

La célula de Kupffer

J. Clària y E. Titos

Unidad de ADN. Hospital Clínic. Institut d'Investigacions Biomèdiques August Pi i Sunyer (IDIBAPS). Universitat de Barcelona. Barcelona. España.

INTRODUCCIÓN

Las células de Kupffer reciben el nombre del anatomista alemán Karl W. von Kupffer, que fue pionero en la identificación de las células sinusoidales hepáticas¹. Estos macrófagos residentes en el hígado fueron el primer tipo celular no parenquimal caracterizado del sinusoides hepático, y su identificación contribuyó de forma decisiva a que Aschoff estableciera en 1924 el concepto de sistema reticuloendotelial del hígado². Las células de Kupffer constituyen uno de los tipos celulares hepáticos, en términos de metabolismo y función, más activos. Así, estos macrófagos son los principales productores en el hígado de citocinas, factores de crecimiento y mediadores biológicamente activos. Las células de Kupffer ejercen funciones vitales para el organismo tales como la eliminación de sustancias extrañas y la regulación de la respuesta inflamatoria e inmunitaria. Las células de Kupffer desempeñan también un papel fisiopatológico destacado en el daño hepático por endotoxina o alcohol y en la patogénesis de la inflamación y fibrosis hepática. En la presente revisión se enumeran las principales características morfológicas y funcionales de la célula de Kupffer y se discute su participación en procesos fisiológicos y fisiopatológicos, prestando especial atención a las nuevas estrategias farmacológicas que tienen como diana estos macrófagos residentes en el hígado.

EL SINUSOIDE HEPÁTICO

Las células de Kupffer forman parte de la unidad estructural funcional del hígado, el sinusoides hepático, que es un

Nuestro laboratorio está parcialmente financiado por el Ministerio de Educación y Ciencia (SAF 03/0586) y por el Instituto de Salud Carlos III (C03/02).

Correspondencia: Dr. J. Clària.
Unidad de ADN. Hospital Clínic.
Villarroel, 170. 08036. Barcelona. España.
Correo electrónico: jclaria@clinic.ub.es

Recibido el 7-9-2003; aceptado para su publicación el 8-9-2003.

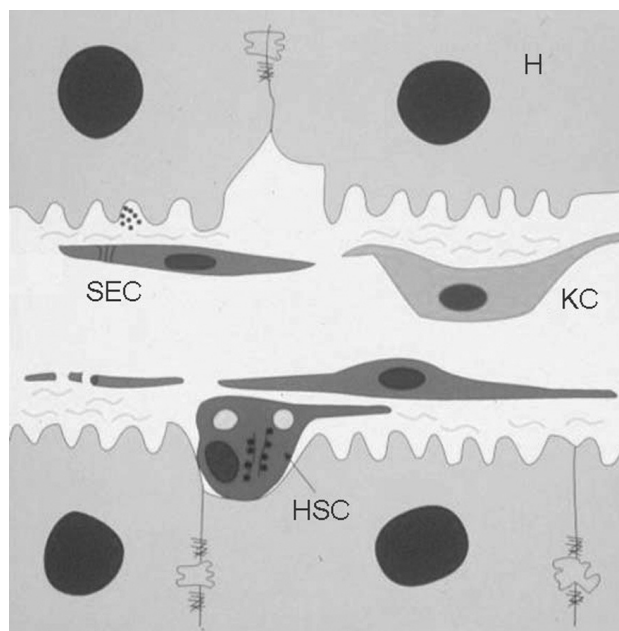


Fig. 1. Diagrama esquemático del sinusoides hepático. El sinusoides hepático está formado básicamente por 4 tipos celulares distintos. Los hepatocitos (H), que constituyen el parénquima del hígado; las células endoteliales sinusoidales (SEC), que forman el endotelio fenestrado del sinusoides; las células hepáticas estrelladas (HSC), situadas en el espacio de Disse (entre las SEC y los hepatocitos), y las células de Kupffer (KC), localizadas en el lumen del vaso.

sistema microvascular formado por diferentes tipos celulares altamente especializados (fig. 1). Las células del sinusoides hepático se dividen en células parenquimales, los hepatocitos, que constituyen más del 80% del volumen hepático, y las células sinusoidales o no parenquimales (NPC), entre las que se encuentran las células de Kupffer; las células hepáticas estrelladas (HSC), también denominadas células de Ito, células perisinusoidales, lipocitos o células almacenadoras de grasa; las células endoteliales sinusoidales (SEC), y las células citotóxicas o *pit cells*. Las células de Kupffer, que representan el 29% del total de NPC, se localizan en el lumen sinusoidal. Las células

de Kupffer representan el mayor *pool* de macrófagos tisulares del organismo, y el hecho de que se localicen en el lumen sinusoidal las hace ser las primeras células del sistema fagocítico mononuclear que entran en contacto con el material particulado e inmunorreactivo que llega de la absorción realizada en el tracto gastrointestinal, por lo que desempeñan un importante papel en los mecanismos de defensa del organismo.

Las SEC constituyen el 48% del total de NPC y forman la pared fenestrada de los sinusoides, mientras que las HSC, que representan el 20% del total de NPC, se localizan entre los hepatocitos y las células endoteliales, en la zona conocida como espacio de Disse. Las *pit cells* (3% del total de NPC), linfocitos granulares de gran tamaño con actividad citotóxica y caracterizadas como las células *natural killer* propias del hígado, se localizan, al igual que las células de Kupffer, en el lumen sinusoidal³.

CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS DE LAS CÉLULAS DE KUPFFER

Las células de Kupffer se sitúan sobre las células endoteliales y emiten prolongaciones citoplasmáticas al espacio de Disse subendotelial, de modo que les permiten estar en contacto directo con los hepatocitos y las HSC. El estudio de la ultraestructura de estos macrófagos en el hígado de la rata muestra un contorno irregular pero de forma básicamente estrellada. La superficie celular presenta numerosos microvilllis o lamelipodios e invaginaciones en forma de líneas onduladas que parecen estar implicadas en la endocitosis⁴. El citoplasma es rico en diferentes vesículas intracitoplasmáticas, presenta mitocondrias, un aparato de Golgi extenso, abundante retículo endoplasmático rugoso, y un conjunto de diferentes estructuras vacuolares y cuerpos densos que varían en forma, diámetro y densidad y que constituyen el desarrollado aparato lisosomal de la célula de Kupffer⁴. Como importantes componentes del citoesqueleto de estos macrófagos encontramos un sistema muy activo de microfilamentos y microtúbulos de actina y miosina, así como filamentos de vimentina, que permiten tanto el mantenimiento de la estructura celular como el movimiento de fagocitosis y la migración celular^{5,6}.

La identificación de las células de Kupffer se lleva a cabo habitualmente utilizando la combinación de diferentes métodos que detectan características propias del macrófago. En el hígado de rata las técnicas más utilizadas son la localización celular de la actividad peroxidasa endógena junto con la detección de la actividad fagocitaria mediante partículas de látex, oro coloidal o carbón^{7,8}. La célula de Kupffer claramente se distingue de los monocitos circulantes por presentar la actividad peroxidasa localizada específicamente en el retículo endoplasmático y la membrana nuclear, mientras que en los monocitos su expresión sólo es a nivel lisosomal⁹. Sin embargo, tanto la positividad para la peroxidasa como la actividad fagocitaria son criterios que deben utilizarse con precaución por varios motivos. En primer lugar, la técnica de la peroxidasa es mucho más fiable y reproducible cuando se trata de preparaciones celulares o secciones de 1 µm de tejido in-

