. Yong-Hyun *et al.*, reportó en 2019 que estos efectos en el tejido hepático ocurrirían por medio de la estimulación de ROR α (del inglés, *Retinoic acid-related orphan receptor α*), un factor de transcripción dependiente de ligando que regula el metabolismo lipídico y la inflamación. Su activación, inducida en el estudio por medio de MaR1, inclinó la polarización hacia M2 y mejoró los síntomas de NASH, generando además un *feedback* positivo sobre la biosíntesis de MaR1 al inducir a 12-LOX (200). Adicionalmente, se reportó que la presencia de ROR α es mayor en KC que en M Φ derivados de circulación, por lo que las KC y su polarización tendrían un rol

preponderante en el desarrollo y mantención de la enfermedad hepática. En este sentido, la apoptosis de KC ha sido descrita como un efecto temprano de la respuesta al consumo de alcohol, sin embargo, también se ha observado que consumidores crónicos de alcohol y pacientes con obesidad mórbida -con daño hepático moderado y un predominio de KC M2- presentaban preponderancia de KC en apoptosis. Resultados similares fueron observados en modelos animales de hepatopatía alcohólica y NAFLD, donde además se comprobó que estas células apoptóticas se reducían exclusivamente a KC polarizadas hacia M1, lo cual se describió como un mecanismo mediado por la secreción de IL-10 por parte de KC M2, efecto dependiente de la activación de la arginasa en células con una alta expresión de la enzima iNOS (151). Esto sería indicativo de una modulación directa de KC M1 por parte de aquellas KC polarizadas hacia M2.

Adicionalmente, los investigadores Kang *et al.*, -en un modelo murino de inflamación hepática estéril inducida por isquemia-reperfusión donde se favorece una polarización M1 de las KC- demostraron los efectos pro-resolutivos y antiinflamatorios de RvD1 mediante la activación de ALX/FPR2, cuya estimulación promueve tanto la polarización (reducción de TNF- α e IL-6) como la esferocitosis realizada por las KC de fenotipo M2. Además, la administración de RvD1 modificó el infiltrado inflamatorio, disminuyendo la población de neutrófilos presentes en la zona tras 24 horas de perfusión. Un análisis interesante es la relación RvD1/injuria hepática que establecieron los investigadores entre las concentraciones de RvD1 de producción endógena y los niveles de ALT (alanina aminotransferasa, parámetro indicativo de la citólisis hepática) producidos en el hígado, siendo estos directamente proporcionales, exhibiendo un aumento gradual con un *peak* a las seis horas para luego disminuir hasta las 24 horas de perfusión (193). Lu *et al.*, también evaluaron los efectos de RvD1, esta vez en la activación de la vía MAPK en células de hepatocarcinoma tratadas con LPS. Los resultados de este estudio indican que la administración de RvD1 no solo reduce la concentración de mRNA, sino que también la expresión y liberación, de TNF- α , IL-1 β e IL-6; lo que es sugerente de un efecto polarizador de RvD1 hacia el fenotipo M2 macrofágico. Adicionalmente, los investigadores informaron que la administración de RvD1 reduce la proliferación de las células hepáticas cancerígenas mediante la inhibición de MAPK, por lo que este mediador tendría efectos positivos en el hepatocarcinoma (201). En conjunto, estos

resultados sugieren que RvD1 estimula las funciones pro-resolutivas del fenotipo M2 e inhiben el carácter proinflamatorio del fenotipo M1 macrofágico en modelos de isquemia reperfusión y hepatocarcinoma, respectivamente. A partir de los estudios mencionados, también resulta posible destacar la relevancia de las KC en el desarrollo y resolución de las enfermedades hepáticas, principalmente tras el evento isquemia-reperfusión ya que estas aumentan en forma considerable la fagocitosis de PMN y su depleción suprime los efectos beneficiosos generados por RvD1 (193).

VI. Conclusión

Mediante la presente memoria, se ponen en evidencia los efectos antiinflamatorios y pro-resolutivos de omega-3 y sus derivados, los SPM. La literatura revisada indica que DHA y EPA ejercen estos efectos, en parte, mediante la estimulación del fenotipo M2 pro-resolutivo de los M Φ , lo que tiene efectos protectores en modelos de hepatopatía crónica. Los SPM comparten esta característica protectora con sus precursores y tanto Rv como MaR1, tienen efectos moduladores de la inflamación en enfermedades hepáticas, observándose que reducen características típicamente asociadas a M Φ /KC M1, potenciando el fenotipo M2. Este creciente cuerpo de evidencia sustenta la hipótesis de que los SPM actuarían sobre las KC, polarizándolas hacia un fenotipo M2 pro-resolutivo, con un posible rol terapéutico en enfermedades hepáticas crónicas. Para sustentar este supuesto, resulta necesario indagar más en profundidad los efectos de RvD, RvE, PD1 y MaR1 sobre los M Φ y el tejido hepático en inflamación crónica y evaluar si los efectos estudiados en modelos murinos podrían ser replicados en células humanas.