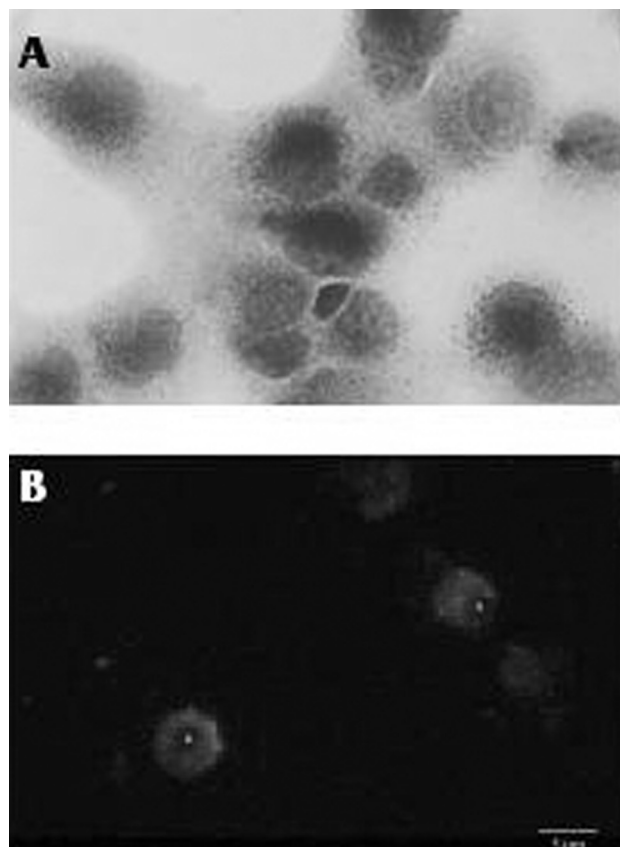


Fig. 2. Caracterización de las células de Kupffer aisladas. A) Visualización por microscopía óptica de la actividad esterasa no específica en células de Kupffer ($\times 1.000$). B) Inmunofluorescencia directa con el anticuerpo ED2 en células de Kupffer ($\times 600$).

cluido en resina. Además, en el hígado de rata y según el método de fijación utilizado, las SEC también pueden presentar actividad peroxidasa¹⁰. Existen también diferencias entre especies, pues en el ratón se ha observado que el 60% de las SEC presentan actividad peroxidasa¹¹ y pueden incorporar partículas de látex^{12,13}. En humanos, hay estudios que indican tanto la ausencia como la presencia de actividad peroxidasa en las células de Kupffer^{14,15}.

La tinción de la actividad esterasa no específica característica de los macrófagos en lugar de la peroxidasa endógena también es una técnica muy utilizada, pero necesariamente se ha de combinar con otros métodos para poder diferenciar a las células de Kupffer de macrófagos infiltrados en el hígado¹⁶. Quizá el método más fiable, pero a su vez más costoso y laborioso, es la identificación inmunohistoquímica de las células de Kupffer mediante una batería de anticuerpos monoclonales específicos para estos macrófagos. En el hígado de la rata los anticuerpos más utilizados son el ED1 y el ED2. El primero reconoce un antígeno de membrana lisosomal presente tanto en macrófagos residentes como en circulantes, y el segundo reconoce un antígeno de membrana específico de las células de Kupffer¹⁷. En nuestro laboratorio, las células de Kupffer de hígado de rata se identifican de forma rutina-

ria mediante una combinación del método de la esterasa no específica con la detección por métodos inmunológicos utilizando el anticuerpo ED2 (fig. 2).

Alternativamente, existen otros anticuerpos capaces de detectar proteínas de expresión específica en células de Kupffer en el hígado de la rata, tales como el Ki-M2R¹⁸, el UFT-4¹⁹, el Ku-1²⁰ o el más recientemente caracterizado anti-KCA-3²¹. En el ratón, los anticuerpos monoclonales F4/80 y BM8 son los más empleados^{22,23}. Para el estudio inmunohistoquímico de las células de Kupffer en humanos se utilizan anticuerpos contra proteínas características de las células del sistema mononuclear fagocítico. Se utilizan diferentes anticuerpos policlonales y monoclonales, entre los que destacan los existentes contra la lisozima o la antitripsina α_1 y los anticuerpos KP1, Mac387, EBM11 y CD68²⁴.

CARACTERÍSTICAS FUNCIONALES DE LAS CÉLULAS DE KUPFFER

En condiciones fisiológicas, las células de Kupffer eliminan de la circulación sanguínea todo tipo de partículas extrañas, innecesarias o alteradas mediante el proceso de fagocitosis. También participan en el metabolismo de las lipoproteínas²⁵ y desempeñan un papel clave en el proceso de captación y de detoxificación de la endotoxina que llega del flujo venoso portal^{26,27}. Al igual que otros fagocitos mononucleares, actúan como células presentadoras de antígenos activando la respuesta inmunitaria derivada de los linfocitos T²⁸, y también pueden desencadenar una respuesta citotóxica semejante a la realizada por las células *natural killer* para eliminar células tumorales circulantes²⁹. Por último, la activación de las células de Kupffer da lugar a la secreción de potentes mediadores biológicos como radicales libres derivados del oxígeno, intermediarios del nitrógeno, numerosas citocinas y eicosanoides³⁰. A continuación se describen con más detalle los principales aspectos funcionales de la célula de Kupffer.

Fagocitosis

La endocitosis en las células de Kupffer se puede llevar a cabo mediante 4 tipos de estructuras celulares: pseudópodos fagocíticos, vacuolas, vesículas de pinocitosis e invaginaciones. La captación de partículas puede ser directa, aprovechando las particularidades físico-químicas de la sustancia, o bien mediada por receptores específicos. Las células de Kupffer expresan tanto receptores Fc como C3, de manera que se unen específicamente a los inmunocomplejos y los fagocitan³¹⁻³⁴. También son capaces de reconocer y fagocitar glucoproteínas o glucoconjugados de oro coloidal, carbón o albúmina sérica bovina a través de un receptor de fucosa y galactosa específico de las células de Kupffer^{35,36}. La fibronectina plasmática es una glucoproteína dimérica que también actúa como un potente agente opsonizante para facilitar la captación y la degradación de partículas extrañas por las células de Kupffer. Sin embargo, y a pesar de la existencia de luga-

res de unión en la membrana de las células de Kupffer³⁷, aún no se han caracterizado receptores específicos para esta proteína en estas células. Se asume que la captación de la endotoxina está también mediada por receptor, aunque éste aún no ha sido caracterizado. La única molécula de membrana conocida que reconoce el complejo lipopolisacárido (LPS)-proteína de unión al LPS en la célula de Kupffer es el CD14, que está implicado en la transducción de señal inducida por la endotoxina³⁸.

Metabolismo de lipoproteínas

Las lipoproteínas de baja densidad (LDL) modificadas son principalmente captadas y metabolizadas en el hígado, y las células de Kupffer, junto con las SEC, son los tipos celulares principalmente implicados³⁹. Los receptores responsables de la captación de lipoproteínas por las células de Kupffer son los denominados receptores *scavenger*, también presentes de forma muy evidente en las SEC, los cuales internalizan las lipoproteínas haciéndolas susceptibles a la degradación endosomal. Las células de Kupffer y las SEC poseen la misma capacidad de captación de LDL oxidadas y acetiladas⁴⁰, pero el proceso no estaría mediado por los mismos receptores. De hecho, se ha caracterizado recientemente un receptor para LDL oxidadas en las células de Kupffer homólogo a la molécula CD68 murina que no está presente en las SEC⁴¹. También se ha identificado en estos macrófagos hepáticos la expresión del receptor *scavenger* BI para la lipoproteína de alta densidad (HDL) rica en ésteres de colesterol, receptor que desempeña un importante papel en el llamado transporte reverso de colesterol⁴².

Liberación de factores de crecimiento y mediadores inflamatorios

Las células de Kupffer se activan por partículas fagocitadas y por la unión a través de receptores específicos de compuestos como ésteres de forbol, LPS, factor del complemento C5a, factores de crecimiento como GM-CSF o M-CSF, interferón γ (IFN- γ) y factor de necrosis tumoral α (TNF- α)³⁰. La endotoxina procedente de *Escherichia coli* o de otras bacterias suele ser el compuesto habitualmente utilizado en el estudio de la activación de estos macrófagos³⁸. Se considera que los signos indicativos de la activación de las células de Kupffer son el incremento de su actividad fagocítica, la mitosis, el aumento de la rugosidad de la membrana, así como la liberación de numerosos compuestos con actividad biológica. Entre éstos destacan los mediadores inorgánicos, como el ion superóxido, producidos de forma inmediata por la célula de Kupffer con el fin de inactivar y destruir el material fagocitado⁴³. Además de los radicales libres del oxígeno, las células de Kupffer activadas sintetizan óxido nítrico, proteasas, TNF- α , interleucina (IL)-1, IL-6, IL-10, factor transformador de crecimiento beta (TGF- β), IFN- α o γ , ácido araquidónico, prostaglandinas (PG) y leucotrienos

TABLA 1. Mediadores biológicamente activos producidos por las células de Kupffer

Citocinas	IL-1, IL-6, IL-10, TNF- α , IFN- α y γ , TGF- β , MIP-1, MCP-1
Especies reactivas del oxígeno	Superóxido, peróxido de hidrógeno, radical hidroxilo
Especies reactivas del nitrógeno	Óxido nítrico, nitrato, nitrito
Eicosanoides	PGL ₁ , PGE ₂ , PGD ₂ , PGF _{2α} , TXA ₂ , LTB ₄ , cisteinil-leucotrienos, 15-epi-LXA ₄
Factor activador de plaquetas	
Enzimas lisosomales	Catepsinas, β -glucuronidasa, β -acetil glucosamidasa, peroxidasa, esterasas, acetilasas
Enzimas proteolíticas	Activador del plasminógeno, colagenasa tipo IV/gelatinasa B (MMP-9), colagenasa intersticial (MMP-13), gelatinasa A (MMP-2), MMP-14
Lisozima	
Componentes del complemento	
Proteoglicanos	
Fibronectina	

(LT) (tabla I)³⁰. Algunos de estos productos son también estimuladores o inhibidores de su propia síntesis y la de otros mediadores. Así por ejemplo, el TNF- α estimula la síntesis de PGE₂, que a su vez inhibe la liberación de TNF- α . O por ejemplo el IFN- γ , que estimula la producción de PGE₂ y TNF- α , a la vez que suprime la síntesis de IL-1⁴⁴. También se ha comprobado tanto *in vitro* como *in vivo* que el IFN- α puede desencadenar una respuesta citotóxica de las células de Kupffer contra células tumorales^{45,46}. Gran parte de los mediadores liberados por las células de Kupffer ejercen sus acciones de forma paracrina sobre las células adyacentes. Por ejemplo, la IL-1 por sí misma o en combinación con la IL-6 y el TNF- α no sólo modula la síntesis de ADN y proteína en los hepatocitos, sino también el metabolismo de glúcidos y lípidos y la síntesis de albúmina en estas células³. Asimismo se ha demostrado que eicosanoides como los cisteinil-leucotrienos actúan de forma paracrina sobre las HSC e inducen un incremento de la concentración intracelular de calcio y su contracción⁴⁷, mientras que el LTB₄ y la PGE₂ liberados por la célula de Kupffer inducen la secreción de IL-8 en los hepatocitos circundantes⁴⁸.

HETEROGENEIDAD MORFOLÓGICA Y FUNCIONAL DE LAS CÉLULAS DE KUPFFER

La población de células de Kupffer no se encuentra distribuida de forma homogénea a lo largo del ácido hepático, y de hecho, existe el doble de células de Kupffer en el área periportal que en el área perivenular⁴⁹. Esta localización tan dependiente del grado de aporte sanguíneo hace que las células de Kupffer de la región periportal sean más grandes, posean mayor actividad lisosomal y fagocítica y generen menor cantidad de anión superóxido que las células de la región centrolobular⁴⁹⁻⁵¹. El aislamiento de este tipo de macrófagos del hígado de rata también demuestra la existencia de subpoblaciones celulares que difieren en tamaño.

A pesar de que todas estas células presentan actividad peroxidasa endógena según el patrón característico de los macrófagos residentes, y positividad para marcadores como la esterasa no específica y ED2, la intensidad de la tinción se muestra heterogénea¹⁶. La intensidad del marcaje disminuye proporcionalmente al tamaño celular, lo que sugiere que las células más pequeñas poseen también un fenotipo más inmaduro.

La heterogeneidad fenotípica en las células de Kupffer humanas también se ha demostrado histológicamente utilizando anticuerpos monoclonales contra antígenos de macrófagos como el CD68 y el 25-F9^{52,53}. Mientras que la mayoría de los macrófagos son positivos para CD68, son menos numerosos los macrófagos maduros que presentan positividad para el 25-F9, un marcador específico de macrófagos diferenciados. Además, se encuentran tanto células doble positivas para los dos antígenos como células positivas sólo para CD68^{52,53}. Por último, el análisis cuantitativo sugiere que la maduración de los macrófagos hepáticos es también heterogénea.

La heterogeneidad morfológica de las células de Kupffer se asocia a heterogeneidad funcional. Así, los macrófagos de mayor tamaño poseen mayor capacidad fagocítica, producen más TNF- α , IL-1 y PGE₂ y poseen mayor capacidad proliferativa frente a un estímulo como el CSF-1 o el GM-CSF⁵⁴. Por el contrario, los macrófagos de menor tamaño son más susceptibles a ser activados, expresan mayores cantidades de antígeno Ia, liberan mayores cantidades de óxido nítrico y anión superóxido y presentan mayor actividad citotóxica contra células tumorales⁵⁵. El conjunto de estas observaciones sugiere que existe una relación estrecha entre la funcionalidad, la maduración y el tamaño de las células de Kupffer. Además, la localización en la zona periportal de los macrófagos de mayor tamaño, los que poseen más actividad fagocítica y menos actividad inflamatoria, explicaría la relativa tolerancia del hígado para los agentes inmunógenos que tienen su acceso a este órgano por la vena porta.

ORIGEN Y CINÉTICA DE LAS CÉLULAS DE KUPFFER

En la actualidad todavía existe una gran controversia sobre el origen y la capacidad proliferativa de las células de Kupffer en condiciones normales. De acuerdo con el concepto de sistema mononuclear fagocítico, los macrófagos residentes en un tejido proceden del reclutamiento de monocitos circulantes y por lo tanto serían células muy especializadas de vida corta, terminalmente diferenciadas y sin capacidad proliferativa⁵⁶. Sin embargo, en estudios experimentales se ha observado que la población de macrófagos tisulares o de sus precursores no se ve afectada por la inducción de monocitopenia grave mediante la administración de Sr⁸⁹ o la irradiación fraccionada de la médula ósea⁵⁷⁻⁵⁹. Estas observaciones serían compatibles con el concepto actualmente vigente de que, en condiciones normales, la población de células de Kupffer es capaz de proliferar localmente y mantenerse durante largos períodos sin el aporte de monocitos circulantes^{57,59,60}. De he-

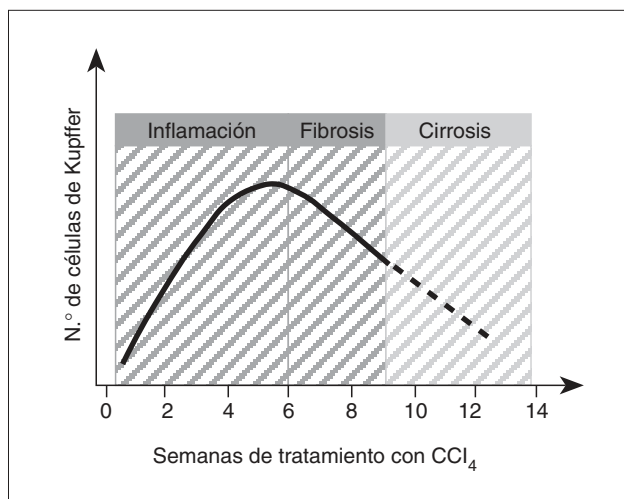


Fig. 3. Cinética de la población de células de Kupffer en el daño hepático por CCl_4 . Este gráfico muestra de forma resumida los datos disponibles sobre el crecimiento de la población de células de Kupffer durante el curso de la enfermedad hepática inducida por CCl_4 en ratas⁶⁵⁻⁶⁸. (Véase el texto para más detalles.)

cho, estudios de ontogenia hepática demuestran la existencia en el hígado de 2 tipos de macrófagos de distinto origen hematopoyético⁶¹. Según estos estudios, existiría una población de macrófagos procedentes de los monocitos circulantes originados en la médula ósea y otra población de macrófagos tisulares resultantes de la hematopoyesis temprana acontecida durante el desarrollo embrionario⁶¹.

La capacidad proliferativa de las células de Kupffer ha sido también analizada en distintos modelos experimentales. Los resultados de estos estudios confirman el potencial mitótico de estas células en condiciones normales^{50,57,60,62}, y la posibilidad de modular tanto *in vivo* como *in vitro* su maduración y capacidad proliferativa mediante factores solubles, como por ejemplo el M-CSF^{54,63,64}.