VII. Referencias bibliográficas

1. Fabian C, Kimler B, Hursting S. Omega-3 fatty acids for breast cancer prevention and survivorship. *Breast cancer research : BCR*. 2015;17:62.
2. Asrani SK, Devarbhavi H, Eaton J, Kamath PS. Burden of liver diseases in the world. *Journal of Hepatology*. 2019;70(1):151-71.
3. Tapper EB, Parikh ND. Mortality due to cirrhosis and liver cancer in the United States, 1999-2016: observational study. *Bmj-British Medical Journal*. 2018;362.
4. Estes C, Razavi H, Loomba R, Younossi Z, Sanyal AJ. Modeling the epidemic of nonalcoholic fatty liver disease demonstrates an exponential increase in burden of disease. *Hepatology*. 2018;67(1):123-33.
5. Tomas Alonso F, Luisa Garmendia M, de Aguirre M, Searle J. Mortality trend from liver cirrhosis in Chile from 1990 to 2007. *Revista Medica De Chile*. 2010;138(10):1253-8.
6. Stepanova M, De Avila L, Afendy M, Younossi I, Huong P, Cable R, et al. Direct and Indirect Economic Burden of Chronic Liver Disease in the United States. *Clinical Gastroenterology and Hepatology*. 2017;15(5):759-+.
7. 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. *FASEB Journal: Official Publication Of The Federation Of American Societies For Experimental Biology*. 2012;26(4):1755-65.
8. Mokdad AA, Lopez AD, Shahrzaz S, Lozano R, Mokdad AH, Stanaway J, et al. Liver cirrhosis mortality in 187 countries between 1980 and 2010: a systematic analysis. *BMC Medicine*. 2014;12(1):145.
9. Asrani SK, Devarbhavi H, Eaton J, Kamath PS. Burden of liver diseases in the world. *J Hepatol*. 2019;70(1):151-71.
10. de Carvalho JR, Villela-Nogueira CA, Perez RM, Portugal FB, Flor LS, Campos MR, et al. Burden of Chronic Viral Hepatitis and Liver Cirrhosis in Brazil - the Brazilian Global Burden of Disease Study. *Ann Hepatol*. 2017;16(6):893-900.
11. Younossi ZM, Koenig AB, Abdelatif D, Fazel Y, Henry L, Wymer M. Global Epidemiology of Nonalcoholic Fatty Liver Disease-Meta-Analytic Assessment of Prevalence, Incidence, and Outcomes. *Hepatology*. 2016;64(1):73-84.
12. Riquelme A, Arrese M, Soza A, Morales A, Baudrand R, Pérez-Ayuso RM, et al. Non-alcoholic fatty liver disease and its association with obesity, insulin resistance and increased serum levels of C-reactive protein in Hispanics. *Liver Int*. 2009;29(1):82-8.
13. Iñárraiegui M. El hepatocarcinoma. *Anales del Sistema Sanitario de Navarra*. 2016;39:179-80.
14. Hoda SA, Ginter PS. Robbins and Cotran Pathologic Basis of Disease. 9th ed. *American Journal of Clinical Pathology*. 2015;144(1):172-.
15. Aster KA. Hígado y vesícula biliar. In: Thiese N, editor. *Robbins y Cotran, Patología estructural y funcional*. Barcelona: Elsevier; 2015.
16. Huang Y, Chen Y, Zhu H, Li W, Ge Y, Huang X, et al. A liver fibrosis staging method using cross-contrast network. *Expert Systems with Applications*. 2019;130:124-31.
17. Almeda-Valdes P, Cuevas-Ramos D, Aguilar-Salinas CA. Metabolic syndrome and non-alcoholic fatty liver disease. *Annals of Hepatology*. 2009;8:S18-S24.

18. Ghouri YA, Mian I, Rowe JH. Review of hepatocellular carcinoma: Epidemiology, etiology, and carcinogenesis. *Journal of carcinogenesis*. 2017;16:1-.
19. Rotman Y, Sanyal AJ. Current and upcoming pharmacotherapy for non-alcoholic fatty liver disease. *Gut*. 2017;66(1):180-90.
20. Aydin MM, Akcali KC. Liver fibrosis. *Turkish Journal of Gastroenterology*. 2018;29(1):14-21.
21. Senoo H, Mezaki Y, Fujiwara M. The stellate cell system (vitamin A-storing cell system). *Anatomical Science International*. 2017;92(4):387-455.
22. Ratnayake W, Galli C. Fat and Fatty Acid Terminology, Methods of Analysis and Fat Digestion and Metabolism: A Background Review Paper. *Annals of nutrition & metabolism*. 2009;55:8-43.
23. Tvrzicka E, Kremmyda LS, Stankova B, Zak A. Fatty acids as biocompounds: their role in human metabolism, health and disease--a review. Part 1: classification, dietary sources and biological functions. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub*. 2011;155(2):117-30.
24. Lăcătușu C-M, Grigorescu E-D, Floria M, Onofriescu A, Mihai B-M. The Mediterranean Diet: From an Environment-Driven Food Culture to an Emerging Medical Prescription. *International journal of environmental research and public health*. 2019;16(6):942.
25. Goncalves-de-Albuquerque CF, Medeiros-de-Moraes IM, Oliveira FM, Burth P, Bozza PT, Castro Faria MV, et al. Omega-9 Oleic Acid Induces Fatty Acid Oxidation and Decreases Organ Dysfunction and Mortality in Experimental Sepsis. *PLoS One*. 2016;11(4):e0153607.
26. Gibson RA, Makrides M. The role of long chain polyunsaturated fatty acids (LCPUFA) in neonatal nutrition. *Acta Paediatr*. 1998;87(10):1017-22.
27. Saini RK, Keum YS. Omega-3 and omega-6 polyunsaturated fatty acids: Dietary sources, metabolism, and significance - A review. *Life Sci*. 2018;203:255-67.
28. Patterson E, Wall R, Fitzgerald GF, Ross RP, Stanton C. Health implications of high dietary omega-6 polyunsaturated Fatty acids. *Journal of nutrition and metabolism*. 2012;2012:539426-.
29. Wang D, Dubois RN. Eicosanoids and cancer. *Nat Rev Cancer*. 2010;10(3):181-93.
30. Scafoli E, Liverani E, Belluzzi A. The Imbalance between n-6/n-3 Polyunsaturated Fatty Acids and Inflammatory Bowel Disease: A Comprehensive Review and Future Therapeutic Perspectives. *International journal of molecular sciences*. 2017;18(12):2619.
31. Dinarello CA. Proinflammatory cytokines. *Chest*. 2000;118(2):503-8.
32. Calder PC. Polyunsaturated fatty acids, inflammatory processes and inflammatory bowel diseases. *Mol Nutr Food Res*. 2008;52(8):885-97.
33. Bang HO, Dyerberg J, Sinclair HM. The composition of the Eskimo food in north western Greenland. *Am J Clin Nutr*. 1980;33(12):2657-61.
34. Tur JA, Bibiloni MdM, Sureda A, Pons A. Dietary sources of omega 3 fatty acids: Public health risks and benefits. *The British journal of nutrition*. 2012;107 Suppl 2:S23-52.
35. Simopoulos AP. The importance of the omega-6/omega-3 fatty acid ratio in cardiovascular disease and other chronic diseases. *Exp Biol Med (Maywood)*. 2008;233(6):674-88.
36. Sakai C, Ishida M, Ohba H, Yamashita H, Uchida H, Yoshizumi M, et al. Fish oil omega-3 polyunsaturated fatty acids attenuate oxidative stress-induced DNA damage in vascular endothelial cells. *PLOS ONE*. 2017;12(11):e0187934.
37. Zehr KR, Walker MK. Omega-3 polyunsaturated fatty acids improve endothelial function in humans at risk for atherosclerosis: A review. *Prostaglandins Other Lipid Mediat*. 2018;134:131-40.

38. Wiest EF, Walsh-Wilcox MT, Walker MK. Omega-3 Polyunsaturated Fatty Acids Protect Against Cigarette Smoke-Induced Oxidative Stress and Vascular Dysfunction. *Toxicol Sci.* 2017;156(1):300-10.
39. Li P, Wang D, Lucas J, Oparil S, Xing D, Cao X, et al. Atrial natriuretic peptide inhibits transforming growth factor beta-induced Smad signaling and myofibroblast transformation in mouse cardiac fibroblasts. *Circulation Research.* 2008;102(2):185-92.
40. Heydari B, Abdullah S, Pottala JV, Shah R, Abbasi S, Mandry D, et al. Effect of Omega-3 Acid Ethyl Esters on Left Ventricular Remodeling After Acute Myocardial Infarction The OMEGA-REMODEL Randomized Clinical Trial. *Circulation.* 2016;134(5):378-+.
41. Naeini Z, Toupchian O, Vatannejad A, Sotoudeh G, Teimouri M, Ghorbani M, et al. Effects of DHA-enriched fish oil on gene expression levels of p53 and NF-kappa B and PPAR-gamma activity in PBMCs of patients with T2DM: A randomized, double-blind, clinical trial. *Nutrition Metabolism and Cardiovascular Diseases.* 2020;30(3):441-7.
42. Lee JY, Plakidas A, Lee WH, Heikkinen A, Chanmugam P, Bray G, et al. Differential modulation of Toll-like receptors by fatty acids: preferential inhibition by n-3 polyunsaturated fatty acids. *Journal of Lipid Research.* 2003;44(3):479-86.
43. Leaf A, Kang JX, Xiao YF, Billman GE. Clinical prevention of sudden cardiac death by n-3 polyunsaturated fatty acids and mechanism of prevention of arrhythmias by n-3 fish oils. *Circulation.* 2003;107(21):2646-52.
44. Shang T, Liu L, Zhou J, Zhang M, Hu Q, Fang M, et al. Protective effects of various ratios of DHA/EPA supplementation on high-fat diet-induced liver damage in mice. *Lipids in Health and Disease.* 2017;16.
45. Singer P, Shapiro H, Theilla M, Anbar R, Singer J, Cohen J. Anti-inflammatory properties of omega-3 fatty acids in critical illness: novel mechanisms and an integrative perspective. *Intensive Care Medicine.* 2008;34(9):1580-92.
46. Allard JP, Aghdassi E, Mohammed S, Raman M, Avand G, Arendt BM, et al. Nutritional assessment and hepatic fatty acid composition in non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD): a cross-sectional study. *J Hepatol.* 2008;48(2):300-7.
47. Jain AP, Aggarwal KK, Zhang PY. Omega-3 fatty acids and cardiovascular disease. *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* 2015;19(3):441-5.
48. Sakamoto A, Saotome M, Iguchi K, Maekawa Y. Marine-Derived Omega-3 Polyunsaturated Fatty Acids and Heart Failure: Current Understanding for Basic to Clinical Relevance. *International Journal of Molecular Sciences.* 2019;20(16):19.
49. Tavazzi L, Maggioni AP, Marchioli R, Barlera S, Franzosi MG, Latini R, et al. Effect of n-3 polyunsaturated fatty acids in patients with chronic heart failure (the GISSI-HF trial): a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet.* 2008;372(9645):1223-30.
50. Villacorta H, Maisel AS. Soluble ST2 Testing: A Promising Biomarker in the Management of Heart Failure. *Arquivos Brasileiros De Cardiologia.* 2016;106(2):145-52.
51. Enguita M, Razquin N, Pamplona R, Quiroga J, Prieto J, Fortes P. The cirrhotic liver is depleted of docosahexaenoic acid (DHA), a key modulator of NF-kappa B and TGF beta pathways in hepatic stellate cells. *Cell Death & Disease.* 2019;10.
52. Schmoeker C, Weylandt KH, Kahlke L, Wang J, Lobeck H, Tiegs G, et al. Omega-3 fatty acids alleviate chemically induced acute hepatitis by suppression of cytokines. *Hepatology.* 2007;45(4):864-9.
53. Korbecki J, Baranowska-Bosiacka I, Gutowska I, Chlubek D. Cyclooxygenase pathways. *Acta Biochim Pol.* 2014;61(4):639-49.
54. Guirado Blanco O. Ácidos grasos omega-6 y omega-3 de la dieta y carcinogénesis mamaria: bases moleculares y celulares. *Medicentro Electrónica.* 2015;19:132-41.