La capacidad proliferativa de las células de Kupffer adquiere mayor relevancia en el curso de la enfermedad hepática. En este sentido, se ha descrito que la población de células de Kupffer se incrementa significativamente durante las etapas iniciales de la lesión hepática⁶⁵. En el caso concreto de la fibrogénesis inducida por CCl_4 , la población de células de Kupffer triplica su número original aproximadamente entre las 6 y las 8 semanas de tratamiento⁶⁵ (fig. 3). Además, en este modelo experimental existe una correlación muy estrecha entre el número de células de Kupffer y el grado de desarrollo de fibrosis⁶⁵⁻⁶⁸. Sin embargo, una vez la cirrosis se ha establecido, el número de células de Kupffer disminuye significativamente coincidiendo con la aparición de una alteración en la función reticuloendotelial y fagocítica del hígado⁶⁹. En el momento actual no se conoce con exactitud si el aumento de la población hepática de células de Kupffer durante la lesión aguda y crónica por CCl_4 es consecuencia del reclutamiento de monocitos circulantes o de la proliferación local de células de Kupffer, pero posiblemente sea el resultado de ambos procesos⁷⁰⁻⁷².

PAPEL DE LAS CÉLULAS DE KUPFFER EN LA LESIÓN HEPÁTICA

Actualmente se dispone de evidencias sólidas que demuestran la participación de las células de Kupffer en la patogénesis de la enfermedad hepática. Se sabe que estímulos como la obesidad, el consumo crónico de alcohol, la endotoxina o compuestos procedentes de la degradación de fármacos y xenobióticos inducen la activación de las células de Kupffer. Una vez activadas, las células de Kupffer liberan cantidades masivas de citocinas (IL-1, IL-6, IL-10, TNF- α), radicales libres de oxígeno y aniones superóxido, IFN- α y γ y eicosanoides (PGD₂, PGE₂ y leucotrienos). La liberación desproporcionada de estos mediadores, junto con la secreción de enzimas lisosomales por las células de Kupffer, favorece la aparición de inflamación y necrosis en el tejido hepático. Las células de Kupffer activadas modifican también procesos metabólicos clave en las células parenquimatosas, como por ejemplo la liberación de albúmina por los hepatocitos, lo que altera la función hepática y contribuye al desarrollo de la lesión en este órgano⁷³.

Tal como se ha apuntado anteriormente, además de ser el principal tipo celular responsable de la liberación de productos biológicamente activos, las células de Kupffer activadas incrementan significativamente su número en el hígado. Por ejemplo, en las 6 h posteriores a la administración de CCl_4 se produce un aumento de la población de células de Kupffer, que presenta un pico máximo a las 72 h⁷². Una prueba definitiva del papel clave de las células de Kupffer en la lesión hepática es que su inactivación y su eliminación selectiva mediante cloruro de gadolinio (GdCl_3) impide que aparezcan valores séricos elevados de aspartato aminotransferasa (AST) y la muerte de las células hepáticas parenquimales tras la administración de CCl_4 ⁷⁴. A continuación se describen, clasificadas por la etiología del agente inductor, las principales evidencias de la participación de las células de Kupffer en diversos escenarios de daño hepático, como por ejemplo el daño inducido por la endotoxina, los fármacos, el alcohol o la isquemia-reperusión.

Daño hepático inducido por la endotoxina

Las células de Kupffer median el daño hepático inducido por la endotoxina procedente de la pared bacteriana de *Escherichia coli* durante una sepsis o shock endotóxico. En condiciones normales, las células de Kupffer presentan un estado de tolerancia a la endotoxina, pero su exposición a cantidades elevadas de esta sustancia o bien la presencia de células de Kupffer en estado parcialmente activado por otras causas (p. ej., tras la administración de *Corynebacterium parvum* o tras hepatectomía parcial), conduce a la liberación masiva de especies reactivas del oxígeno, citocinas (principalmente TNF- α), y da lugar a fenómenos de necrosis masiva en el hígado⁷⁵.

Daño hepático inducido por fármacos y xenobióticos

Junto con el riñón, la vía hepatobiliar es la principal ruta excretora de xenobióticos. Esto significa que las células hepáticas no sólo metabolizan los nutrientes procedentes del intestino y los productos metabólicos endógenos procedentes de otras partes del organismo, sino que también participan activamente en el metabolismo de los xenobióticos y especialmente de los fármacos. En condiciones normales, los fármacos son eliminados por la bilis primaria, hepatocelular o canalicular, elaborada por los hepatocitos mediante un proceso de filtración osmótica⁷⁶. Sin embargo, en determinadas circunstancias, por ejemplo tras una sobredosis de fármacos, las células de Kupffer se activan y desencadenan un proceso de lesión hepática.

Un ejemplo paradigmático de daño hepático inducido por fármacos lo constituye posiblemente la intoxicación por acetaminofeno. La sobredosis accidental por acetaminofeno es una causa común de urgencia hospitalaria especialmente en el Reino Unido. La intoxicación por acetaminofeno se caracteriza por la rápida aparición de insuficiencia hepática seguida por una intensa inflamación y, finalmente, regeneración del tejido lesionado⁷⁷. La hepatotoxicidad ocurre como consecuencia de la conversión por enzimas microsomales de acetaminofeno a un metabolito reactivo (la imina de N-acetil-p-benzoquinona) que se une a macromoléculas del tejido hepático e inicia una reacción necrótica⁷⁸. Es durante este proceso cuando se produce una acumulación y activación de las células de Kupffer que liberan de forma masiva mediadores biológicamente activos⁷⁹.

Daño hepático inducido por el alcohol

El alcohol deprime la capacidad fagocítica y la actividad lisosomal de las células de Kupffer en cultivo. Es por esta razón que clásicamente se ha considerado que las células de Kupffer no intervenían en la patogénesis del daño hepático inducido por el alcohol. Sin embargo, este concepto se ha visto modificado en los últimos años hasta el punto de que en el momento actual se considera que las células de Kupffer desempeñan un papel clave en la patogénesis de esta hepatopatía. De hecho, se ha observado un incremento del número de células de Kupffer en el hígado de pacientes con hepatitis alcohólica⁸⁰. El aumento en la población de células de Kupffer se ha observado también en modelos experimentales de hepatitis alcohólica⁸¹. En estos modelos experimentales el tratamiento con GdCl₃, y por tanto la inactivación de las células de Kupffer, es capaz de prevenir la elevación sérica de AST y la aparición de esteatosis, inflamación y necrosis en el tejido hepático inducida por el alcohol⁸².

El mecanismo por el cual las células de Kupffer participan en la lesión alcohólica no está totalmente establecido, pero se ha sugerido que puede estar relacionado con la incapacidad de estos macrófagos de eliminar la endotoxina endógena⁸³. También se ha apuntado que las células de Kupffer se activarían por factores liberados por los hepa-

tocitos en respuesta al alcohol. Por ejemplo, se ha descrito que las células de Kupffer en presencia de medio condicionado procedente de cultivos de hepatocitos tratados con alcohol, secretan IL-8, la cual es un potente agente quimiotáctico inductor de la infiltración de neutrófilos⁸⁴. Por el contrario, otros autores sugieren la liberación de IL-8 por los hepatocitos en respuesta a factores derivados de las células de Kupffer activadas por el etanol, principalmente de IL-1 y TNF- α ^{85,86}. Por último, existen evidencias de que el daño hepático inducido por la ingesta desproporcionada de alcohol es consecuencia de la liberación de especies reactivas del oxígeno por las células de Kupffer⁸⁷. También se ha descrito que la liberación de PGE₂ por la célula de Kupffer en respuesta al alcohol induce la síntesis de triglicéridos por los hepatocitos, cuya acumulación contribuiría a la aparición de esteatosis⁸⁸.

Daño hepático por isquemia-reperfusión

Existen evidencias morfológicas de la activación de las células de Kupffer de 1 a 3 h después de la reperfusión del hígado⁸⁹. Como consecuencia de la activación de las células de Kupffer, se produce el reclutamiento de neutrófilos y la liberación por ambos tipos celulares de superóxido, TNF- α , factor activador de las plaquetas (PDGF), LTB₄, PGD₂, PGE₂ y tromboxano B₂, factores que desencadenarían la lesión tisular^{90,91}. La implicación de las células de Kupffer en la lesión por isquemia-reperfusión se ilustra mediante la inactivación de estas células por el GdCl₃, el cual es capaz de reducir la lesión hepática en modelos experimentales de reperfusión y trasplante^{90,91}.