55. Serhan CN. Pro-resolving lipid mediators are leads for resolution physiology. *Nature*. 2014;510(7503):92-101.
56. Poluha RL, Grossmann E. Inflammatory mediators related to arthrogenic temporomandibular dysfunctions. *BrJP*. 2018;1:60-5.
57. Bagga D, Wang L, Farias-Eisner R, Glaspy JA, Reddy ST. Differential effects of prostaglandin derived from omega-6 and omega-3 polyunsaturated fatty acids on COX-2 expression and IL-6 secretion. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2003;100(4):1751-6.
58. Smyth EM. Thromboxane and the thromboxane receptor in cardiovascular disease. *Clinical Lipidology*. 2010;5(2):209-19.
59. Remuzzi G, FitzGerald GA, Patrono C. Thromboxane synthesis and action within the kidney. *Kidney Int*. 41. United States 1992. p. 1483-93.
60. Innes JK, Calder PC. Omega-6 fatty acids and inflammation. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids*. 2018;132:41-8.
61. Weylandt KH, Chiu CY, Gomolka B, Waechter SF, Wiedenmann B. Omega-3 fatty acids and their lipid mediators: towards an understanding of resolvin and protectin formation. *Prostaglandins Other Lipid Mediat*. 2012;97(3-4):73-82.
62. Cabo-Garcia L, Achon-Tunon M, Gonzalez-Gonzalez MP. The influence of the polyunsaturated fatty acids in the prevention and promotion of cancer. *Nutricion Hospitalaria*. 2015;32(1):41-9.
63. Kwon Y. Immuno-Resolving Ability of Resolvins, Protectins, and Maresins Derived from Omega-3 Fatty Acids in Metabolic Syndrome. *Molecular Nutrition & Food Research*. 2020;64(4):12.
64. Serhan CN, Petasis NA. Resolvins and protectins in inflammation resolution. *Chemical Reviews*. 2011;111(10):5922-43.
65. Serhan CN, Dalli J, Colas RA, Winkler JW, Chiang N. Protectins and maresins: New pro-resolving families of mediators in acute inflammation and resolution bioactive metabolome. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular and Cell Biology of Lipids*. 2015;1851(4):397-413.
66. Norris PC, Arnardottir H, Sanger JM, Fichtner D, Keyes GS, Serhan CN. Resolvin D3 multi-level proresolving actions are host protective during infection. *Prostaglandins Leukotrienes and Essential Fatty Acids*. 2018;138:81-9.
67. Winkler JW, Orr SK, Dalli J, Cheng C-YC, Sanger JM, Chiang N, et al. Resolvin D4 stereoassignment and its novel actions in host protection and bacterial clearance. *Scientific Reports*. 2016;6.
68. Gobbetti T, Dalli J, Colas RA, Canova DF, Aursnes M, Bonnet D, et al. Protectin D1(n-3 DPA) and resolvin D5(n-3 DPA) are effectors of intestinal protection. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2017;114(15):3963-8.
69. Pham TL, Kakazu AH, He J, Jun B, Bazan NG, Bazan HEP. Novel RvD6 stereoisomer induces corneal nerve regeneration and wound healing post-injury by modulating trigeminal transcriptomic signature. *Scientific Reports*. 2020;10(1).
70. Marcheselli VL, Mukherjee PK, Arita M, Hong S, Antony R, Sheets K, et al. Neuroprotectin D1/protectin D1 stereoselective and specific binding with human retinal pigment epithelial cells and neutrophils. *Prostaglandins Leukotrienes and Essential Fatty Acids*. 2010;82(1):27-34.
71. Sommer C, Birklein F. Resolvins and inflammatory pain. *F1000 medicine reports*. 2011;3:19-.

72. 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*. 2009;206(1):15-23.
73. Mariqueo TA, Zuniga-Hernandez J. Omega-3 derivatives, specialized pro-resolving mediators: Promising therapeutic tools for the treatment of pain in chronic liver disease. *Prostaglandins Leukotrienes and Essential Fatty Acids*. 2020;158.
74. Serhan CN. Novel eicosanoid and docosanoid mediators: resolvins, docosatrienes, and neuroprotectins. *Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care*. 2005;8(2):115-21.
75. Chaplin DD. Overview of the immune response. *J Allergy Clin Immunol*. 2010;125(2 Suppl 2):S3-23.
76. Robin C, Bollerot K, Mendes S, Haak E, Crisan M, Cerisoli F, et al. Human placenta is a potent hematopoietic niche containing hematopoietic stem and progenitor cells throughout development. *Cell Stem Cell*. 2009;5(4):385-95.
77. Abbas AK, Lichtman AH, Pillai S, Baker DL, Baker A. *Cellular and molecular immunology* 2017.
78. Kennedy AD, DeLeo FR. Neutrophil apoptosis and the resolution of infection. *Immunol Res*. 2009;43(1-3):25-61.
79. Benoit M, Desnues B, Mege JL. Macrophage polarization in bacterial infections. *J Immunol*. 2008;181(6):3733-9.
80. Bjorkman PJ. MHC restriction in three dimensions: a view of T cell receptor/ligand interactions. *Cell*. 1997;89(2):167-70.
81. Turner MD, Nedjai B, Hurst T, Pennington DJ. Cytokines and chemokines: At the crossroads of cell signalling and inflammatory disease. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Cell Research*. 2014;1843(11):2563-82.
82. Filella X, Molina R, Ballesta AM. Estructura y función de las citocinas. *Medicina Integral*. 2002;39(2):63-71.
83. Ryan GB, Majno G. Acute inflammation. A review. *The American journal of pathology*. 1977;86(1):183-276.
84. Kaur S, Bansal Y, Kumar R, Bansal G. A panoramic review of IL-6: Structure, pathophysiological roles and inhibitors. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*. 2020;28(5):115327.
85. Xu WD, Xie QB, Zhao Y, Liu Y. Association of Interleukin-23 receptor gene polymorphisms with susceptibility to Crohn's disease: A meta-analysis. *Sci Rep*. 2015;5:18584.
86. Kiziltas S. Toll-like receptors in pathophysiology of liver diseases. *World journal of hepatology*. 2016;8(32):1354-69.
87. Broering R, Lu M, Schlaak Joerg F. Role of Toll-like receptors in liver health and disease. *Clinical Science*. 2011;121(10):415-26.
88. Abe T, Kaname Y, Hamamoto I, Tsuda Y, Wen X, Taguwa S, et al. Hepatitis C virus nonstructural protein 5A modulates the toll-like receptor-MyD88-dependent signaling pathway in macrophage cell lines. *J Virol*. 2007;81(17):8953-66.
89. Kuramochi M, Izawa T, Pervin M, Bondoc A, Kuwamura M, Yamate J. The kinetics of damage-associated molecular patterns (DAMPs) and toll-like receptors during thioacetamide-induced acute liver injury in rats. *Experimental and Toxicologic Pathology*. 2016;68(8):471-7.
90. Wynn TA, Barron L. Macrophages: master regulators of inflammation and fibrosis. *Seminars in liver disease*. 2010;30(3):245-57.