CÉLULAS DE KUPFFER Y FIBROGENIA

La fibrosis hepática es el resultado final de un proceso inflamatorio y de reparación del tejido que se produce en respuesta a una agresión externa del hígado. De forma muy resumida, podemos decir que la línea de acontecimientos que desencadenan la fibrosis hepática se inicia con la aparición de una respuesta inflamatoria. La inflamación es la respuesta defensiva de los organismos vivos a la agresión de agentes externos, y comprende un amplio abanico de eventos como la activación enzimática, la liberación de mediadores solubles, la extravasación de fluidos, la adhesión y migración celular y la destrucción del tejido lesionado y su posterior reparación. En condiciones normales, mediante la respuesta inflamatoria se consigue eliminar el agente causante del daño hepático. Sin embargo, en determinadas circunstancias, especialmente si el daño se produce de forma crónica y continuada, la respuesta inflamatoria no se resuelve de forma adecuada y se autopropaga en el tiempo, dando lugar a procesos de secreción inadecuada de matriz extracelular y a la aparición de fibrosis⁹².

El principal tipo celular responsable de la secreción de proteínas de matriz son las HSC en su estado activado. Por este motivo, la activación y proliferación de las HSC

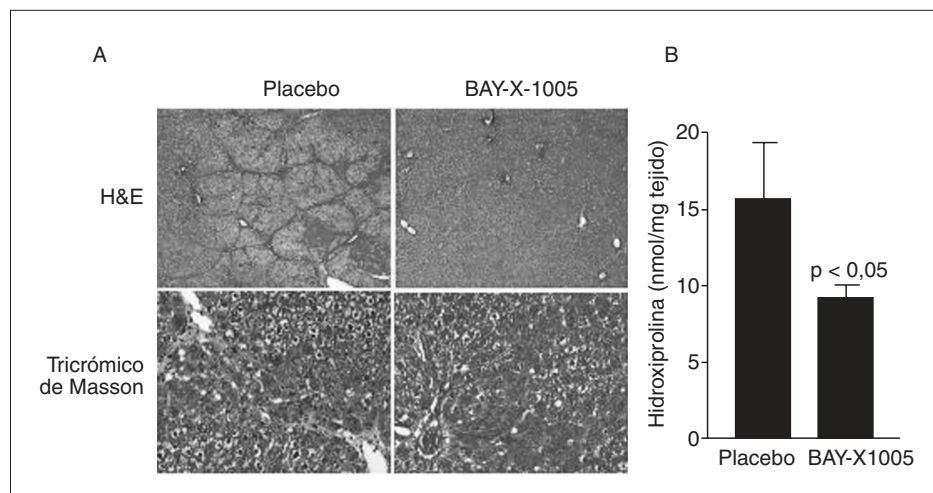


Fig. 4. Efectos antifibróticos de la inhibición de la 5-lipoxigenasa (5-LO) en ratas tratadas con CCl_4 . A) Secciones histológicas de tejido hepático teñidas con hematoxilina-eosina (H&E) (paneles superiores, $\times 25$) o tricrómico de Masson (paneles inferiores, $\times 125$) de animales tratados con CCl_4 que recibieron durante 8 semanas una dosis diaria del inhibidor de la vía de la 5-LO BAY-X-1005 (100 mg/kg) o placebo (carboximetilcelulosa). B) Contenido hepático en hidroxiprolina en estos mismos animales.

constituye un proceso clave en el desarrollo de fibrosis hepática^{92,93}. Las células de Kupffer, mediante la liberación de citocinas, eicosanoides y factores de crecimiento, desempeñan un papel primordial en la activación y proliferación de las HSC⁹⁴. Se ha demostrado que el medio condicionado procedente de cultivos de células de Kupffer promueve la proliferación de los HSC y la síntesis de colágeno, proteoglicanos y hialuronato⁹⁵⁻⁹⁸, efecto que es más acentuado si las células de Kupffer proceden de hígados de ratas tratadas con CCl_4 ^{96,98}. Se han identificado numerosos compuestos liberados por las células de Kupffer que pueden ejercer este efecto proliferativo y estimulador de las HSC, y entre ellos destacan el TGF- β , eicosanoides, PDGF, TNF- α , IL-1 e IFN- γ . (Para una revisión exhaustiva, véase la referencia 93 de la bibliografía.)

Las células de Kupffer contribuyen también a la activación de las HSC mediante la degradación de la matriz extracelular subendotelial, la cual, como es sabido, mantiene a las HSC en su estado quiescente⁹³. En concreto, las células de Kupffer activadas son las principales productoras de collagenasa tipo IV/gelatinasa tipo B con capacidad de digerir esta matriz extracelular, y por tanto de inducir la activación, proliferación y migración de las HSC^{73,99}.

Tal como se ha comentado anteriormente, es importante señalar que durante las etapas iniciales de la fibrogenia la población de células de Kupffer se incrementa significativamente⁶⁵. Una de las estrategias antifibróticas emprendidas en nuestro laboratorio contempla la posibilidad de bloquear el crecimiento de las células de Kupffer con inhibidores de la 5-lipoxigenasa (5-LO), la enzima clave en la síntesis de leucotrienos. La base racional de esta estrategia se basa principalmente en dos conceptos: el primero es que determinados tipos celulares requieren la presencia de una 5-LO metabólicamente activa para garantizar su supervivencia, y el segundo es que en el hígado esta enzima se halla exclusivamente en las células de Kupffer⁴⁷. Los resultados obtenidos hasta el momento son muy esperanzadores, ya que hemos observado que la inhibición de la vía de la 5-LO induce muerte celular por apoptosis en las células de Kupffer y que la inhibición farmacológica

de esta vía de metabolismo del ácido araquidónico *in vivo* reduce el grado de fibrosis en el modelo experimental de CCl_4 ⁷¹ (fig. 4).

CÉLULAS DE KUPFFER Y RESPUESTA INMUNITARIA

La respuesta inmunitaria ocurre posteriormente a la respuesta inflamatoria, y en ella las células inmunológicamente competentes (monocitos-macrófagos y linfocitos) se activan en respuesta a sustancias liberadas durante la fase inflamatoria aguda (IL-1, IL-2, TNF- α , leucotrienos). El desarrollo de la respuesta inmunitaria suele ser beneficioso para el organismo si el agente agresor es neutralizado o fagocitado. Sin embargo, si la respuesta inmunitaria no resuelve bien este proceso, aparece la fase crónica de inflamación, que es cuando se liberan numerosos mediadores (GM-CSF, TNF- α , IFN- γ , PDGF) que auto-perpetúan el proceso inflamatorio. Es por esta razón que las células de Kupffer desempeñan un papel clave en la defensa inmunitaria innata. Se considera que las células de Kupffer están también implicadas en la patogénesis del rechazo agudo del hígado, puesto que estos macrófagos son capaces de modular la respuesta inmunitaria al actuar como células presentadoras de antígenos, de regular la activación de los linfocitos T y de participar en el desarrollo de tolerancia a antígenos solubles de origen gastrointestinal^{100,101}.

CÉLULAS DE KUPFFER Y REGENERACIÓN HEPÁTICA

En condiciones normales, el recambio celular en el hígado es un proceso constante aunque no evidente. Sin embargo, asociado a la resolución de la lesión hepática producida, por ejemplo, por un virus o un fármaco, se observa un espectacular incremento de la proliferación hepática y principalmente de los hepatocitos, que da lugar al proceso denominado de regeneración hepática. Quizá el modelo experimental más utilizado para investigar la

regeneración hepática sea la hepatectomía parcial (eliminación del 70% de la masa hepática). Se ha observado que de 1 a 3 días después de practicar la hepatectomía, se produce un pico de síntesis de ADN en las células no parenquimales del hígado, incluidas las células de Kupffer¹⁰². Esta expansión de la población de células de Kupffer procede principalmente de la proliferación local de estos macrófagos¹⁰³. Por tanto, y de forma paralela a la proliferación de los hepatocitos, durante el proceso de regeneración hepática se produce también la proliferación de las células de Kupffer.