91. Fausto N, Campbell JS, Riehle KJ. Liver regeneration. *Hepatology*. 2006;43(2 Suppl 1):S45-53.
92. Bonilla FA, Oettgen HC. Adaptive immunity. *J Allergy Clin Immunol*. 2010;125(2 Suppl 2):S33-40.
93. Forthal DN. Functions of Antibodies. *Microbiology spectrum*. 2014;2(4):1-17.
94. Thomas AA, Vrijnsen R, Boeyé A. Relationship between poliovirus neutralization and aggregation. *J Virol*. 1986;59(2):479-85.
95. Edwards MJ, Dimmock NJ. Hemagglutinin 1-specific immunoglobulin G and Fab molecules mediate postattachment neutralization of influenza A virus by inhibition of an early fusion event. *Journal of virology*. 2001;75(21):10208-18.
96. Rabinovitch M. Professional and non-professional phagocytes: an introduction. *Trends Cell Biol*. 1995;5(3):85-7.
97. García-García E, Sánchez-Mejorada G, Rosales C. Phosphatidylinositol 3-kinase and ERK are required for NF-kappaB activation but not for phagocytosis. *J Leukoc Biol*. 2001;70(4):649-58.
98. Maloy KJ, Powrie F. Intestinal homeostasis and its breakdown in inflammatory bowel disease. *Nature*. 2011;474(7351):298-306.
99. McGaha TL, Chen Y, Ravishankar B, van Rooijen N, Karlsson MCI. Marginal zone macrophages suppress innate and adaptive immunity to apoptotic cells in the spleen. *Blood*. 2011;117(20):5403-12.
100. Munro DAD, Hughes J. The Origins and Functions of Tissue-Resident Macrophages in Kidney Development. *Frontiers in Physiology*. 2017;8(837).
101. Wynn TA, Chawla A, Pollard JW. Macrophage biology in development, homeostasis and disease. *Nature*. 2013;496(7446):445-55.
102. van de Laar L, Saelens W, De Prijck S, Martens L, Scott CL, Van Isterdael G, et al. Yolk Sac Macrophages, Fetal Liver, and Adult Monocytes Can Colonize an Empty Niche and Develop into Functional Tissue-Resident Macrophages. *Immunity*. 2016;44(4):755-68.
103. Hoeffel G, Ginhoux F. Ontogeny of Tissue-Resident Macrophages. *Frontiers in Immunology*. 2015;6(486).
104. McGrath KE, Frame JM, Palis J. Early hematopoiesis and macrophage development. *Semin Immunol*. 2015;27(6):379-87.
105. Sheng J, Ruedl C, Karjalainen K. Most Tissue-Resident Macrophages Except Microglia Are Derived from Fetal Hematopoietic Stem Cells. *Immunity*. 2015;43(2):382-93.
106. Gomez Perdiguero E, Klapproth K, Schulz C, Busch K, Azzoni E, Crozet L, et al. Tissue-resident macrophages originate from yolk-sac-derived erythro-myeloid progenitors. *Nature*. 2015;518(7540):547-51.
107. Lopez-Yrigoyen M, May A, Ventura T, Taylor H, Fidanza A, Cassetta L, et al. Production and Characterization of Human Macrophages from Pluripotent Stem Cells. *Jove-Journal of Visualized Experiments*. 2020(158).
108. Gordon S, Martinez-Pomares L. Physiological roles of macrophages. *Pflugers Arch*. 2017;469(3-4):365-74.
109. Varol C, Mildner A, Jung S. Macrophages: development and tissue specialization. *Annu Rev Immunol*. 2015;33:643-75.
110. Wynn TA, Vannella KM. Macrophages in Tissue Repair, Regeneration, and Fibrosis. *Immunity*. 2016;44(3):450-62.
111. Epelman S, Lavine Kory J, Beaudin Anna E, Sojka Dorothy K, Carrero Javier A, Calderon B, et al. Embryonic and Adult-Derived Resident Cardiac Macrophages Are

- Maintained through Distinct Mechanisms at Steady State and during Inflammation. *Immunity*. 2014;40(1):91-104.
112. Röszer T. Understanding the Biology of Self-Renewing Macrophages. *Cells*. 2018;7(8):103.
 113. Luo W, Xu Q, Wang Q, Wu H, Hua J. Effect of modulation of PPAR-gamma activity on Kupffer cells M1/M2 polarization in the development of non-alcoholic fatty liver disease. *Scientific Reports*. 2017;7.
 114. Dixon LJ, Barnes M, Tang H, Pritchard MT, Nagy LE. Kupffer cells in the liver. *Comprehensive Physiology*. 2013;3(2):785-97.
 115. Hamann J, Koning N, Pouwels W, Ulfman LH, van Eijk M, Stacey M, et al. EMR1, the human homolog of F4/80, is an eosinophil-specific receptor. *European Journal of Immunology*. 2007;37(10):2797-802.
 116. Nishiyama K, Nakashima H, Ikarashi M, Kinoshita M, Nakashima M, Aosasa S, et al. Mouse CD11b(+)Kupffer Cells Recruited from Bone Marrow Accelerate Liver Regeneration after Partial Hepatectomy. *Plos One*. 2015;10(9).
 117. Beattie L, Sawtell A, Mann J, Frame TCM, Teal B, Rivera FD, et al. Bone marrow-derived and resident liver macrophages display unique transcriptomic signatures but similar biological functions. *Journal of Hepatology*. 2016;65(4):758-68.
 118. Tan SY, Krasnow MA. Developmental origin of lung macrophage diversity. *Development*. 2016;143(8):1318-27.
 119. Guilliams M, De Kleer I, Henri S, Post S, Vanhoutte L, De Prijck S, et al. Alveolar macrophages develop from fetal monocytes that differentiate into long-lived cells in the first week of life via GM-CSF. *Journal of Experimental Medicine*. 2013;210(10):1977-92.
 120. Hussell T, Bell TJ. Alveolar macrophages: plasticity in a tissue-specific context. *Nature Reviews Immunology*. 2014;14(2):81-93.
 121. Aguzzi A, Barres BA, Bennett ML. Microglia: Scapegoat, Saboteur, or Something Else? *Science*. 2013;339(6116):156.
 122. Byrne AJ, Mathie SA, Gregory LG, Lloyd CM. Pulmonary macrophages: key players in the innate defence of the airways. *Thorax*. 2015;70(12):1189-96.
 123. A-Gonzalez N, Castrillo A. Origin and specialization of splenic macrophages. *Cellular Immunology*. 2018;330:151-8.
 124. Backer R, Schwandt T, Greuter M, Oosting M, Jungerkes F, Tuting T, et al. Effective collaboration between marginal metallophilic macrophages and CD8(+) dendritic cells in the generation of cytotoxic T cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2010;107(1):216-21.
 125. Gordon S, Plüddemann A, Martinez Estrada F. Macrophage heterogeneity in tissues: phenotypic diversity and functions. *Immunol Rev*. 2014;262(1):36-55.
 126. Colonna M, Butovsky O. Microglia Function in the Central Nervous System During Health and Neurodegeneration. In: Littman DR, Yokoyama WM, editors. *Annual Review of Immunology, Vol 35*. Annual Review of Immunology. 35. Palo Alto: Annual Reviews; 2017. p. 441-68.
 127. Nasser MI, Zhu S, Huang H, Zhao M, Wang B, Ping H, et al. Macrophages: First guards in the prevention of cardiovascular diseases. *Life Sciences*. 2020;250.
 128. Chistiakov DA, Bobryshev YV, Orekhov AN. Changes in transcriptome of macrophages in atherosclerosis. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*. 2015;19(6):1163-73.