La regeneración hepática es un proceso altamente regulado y sincronizado, con el fin de recuperar la masa hepática perdida. En esta regulación intervienen diversos factores de crecimiento e interacciones célula a célula, y en ella las células de Kupffer desempeñan un papel relevante. En este contexto estos macrófagos secretan factores de crecimiento tanto estimuladores como inhibidores de la síntesis de ADN y la proliferación de los hepatocitos. Así, la síntesis del mitógeno más potente para los hepatocitos, el factor de crecimiento de los hepatocitos (HGF), se produce durante el proceso de regeneración hepática en las células no parenquimales (en orden de mayor a menor grado de participación: HSC, células de Kupffer y SEC)¹⁰⁴. Otros factores de crecimiento secretados por las células de Kupffer son el factor de crecimiento de la insulina (IGF) y el factor de unión de la heparina (HBGF). Mención especial requiere el TGF- α . Se considera que tras la hepatectomía, la secreción paracrina de TGF- α por las células de Kupffer es un factor necesario para el inicio de la proliferación de los hepatocitos¹⁰⁵⁻¹⁰⁷. Sin embargo, en etapas más tardías de la regeneración hepática, el TGF- β secretado de forma casi exclusiva en las células de Kupffer actuaría regulando negativamente la proliferación de los hepatocitos¹⁰⁸. Aunque estos resultados parecen controvertidos, conceptualmente indican que factores liberados por las células de Kupffer modulan la proliferación de los hepatocitos. Existen evidencias que apoyan esta idea, como por ejemplo el incremento en la proliferación de los hepatocitos tras la depleción selectiva de las células de Kupffer con diclorometileno difosfonato encapsulado en liposomas¹⁰⁹.

BIBLIOGRAFÍA

- Kupffer K. Ueber Sternzellen der Leber. Briefliche Mitteilung an Professor Waldeyer. Arch Mikr Anat 1876;12:353-8.
- Aschoff L. Das retículo/endotheliale System. Ergeb Med Kinderheilk 1924;26:1-118.
- Laskin DL. Nonparenchymal cells and hepatotoxicity. Semin Liver Dis 1990;10:293-304.
- Wisse E. Observations on the fine structure and peroxidase cytochemistry of normal rat liver Kupffer cells. J Ultrastruct Res 1974;46:393-426.
- Marugg RA, Gehr P, de Leeuw M. Secondary lysosomes as an integral part of the cytoskeleton: a morphological study in rat Kupffer cells. J Struct Biol 1990;105:146-53.
- Sun WB, Han BL, Peng ZM, Li K, Ji Q, Chen J, et al. Effect of aging on cytoskeleton system of Kupffer cell and its phagocytic capacity. World J Gastroenterol 1998;4:77-9.
- Sleyster EC, Knook DL. Relation between localization and function of rat liver Kupffer cells. Lab Invest 1982;47:484-90.
- Hardonk MJ, Dijkhuis FW, Grond J, Koudstaal J, Poppema S. Evidence for a migratory capability of rat Kupffer cells to portal tracts and hepatic lymph nodes. Virchows Arch B Cell Pathol Incl Mol Pathol 1986;51:429-42.
- Wisse E. Ultrastructure and function of Kupffer cells and other sinusoidal cells in the liver. En: Wisse E, Knook DL, editors. Kupffer cells and other sinusoidal cells. Amsterdam: Elsevier, 1977; p. 33-60.
- Litwin JA. Peroxidase-positive endothelial cells in rat liver. Cell Tissue Res 1984;238:635-42.
- Stohr G, Deimann W, Fahimi HD. Peroxidase-positive endothelial cells in sinusoids of the mouse liver. J Histochem Cytochem 1978;26:409-11.
- Steffan AM, Gendraut JL, McCuskey RS, McCuskey PA, Kirm A. Phagocytosis, an unrecognized property of murine endothelial liver cells. Hepatology 1986;6:830-6.
- Dan C, Wake K. Modes of endocytosis of latex particles in sinusoidal endothelial and Kupffer cells of normal and perfused rat liver. Exp Cell Res 1985;158:75-85.
- Zafrani ES, Vasconcelos AW, Gourdin MF. Is detection of endogenous peroxidase activity helpful in distinguishing Kupffer cells from endothelial cells in normal adult human liver? En: Knook DL, Wisse E, editors. Sinusoidal liver cells. Amsterdam: Elsevier, 1982; p. 505-6.
- Brouwer A, Barelds RJ, De Leeuw AM, Blauw E, Plas A, Yap SH, et al. Isolation and culture of Kupffer cells from human liver. Ultrastructure, endocytosis and prostaglandin synthesis. J Hepatol 1988;6:36-49.
- Hoedemakers RM, Morselt HW, Scherphof GL, Daemen T. Heterogeneity in secretory responses of rat liver macrophages of different size. Liver 1995;15:313-9.
- Dijkstra CD, Dopp EA, Joling P, Kraal G. The heterogeneity of mononuclear phagocytes in lymphoid organs: distinct macrophage subpopulations in the rat recognized by monoclonal antibodies ED1, ED2 and ED3. Immunology 1985;54:589-99.
- Wacker HH, Radzun HJ, Parwaresch MR. Ki-M2R, a new specific monoclonal antibody, discriminates tissue macrophages from reticulum cells and monocytes in vivo and in vitro. J Leukoc Biol 1985;38:509-20.
- Ukai K, Terashima K, Fujii Y, Imai Y. A new monoclonal antibody, UFT-4, reacting with rat Kupffer cells. Immunohistochemical and immunoelectron microscopic analysis with re-estimation of the reticuloendothelial system. Acta Pathol Jpn 1988;38:1391-403.
- Bodenheimer HC Jr, Faris RA, Charland C, Hixson DC. Characterization of a new monoclonal antibody to rat macrophages and Kupffer cells. Hepatology 1988;8:1667-72.
- Maruiwa M, Mizoguchi A, Russell GJ, Narula N, Stronska M, Mizoguchi E, et al. Anti-KCA-3, a monoclonal antibody reactive with a rat complement C3 receptor, distinguishes Kupffer cells from other macrophages. J Immunol 1993;150:4019-30.
- Lee SH, Starkey PM, Gordon S. Quantitative analysis of total macrophage content in adult mouse tissues. Immunochemical studies with monoclonal antibody F4/80. J Exp Med 1985; 161:475-89.
- Malorny U, Michels E, Sorg C. A monoclonal antibody against an antigen present on mouse macrophages and absent from monocytes. Cell Tissue Res 1986;243:421-8.
- Burt AD, Le Bail B, Balabaud C, Bioulac-Sage P. Morphologic investigation of sinusoidal cells. Semin Liver Dis 1993;13:21-38.
- Shiratori Y, Tanaka M, Kawase T, Shiina S, Komatsu Y, Omata M. Quantification of sinusoidal cell function in vivo. Semin Liver Dis 1993;13:39-49.
- Fox ES, Broitman SA, Thomas P. Bacterial endotoxins and the liver. Lab Invest 1990;63:733-41.
- Van Bossuyt H, Wisse E. Cultured Kupffer cells, isolated from human and rat liver biopsies, ingest endotoxin. J Hepatol 1988;7:45-56.
- Rogoff TM, Lipsky PE. Role of the Kupffer cells in local and systemic immune responses. Gastroenterology 1981;80:854-60.
- Schuurman B, Heuff G, Beelen RH, Meyer S. Enhanced human Kupffer cell-mediated cytotoxicity after activation of the effector cells and modulation of the target cells by interferon-