129. Shapouri-Moghaddam A, Mohammadian S, Vazini H, Taghadosi M, Esmaeili S-A, Mardani F, et al. Macrophage plasticity, polarization, and function in health and disease. *Journal of Cellular Physiology*. 2018;233(9):6425-40.
130. Murray PJ. Macrophage Polarization. *Annual Review of Physiology*, Vol 79. 2017;79:541-66.
131. Fernando MR, Reyes JL, Iannuzzi J, Leung G, McKay DM. The pro-inflammatory cytokine, interleukin-6, enhances the polarization of alternatively activated macrophages. *PloS one*. 2014;9(4):e94188-e.
132. Martinez FO, Gordon S. The M1 and M2 paradigm of macrophage activation: time for reassessment. *F1000prime reports*. 2014;6:13-.
133. Szondy Z, Korponay-Szabó I, Király R, Sarang Z, Tsay GJ. Transglutaminase 2 in human diseases. *BioMedicine*. 2017;7(3):15-.
134. Daniel B, Nagy G, Czimmerer Z, Horvath A, Hammers DW, Cuaranta-Monroy I, et al. The Nuclear Receptor PPAR gamma Controls Progressive Macrophage Polarization as a Ligand-Insensitive Epigenomic Ratchet of Transcriptional Memory. *Immunity*. 2018;49(4):615-+.
135. van de Garde MD, Martinez FO, Melgert BN, Hylkema MN, Jonkers RE, Hamann J. Chronic exposure to glucocorticoids shapes gene expression and modulates innate and adaptive activation pathways in macrophages with distinct changes in leukocyte attraction. *J Immunol*. 2014;192(3):1196-208.
136. Zhang F, Wang HS, Wang XF, Jiang GM, Liu H, Zhang G, et al. TGF-beta induces M2-like macrophage polarization via SNAIL-mediated suppression of a pro-inflammatory phenotype. *Oncotarget*. 2016;7(32):52294-306.
137. Krzyszczyk P, Schloss R, Palmer A, Berthiaume F. The Role of Macrophages in Acute and Chronic Wound Healing and Interventions to Promote Pro-wound Healing Phenotypes. *Frontiers in Physiology*. 2018;9.
138. Sun W, Zhang H, Wang H, Chiu YG, Wang M, Ritchlin CT, et al. Targeting Notch-Activated M1 Macrophages Attenuates Joint Tissue Damage in a Mouse Model of Inflammatory Arthritis. *Journal of Bone and Mineral Research*. 2017;32(7):1469-80.
139. Zhu W, Li X, Fang S, Zhang X, Wang Y, Zhang T, et al. Anti-Citrullinated Protein Antibodies Induce Macrophage Subset Disequilibrium in RA Patients. *Inflammation*. 2015;38(6):2067-75.
140. Wang Y, Han CC, Cui DQ, Li YF, Ma Y, Wei W. Is macrophage polarization important in rheumatoid arthritis? *International Immunopharmacology*. 2017;50:345-52.
141. Hulsmans M, Sager HB, Roh JD, Valero-Munoz M, Houstis NE, Iwamoto Y, et al. Cardiac macrophages promote diastolic dysfunction. *Journal of Experimental Medicine*. 2018;215(2):423-40.
142. Saitgareeva AR, Bulygin KV, Gareev IF, Beylerli OA, Akhmadeeva LR. The role of microglia in the development of neurodegeneration. *Neurological Sciences*.7.
143. Yeh FL, Wang Y, Tom I, Gonzalez LC, Sheng M. TREM2 Binds to Apolipoproteins, Including APOE and CLU/APOJ, and Thereby Facilitates Uptake of Amyloid-Beta by Microglia. *Neuron*. 2016;91(2):328-40.
144. Wang Y, Ulland TK, Ulrich JD, Song W, Tzaferis JA, Hole JT, et al. TREM2-mediated early microglial response limits diffusion and toxicity of amyloid plaques. *Journal of Experimental Medicine*. 2016;213(5):667-75.
145. Orihuela R, McPherson CA, Harry GJ. Microglial M1/M2 polarization and metabolic states. *British Journal of Pharmacology*. 2016;173(4):649-65.