- gamma: a mechanistic study at the cellular level. *Cell Immunol* 1995;165:141-7.
30. Decker K. Biologically active products of stimulated liver macrophages (Kupffer cells). *Eur J Biochem* 1990;192:245-61.
 31. Munthe-Kaas AC. Phagocytosis in rat Kupffer cells in vitro. *Exp Cell Res* 1976;99:319-27.
 32. Munthe-Kaas AC, Kaplan G, Seljelid R. On the mechanism of internalization of opsonized particles by rat Kupffer cells in vitro. *Exp Cell Res* 1976;103:201-12.
 33. Johansson AG, Lovdal T, Magnusson KE, Berg T, Skogh T. Liver cell uptake and degradation of soluble immunoglobulin G immune complexes in vivo and in vitro in rats. *Hepatology* 1996;24:169-75.
 34. Yan J, Vetvicka V, Xia Y, Hanikyrova M, Mayadas TN, Ross GD. Critical role of Kupffer cell CR3 (CD11b/CD18) in the clearance of IgM-opsonized erythrocytes or soluble beta-glucan. *Immunopharmacology* 2000;46:39-54.
 35. Haltiwanger RS, Lehrman MA, Eckhardt AE, Hill RL. The distribution and localization of the fucose-binding lectin in rat tissues and the identification of a high affinity form of the mannose/N-acetylglucosamine-binding lectin in rat liver. *J Biol Chem* 1986;261:7433-9.
 36. Fadden AJ, Holt OJ, Drickamer K. Molecular characterization of the rat Kupffer cell glycoprotein receptor. *Glycobiology* 2003;13:529-37.
 37. Cardarelli PM, Blumenstock FA, McKeown-Longo PJ, Saba TM, Mazurkiewicz JE, Dias JA. High-affinity binding of fibronectin to cultured Kupffer cells. *J Leukoc Biol* 1990;48:426-37.
 38. Su GL, Goyert SM, Fan MH, Aminlari A, Gong KQ, Klein RD, et al. Activation of human and mouse Kupffer cells by lipopolysaccharide is mediated by CD14. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2002;283:G640-5.
 39. Esbach S, Pieters MN, Van der BJ, Schouten D, Van der Heyde MN, Roholl PJ, et al. Visualization of the uptake and processing of oxidized low-density lipoproteins in human and rat liver. *Hepatology* 1993;18:537-45.
 40. De Rijke YB, Van Berkel TJ. Rat liver Kupffer and endothelial cells express different binding proteins for modified low density lipoproteins. Kupffer cells express a 95-kDa membrane protein as a specific binding site for oxidized low density lipoproteins. *J Biol Chem* 1994;269:824-7.
 41. Van Velzen AG, Da Silva RP, Gordon S, Van Berkel TJ. Characterization of a receptor for oxidized low-density lipoproteins on rat Kupffer cells: similarity to macrofialin. *Biochem J* 1997;322:411-5.
 42. Fluiter K, Van der Westhuijzen DR, Van Berkel TJ. In vivo regulation of scavenger receptor BI and the selective uptake of high density lipoprotein cholesteryl esters in rat liver parenchymal and Kupffer cells. *J Biol Chem* 1998;273:8434-8.
 43. Bhatnagar R, Schirmer R, Ernst M, Decker K. Superoxide release by zymosan-stimulated rat Kupffer cells in vitro. *Eur J Biochem* 1981;119:171-5.
 44. Kawada N, Mizoguchi Y, Kobayashi K, Morisawa S, Monna T, Yamamoto S. Interferon gamma modulates production of interleukin 1 and tumor necrosis factor by murine Kupffer cells. *Liver* 1991;11:42-7.
 45. Heuff G, Van de Loosdrecht AA, Betjes MG, Beelen RH, Meijer S. Isolation and purification of large quantities of fresh human Kupffer cells, which are cytotoxic against colon carcinoma. *Hepatology* 1995;21:740-5.
 46. Chen GG, Lau WY, Lai PB, Chun YS, Chak EC, Leung BC, et al. Activation of Kupffer cells inhibits tumor growth in a murine model system. *Int J Cancer* 2002;99:713-20.
 47. Titos E, Clària J, Bataller R, Bosch-Marcé M, Ginès P, Jiménez W, et al. Hepatocyte-derived cysteinyl leukotrienes modulate vascular tone in experimental cirrhosis. *Gastroenterology* 2000;119:794-805.
 48. Planagumà A, Titos E, López-Parra M, Gaya J, Pueyo G, Arroyo V, et al. Aspirin (ASA) regulates 5-lipoxygenase activity and peroxisome proliferator-activated receptor alpha-mediated CINC-1 release in rat liver cells: novel actions of lipoxin A4 (LXA4) and ASA-triggered 15-epi-LXA4. *FASEB J* 2002;16:1937-9.
 49. Sleyster EC, Knook DL. Relation between localization and function of rat liver Kupffer cells. *Lab Invest* 1982;47:484-90.
 50. Bouwens L, Baekeland M, De Zanger R, Wisse E. Quantitation, tissue distribution and proliferation kinetics of Kupffer cells in normal rat liver. *Hepatology* 1986;6:718-22.
 51. Mochida S, Ogata I, Ohta Y, Yamada S, Fujiwara K. In situ evaluation of the stimulatory state of hepatic macrophages based on their ability to produce superoxide anions in rats. *J Pathol* 1989;158:67-71.
 52. Tomita M, Yamamoto K, Kobashi H, Ohmoto M, Tsuji T. Immunohistochemical phenotyping of liver macrophages in normal and diseased human liver. *Hepatology* 1994;20:317-25.
 53. Zwadlo G, Brocker EB, Von Bassewitz DB, Feige U, Sorg C. A monoclonal antibody to a differentiation antigen present on mature human macrophages and absent from monocytes. *J Immunol* 1985;134:1487-92.
 54. Hoedemakers RM, Scherphof GL, Daemen T. Proliferation of rat liver macrophages in vitro: influence of hemopoietic growth factors. *Hepatology* 1994;19:666-74.
 55. Laskin DL, Weinberger B, Laskin JD. Functional heterogeneity in liver and lung macrophages. *J Leukoc Biol* 2001;70:163-70.
 56. Van Furth R. Monocyte origin of Kupffer cells. *Blood Cells* 1980;6:87-92.
 57. Yamada M, Naito M, Takahashi K. Kupffer cell proliferation and glucan-induced granuloma formation in mice depleted of blood monocytes by strontium-89. *J Leukoc Biol* 1990;47:195-205.
 58. Tarling JD, Lin HS, Hsu S. Self-renewal of pulmonary alveolar macrophages: evidence from radiation chimera studies. *J Leukoc Biol* 1987;42:443-6.
 59. Naito M, Takahashi K. The role of Kupffer cells in glucan-induced granuloma formation in the liver of mice depleted of blood monocytes by administration of strontium-89. *Lab Invest* 1991;64:664-74.
 60. Miyakawa K, Myint YY, Takahashi K. Effects of recombinant human macrophage colony-stimulating factor on proliferation, differentiation and survival of Kupffer cells in the liver of adult mice. *Anal Quant Cytol Histol* 1999;21:329-35.
 61. Naito M, Hasegawa G, Takahashi K. Development, differentiation, and maturation of Kupffer cells. *Microsc Res Tech* 1997;39:350-64.
 62. Bouwens L, Knook DL, Wisse E. Local proliferation and extrahepatic recruitment of liver macrophages (Kupffer cells) in partial-body irradiated rats. *J Leukoc Biol* 1986;39:687-97.
 63. Naito M, Hayashi S, Yoshida H, Nishikawa S, Shultz LD, Takahashi K. Abnormal differentiation of tissue macrophage populations in «osteopetrosis» (op) mice defective in the production of macrophage colony-stimulating factor. *Am J Pathol* 1991;139:657-67.
 64. Honda Y, Takahashi K, Naito M, Fujiyama S. The role of macrophage colony-stimulating factor in the differentiation and proliferation of Kupffer cells in the liver of protein-deprived mice. *Lab Invest* 1995;72:696-706.
 65. Geerts A, Schellinck P, Bouwens L, Wisse E. Cell population kinetics of Kupffer cells during the onset of fibrosis in rat liver by chronic carbon tetrachloride administration. *J Hepatol* 1988;6:50-6.
 66. Thompson WD, Jack AS, Patrick RS. The possible role of macrophages in transient hepatic fibrogenesis induced by acute carbon tetrachloride injury. *J Pathol* 1980;130:65-73.
 67. Luckey SW, Petersen DR. Activation of Kupffer cells during the course of carbon tetrachloride-induced liver injury and fibrosis in rats. *Exp Mol Pathol* 2001;71:226-40.
 68. Alric L, Orfila C, Carrere N, Beraud M, Carrera G, Lepert JC, et al. Reactive oxygen intermediates and eicosanoid production by Kupffer cells and infiltrated macrophages in acute and chronic liver injury induced in rats by CCl4. *Inflamm Res* 2000;49:700-7.
 69. Lough J, Rosenthal L, Arzoumanian A, Goresky CA. Kupffer cell depletion associated with capillarization of liver sinusoids in carbon tetrachloride-induced rat liver cirrhosis. *J Hepatol* 1987;5:190-8.
 70. Bouwens L. Proliferation and phenotypic expression of non-parenchymal liver cells. *Scand J Gastroenterol* 1988;151 (Suppl):46-51.
 71. Titos E, Clària J, Planagumà A, López-Parra M, Villamor N, Párrizas M, et al. Inhibition of 5-lipoxygenase induces cell