146. Kataoka H, Sugie K. Serum adiponectin levels between patients with Parkinson's disease and those with PSP. *Neurological Sciences*. 2020;41(5):1125-31.
147. Ai L, Luo W, Yuan P, Liu L, Zhou Y. Liver macrophages mediate effects of downhill running and caloric restriction on nonalcoholic fatty liver disease of high fat diet-fed mice. *Life Sci*. 2020;256:117978.
148. Bilzer M, Roggel F, Gerbes AL. Role of Kupffer cells in host defense and liver disease. *Liver Int*. 2006;26(10):1175-86.
149. Zeng T, Zhang C-L, Xiao M, Yang R, Xie K-Q. Critical Roles of Kupffer Cells in the Pathogenesis of Alcoholic Liver Disease: From Basic Science to Clinical Trials. *Frontiers in immunology*. 2016;7:538-.
150. Yang Q, Shi Y, He J, Chen Z. The evolving story of macrophages in acute liver failure. *Immunology Letters*. 2012;147(1):1-9.
151. Wan J, Benkdane M, Teixeira-Clerc F, Bonnafous S, Louvet A, Lafdil F, et al. M2 Kupffer cells promote M1 Kupffer cell apoptosis: A protective mechanism against alcoholic and nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology*. 2014;59(1):130-42.
152. Szabo G. Alcoholic Liver Disease Accelerates Early Hepatocellular Cancer in a Mouse Model. *Adv Exp Med Biol*. 2018;1032:71-9.
153. Delire B, Henriot P, Lemoine P, Leclercq IA, Stärkel P. Chronic liver injury promotes hepatocarcinoma cell seeding and growth, associated with infiltration by macrophages. *Cancer Sci*. 2018;109(7):2141-52.
154. Affo S, Yu L-X, Schwabe RF. The Role of Cancer-Associated Fibroblasts and Fibrosis in Liver Cancer. *Annual review of pathology*. 2017;12:153-86.
155. Tacke F. Targeting hepatic macrophages to treat liver diseases. *J Hepatol*. 2017;66(6):1300-12.
156. Kawano A, Ariyoshi W, Yoshioka Y, Hikiji H, Nishihara T, Okinaga T. Docosahexaenoic acid enhances M2 macrophage polarization via the p38 signaling pathway and autophagy. *J Cell Biochem*. 2019;120(8):12604-17.
157. Allam-Ndoul B, Guénard F, Barbier O, Vohl MC. Effect of different concentrations of omega-3 fatty acids on stimulated THP-1 macrophages. *Genes & nutrition*. 2017;12:7-.
158. Gross B, Pawlak M, Lefebvre P, Staels B. PPARs in obesity-induced T2DM, dyslipidaemia and NAFLD. *Nature Reviews Endocrinology*. 2017;13(1):36-49.
159. Pawlak M, Lefebvre P, Staels B. Molecular mechanism of PPAR α action and its impact on lipid metabolism, inflammation and fibrosis in non-alcoholic fatty liver disease. *J Hepatol*. 2015;62(3):720-33.
160. Neels JG, Grimaldi PA. Physiological functions of peroxisome proliferator-activated receptor β . *Physiol Rev*. 2014;94(3):795-858.
161. Cariou B, Charbonnel B, Staels B. Thiazolidinediones and PPAR γ agonists: time for a reassessment. *Trends Endocrinol Metab*. 2012;23(5):205-15.
162. Onodera T, Fukuhara A, Shin J, Hayakawa T, Otsuki M, Shimomura I. Eicosapentaenoic acid and 5-HEPE enhance macrophage-mediated Treg induction in mice. *Sci Rep*. 2017;7(1):4560.
163. Chang HY, Lee HN, Kim W, Surh YJ. Docosahexaenoic acid induces M2 macrophage polarization through peroxisome proliferator-activated receptor γ activation. *Life Sci*. 2015;120:39-47.
164. Talamonti E, Pauter AM, Asadi A, Fischer AW, Chiurchiù V, Jacobsson A. Impairment of systemic DHA synthesis affects macrophage plasticity and polarization: implications for DHA supplementation during inflammation. *Cell Mol Life Sci*. 2017;74(15):2815-26.

165. Luo W, Xu Q, Wang Q, Wu H, Hua J. Effect of modulation of PPAR- γ activity on Kupffer cells M1/M2 polarization in the development of non-alcoholic fatty liver disease. *Sci Rep.* 2017;7:44612.
166. Suzuki-Kemuriyama N, Matsuzaka T, Kuba M, Ohno H, Han S-i, Takeuchi Y, et al. Different Effects of Eicosapentaenoic and Docosahexaenoic Acids on Atherogenic High-Fat Diet-Induced Non-Alcoholic Fatty Liver Disease in Mice. *PLOS ONE.* 2016;11(6):e0157580.
167. Tian Y, Liu Y, Xue C, Wang J, Wang Y, Xu J, et al. The exogenous natural phospholipids, EPA-PC and EPA-PE, contribute to ameliorate inflammation and promote macrophage polarization. *Food Funct.* 2020.
168. Cuschieri J. Implications of lipid raft disintegration: Enhanced anti-inflammatory macrophage phenotype. *Surgery.* 2004;136(2):169-75.
169. Lo Sasso G, Schlage WK, Boué S, Veljkovic E, Peitsch MC, Hoeng J. The Apoe(-/-) mouse model: a suitable model to study cardiovascular and respiratory diseases in the context of cigarette smoke exposure and harm reduction. *Journal of translational medicine.* 2016;14(1):146-.
170. Takashima A, Fukuda D, Tanaka K, Higashikuni Y, Hirata Y, Nishimoto S, et al. Combination of n-3 polyunsaturated fatty acids reduces atherogenesis in apolipoprotein E-deficient mice by inhibiting macrophage activation. *Atherosclerosis.* 2016;254:142-50.
171. Rogero MM, Calder PC. Obesity, Inflammation, Toll-Like Receptor 4 and Fatty Acids. *Nutrients.* 2018;10(4).
172. Honda KL, Lamon-Fava S, Matthan NR, Wu D, Lichtenstein AH. EPA and DHA exposure alters the inflammatory response but not the surface expression of Toll-like receptor 4 in macrophages. *Lipids.* 2015;50(2):121-9.
173. Gao L, Wang J, Konjeti S, Yin H, Yared N, Schneider S, et al. Novel n-3 Fatty Acid Oxidation Products Activate Nrf2 by Destabilizing the Association between Keap1 and Cullin3. *The Journal of biological chemistry.* 2007;282:2529-37.
174. Wang H, Khor TO, Saw CL, Lin W, Wu T, Huang Y, et al. Role of Nrf2 in suppressing LPS-induced inflammation in mouse peritoneal macrophages by polyunsaturated fatty acids docosahexaenoic acid and eicosapentaenoic acid. *Mol Pharm.* 2010;7(6):2185-93.
175. Awada M, Soulage CO, Meynier A, Debard C, Plaisancié P, Benoit B, et al. Dietary oxidized n-3 PUFA induce oxidative stress and inflammation: role of intestinal absorption of 4-HHE and reactivity in intestinal cells. *J Lipid Res.* 2012;53(10):2069-80.
176. Nakahira K, Haspel JA, Rathinam VAK, Lee S-J, Dolinay T, Lam HC, et al. Autophagy proteins regulate innate immune responses by inhibiting the release of mitochondrial DNA mediated by the NALP3 inflammasome. *Nature immunology.* 2011;12(3):222-30.
177. Williams-Bey Y, Boularan C, Vural A, Huang N-N, Hwang I-Y, Shan-Shi C, et al. Omega-3 free fatty acids suppress macrophage inflammasome activation by inhibiting NF- κ B activation and enhancing autophagy. *PloS one.* 2014;9(6):e97957-e.
178. Mildenerberger J, Johansson I, Sergin I, Kjøbli E, Damås JK, Razani B, et al. N-3 PUFAs induce inflammatory tolerance by formation of KEAP1-containing SQSTM1/p62-bodies and activation of NFE2L2. *Autophagy.* 2017;13(10):1664-78.
179. Liu K, Zhao E, Ilyas G, Lalazar G, Lin Y, Haseeb M, et al. Impaired macrophage autophagy increases the immune response in obese mice by promoting proinflammatory macrophage polarization. *Autophagy.* 2015;11(2):271-84.

180. Johansson I, Monsen VT, Pettersen K, Mildenerger J, Misund K, Kaarniranta K, et al. The marine n-3 PUFA DHA evokes cytoprotection against oxidative stress and protein misfolding by inducing autophagy and NFE2L2 in human retinal pigment epithelial cells. *Autophagy*. 2015;11(9):1636-51.
181. Raptis DA, Limani P, Jang JH, Ungethüm U, Tschuor C, Graf R, et al. GPR120 on Kupffer cells mediates hepatoprotective effects of ω 3-fatty acids. *J Hepatol*. 2014;60(3):625-32.
182. Im DS. Functions of omega-3 fatty acids and FFA4 (GPR120) in macrophages. *Eur J Pharmacol*. 2016;785:36-43.
183. Oh DY, Talukdar S, Bae EJ, Imamura T, Morinaga H, Fan W, et al. GPR120 is an omega-3 fatty acid receptor mediating potent anti-inflammatory and insulin-sensitizing effects. *Cell*. 2010;142(5):687-98.
184. Nobili V, Carpino G, Alisi A, De Vito R, Franchitto A, Alpini G, et al. Role of docosahexaenoic acid treatment in improving liver histology in pediatric nonalcoholic fatty liver disease. *PloS one*. 2014;9(2):e88005-e.
185. Marzuillo P, Grandone A, Conte M, Capuano F, Cirillo G, Di Sessa A, et al. Novel association between a nonsynonymous variant (R270H) of the G-protein-coupled receptor 120 and liver injury in children and adolescents with obesity. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2014;59(4):472-5.
186. Talukdar S, Olefsky JM, Osborn O. Targeting GPR120 and other fatty acid-sensing GPCRs ameliorates insulin resistance and inflammatory diseases. *Trends Pharmacol Sci*. 2011;32(9):543-50.
187. Dalli J, Serhan CN. Specific lipid mediator signatures of human phagocytes: microparticles stimulate macrophage efferocytosis and pro-resolving mediators. *Blood*. 2012;120(15):e60-e72.
188. Lim CS, Porter DW, Orandle MS, Green BJ, Barnes MA, Croston TL, et al. Resolution of Pulmonary Inflammation Induced by Carbon Nanotubes and Fullerenes in Mice: Role of Macrophage Polarization. *Frontiers in Immunology*. 2020;11.
189. Werz O, Gerstmeier J, Libreros S, De la Rosa X, Werner M, Norris PC, et al. Human macrophages differentially produce specific resolvin or leukotriene signals that depend on bacterial pathogenicity. *Nature Communications*. 2018;9(1):59.
190. Dalli J, Serhan C. Macrophage Proresolving Mediators-the When and Where. *Microbiology spectrum*. 2016;4(3):10.1128/microbiolspec.MCHD-0001-2014.
191. Werz O, Gerstmeier J, Libreros S, De la Rosa X, Werner M, Norris PC, et al. Human macrophages differentially produce specific resolvin or leukotriene signals that depend on bacterial pathogenicity. *Nat Commun*. 2018;9(1):59.
192. Titos E, Rius B, Gonzalez-Periz A, Lopez-Vicario C, Moran-Salvador E, Martinez-Clemente M, et al. Resolvin D1 and Its Precursor Docosahexaenoic Acid Promote Resolution of Adipose Tissue Inflammation by Eliciting Macrophage Polarization toward an M2-Like Phenotype. *Journal of Immunology*. 2011;187(10):5408-18.
193. Kang JW, Lee SM. Resolvin D1 protects the liver from ischemia/reperfusion injury by enhancing M2 macrophage polarization and efferocytosis. *Biochim Biophys Acta*. 2016;1861(9 Pt A):1025-35.
194. Martínez-Fernández L, González-Muniesa P, Laiglesia LM, Sáinz N, Prieto-Hontoria PL, Escoté X, et al. Maresin 1 improves insulin sensitivity and attenuates adipose tissue inflammation in ob/ob and diet-induced obese mice. *Faseb j*. 2017;31(5):2135-45.

195. Shan K, Feng N, Cui J, Wang S, Qu H, Fu G, et al. Resolvin D1 and D2 inhibit tumour growth and inflammation via modulating macrophage polarization. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*. 2020;24(14):8045-56.
196. Botten N, Hodges RR, Li D, Bair JA, Shatos MA, Utheim TP, et al. Resolvin D2 elevates cAMP to increase intracellular [Ca(2+)] and stimulate secretion from conjunctival goblet cells. *Faseb j*. 2019;33(7):8468-78.
197. Wu HY, Tang XQ, Liu H, Mao XF, Wang YX. Both classic Gs-cAMP/PKA/CREB and alternative Gs-cAMP/PKA/p38 β /CREB signal pathways mediate exenatide-stimulated expression of M2 microglial markers. *J Neuroimmunol*. 2018;316:17-22.
198. Soto G, Rodríguez MJ, Fuentealba R, Treuer AV, Castillo I, González DR, et al. Maresin 1, a Proresolving Lipid Mediator, Ameliorates Liver Ischemia-Reperfusion Injury and Stimulates Hepatocyte Proliferation in Sprague-Dawley Rats. *International Journal of Molecular Sciences*. 2020;21(2):540.
199. Zhang P, Yin Y, Wang T, Li W, Li C, Zeng X, et al. Maresin 1 mitigates concanavalin A-induced acute liver injury in mice by inhibiting ROS-mediated activation of NF- κ B signaling. *Free Radic Biol Med*. 2020;147:23-36.
200. 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.
201. Lu Y, Xu QY, Yin GW, Xu WD, Jiang H. Resolvin D1 inhibits the proliferation of lipopolysaccharide-treated HepG2 hepatoblastoma and PLC/PRF/5 hepatocellular carcinoma cells by targeting the MAPK pathway. *Experimental and Therapeutic Medicine*. 2018;16(4):3603-10.