- growth arrest and apoptosis in rat Kupffer cells. Implications in liver fibrosis. *FASEB J* 2003;17:1745-7.
72. Johnson SJ, Hines JE, Burt AD. Macrophage and perisinusoidal cell kinetics in acute liver injury. *J Pathol* 1992;166:351-8.
 73. Winwood PJ, Arthur MJ. Kupffer cells: their activation and role in animal models of liver injury and human liver disease. *Semin Liver Dis* 1993;13:50-9.
 74. Edwards MJ, Keller BJ, Kauffman FC, Thurman RG. The involvement of Kupffer cells in carbon tetrachloride toxicity. *Toxicol Appl Pharmacol* 1993;119:275-9.
 75. Arthur MJ, Bentley IS, Tanner AR, Saunders PK, Millward-Sadler GH, Wright R. Oxygen-derived free radicals promote hepatic injury in the rat. *Gastroenterology* 1985;89:1114-22.
 76. Vessey DA. Metabolism of xenobiotics by the human liver. En: Zakim D, Boyer TD, editors. *Hepatology. A text book of liver disease*. 4th ed. Philadelphia: W.B. Saunders, 2002; p. 257-305.
 77. Williams R. Classification, etiology, and considerations of outcome in acute liver failure. *Semin Liver Dis* 1996;16:343-8.
 78. Lee SS, Buters JT, Pineau T, Fernandez-Salguero P, Gonzalez FJ. Role of CYP2E1 in the hepatotoxicity of acetaminophen. *J Biol Chem* 1996;271:12063-7.
 79. Mathew J, Hines JE, James OF, Burt AD. Non-parenchymal cell responses in paracetamol (acetaminophen)-induced liver injury. *J Hepatol* 1994;20:537-41.
 80. Karakucuk I, Dilly SA, Maxwell JD. Portal tract macrophages are increased in alcoholic liver disease. *Histopathology* 1989;14:245-53.
 81. Eguchi H, McCuskey PA, McCuskey RS. Kupffer cell activity and hepatic microvascular events after acute ethanol ingestion in mice. *Hepatology* 1991;13:751-7.
 82. Adachi Y, Bradford BU, Gao W, Bojes HK, Thurman RG. Inactivation of Kupffer cells prevents early alcohol-induced liver injury. *Hepatology* 1994;20:453-60.
 83. Adachi Y, Moore LE, Bradford BU, Gao W, Thurman RG. Antibiotics prevent liver injury in rats following long-term exposure to ethanol. *Gastroenterology* 1995;108:218-24.
 84. Maher JJ. Rat hepatocytes and Kupffer cells interact to produce interleukin-8 (CINC) in the setting of ethanol. *Am J Physiol* 1995;269:G518-23.
 85. Thornton AJ, Ham J, Kunkel SL. Kupffer cell-derived cytokines induce the synthesis of a leukocyte chemotactic peptide, interleukin-8, in human hepatoma and primary hepatocyte cultures. *Hepatology* 1991;14:1112-22.
 86. Shiratori Y, Takada H, Hikiba Y, Nakata R, Okano K, Komatsu Y, et al. Production of chemotactic factor, interleukin-8, from hepatocytes exposed to ethanol. *Hepatology* 1993;18:1477-82.
 87. Knecht KT, Adachi Y, Bradford BU, Iimuro Y, Kadiiska M, Xiang QH, et al. Free radical adducts in the bile of rats treated chronically with intragastric alcohol: inhibition by destruction of Kupffer cells. *Mol Pharmacol* 1995;47:1028-34.
 88. Enomoto N, Ikejima K, Yamashina S, Enomoto A, Nishiura T, Nishimura T, et al. Kupffer cell-derived prostaglandin E(2) is involved in alcohol-induced fat accumulation in rat liver. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2000;279:G100-6.
 89. Caldwell-Kenkel JC, Currin RT, Tanaka Y, Thurman RG, Lemasters JJ. Kupffer cell activation and endothelial cell damage after storage of rat livers: effects of reperfusion. *Hepatology* 1991;13:83-95.
 90. Jaeschke H, Bautista AP, Spolarics Z, Spitzer JJ. Superoxide generation by neutrophils and Kupffer cells during in vivo reperfusion after hepatic ischemia in rats. *J Leukoc Biol* 1992;52:377-82.
 91. Jaeschke H. Pathophysiology of hepatic ischemia-reperfusion injury: the role of complement activation. *Gastroenterology* 1994;107:583-6.
 92. Bataller R, Ginès P. Nuevas perspectivas terapéuticas de la fibrosis hepática: bases patogénicas. *Med Clín (Barc)* 2002;118:339-46.
 93. Friedman SL. Liver fibrosis — from bench to bedside. *J Hepatol* 2003;38:S38-53.
 94. Matsuoka M, Tsukamoto H. Stimulation of hepatic lipocyte collagen production by Kupffer cell-derived transforming growth factor beta: implication for a pathogenetic role in alcoholic liver fibrogenesis. *Hepatology* 1990;11:599-605.
 95. Shiratori Y, Geerts A, Ichida T, Kawase T, Wisse E. Kupffer cells from CCl4-induced fibrotic livers stimulate proliferation of fat-storing cells. *J Hepatol* 1986;3:294-303.
 96. Friedman SL, Arthur MJ. Activation of cultured rat hepatic lipocytes by Kupffer cell conditioned medium. Direct enhancement of matrix synthesis and stimulation of cell proliferation via induction of platelet-derived growth factor receptors. *J Clin Invest* 1989;84:1780-5.
 97. Gressner AM, Zerbe O. Kupffer cell-mediated induction of synthesis and secretion of proteoglycans by rat liver fat-storing cells in culture. *J Hepatol* 1987;5:299-310.
 98. Gressner AM, Haarmann R. Regulation of hyaluronate synthesis in rat liver fat storing cell cultures by Kupffer cells. *J Hepatol* 1988;7:310-8.
 99. Winwood PJ, Schuppan D, Iredale JP, Kawser CA, Docherty AJ, Arthur MJ. Kupffer cell-derived 95-kd type IV collagenase/gelatinase B: characterization and expression in cultured cells. *Hepatology* 1995;22:304-15.
 100. Everett ML, Collins BH, Parker W. Kupffer cells: another player in liver tolerance induction. *Liver Transpl* 2003;9:498-9.
 101. Gassel HJ, Engemann R, Thiede A, Hamelmann H. Replacement of donor Kupffer cells by recipient cells after orthotopic rat liver transplantation. *Transplant Proc* 1987;19:351-3.
 102. Grisham JW, Leong GF, Albright ML, Emerson JD. Effect of exchange transfusion on labeling of nuclei with thymidine-3-H and on mitosis in hepatocytes of normal and regenerating rat liver. *Cancer Res* 1966;26:1476-85.
 103. Bouwens L, Baekeland M, Wisse E. Importance of local proliferation in the expanding Kupffer cell population of rat liver after zymosan stimulation and partial hepatectomy. *Hepatology* 1984;4:213-9.
 104. Noji S, Tashiro K, Koyama E, Nohno T, Ohyama K, Taniguchi S, et al. Expression of hepatocyte growth factor gene in endothelial and Kupffer cells of damaged rat livers, as revealed by in situ hybridization. *Biochem Biophys Res Commun* 1990;173:42-7.
 105. Brenner DA, Koch KS, Leffert HL. Transforming growth factor-alpha stimulates proto-oncogene c-jun expression and a mitogenic program in primary cultures of adult rat hepatocytes. *DNA* 1989;8:279-85.
 106. Everts RP, Nakatsukasa H, Marsden ER, Hu Z, Thorgeirsson SS. Expression of transforming growth factor-alpha in regenerating liver and during hepatic differentiation. *Mol Carcinog* 1992;5:25-31.
 107. Mead JE, Fausto N. Transforming growth factor alpha may be a physiological regulator of liver regeneration by means of an autocrine mechanism. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1989;86:1558-62.
 108. Roland CR, Goss JA, Mangino MJ, Hafenrichter D, Flye MW. Autoregulation by eicosanoids of human Kupffer cell secretory products. A study of interleukin-1, interleukin-6, tumor necrosis factor-alpha, transforming growth factor-beta, and nitric oxide. *Ann Surg* 1994;219:389-99.
 109. Boulton RA, Alison MR, Golding M, Selden C, Hodgson HJ. Augmentation of the early phase of liver regeneration after 70% partial hepatectomy in rats following selective Kupffer cell depletion. *J Hepatol* 1998;29:271-80.