

Modulación epigenética de la actividad fagocítica de la microglía en cultivo

Sofía Bernal-Vega^{a,b}, Marcela Cárdenas-Tueme^a, y Alberto Camacho^b y Diana Reséndez-Pérez^{a*}

^aUnidad de Biología del Desarrollo, Laboratorio de Inmunología y Virología, Universidad Autónoma de Nuevo León, San Nicolás de los Garza, Nuevo León.

^bDepto. De Bioquímica, Facultad de Medicina, Universidad Autónoma de Nuevo León, Madero y Dr. Aguirre Pequeño S/N, Col. Mitras Centro, Monterrey, México

* diarendez@gmail.com

Palabras clave: neuroinflamación, microglía, fagocitosis, epigenética.

Introducción

La neuroinflamación se define como la respuesta inflamatoria del sistema nervioso que integra la producción de mediadores proinflamatorios como las citocinas y quimiocinas (1). A nivel cerebral, la microglía es el principal tipo de célula inflamatoria que actúa como macrófago residente en condiciones de respuesta inmune y también juega un papel predominante durante el desarrollo fetal. Se conoce que la activación de la microglía puede darse por diversos estímulos proinflamatorios endógenos y exógenos, entre los que destacan lipopolisacáridos (LPS), citocinas, ácidos grasos, agregados proteicos, entre otros (3). En nuestro laboratorio, se ha trabajado con un modelo de sobrenutrición materna y se ha demostrado que la sobrenutrición de la madre provoca neuroinflamación en la descendencia. En condiciones de obesidad, los altos niveles de ácidos grasos saturados, lípidos y glucosa alteran los perfiles de metilación del ADN y el estado de condensación de la cromatina lo que conduce a la activación de macrófagos (4-5). Con lo anterior, se desconoce si el aumento en el perfil lipídico modula la activación de la microglía a través de mecanismos epigenéticos. En este proyecto se propone identificar si los lípidos son potenciales promotores de activación de la microglía y de fagocitosis y si esta puede modularse mediante la activación farmacológica de mecanismos epigenéticos.

Metodología

Se empleó la línea celular de microglía murina SIM-A9 (ATCC, CRL-3265), que se mantuvo en medio DMEM F12 suplementado con 5% de suero fetal bovino y 10% de antibiótico en una incubadora a 37°C, 5% CO₂ y 95% de O₂. Las células de microglía se incubaron durante 24 h, con/sin fármacos epigenéticos que incluyen: 5-Azaciditidina (5-AZA, inhibidor de la ADN metiltransferasa), ácido suberoilánilida (SAHA, inhibidor de histonas deacetilasas, HDAC) y S-adenosil metionina (SAM fármaco inhibidor de la ADN metiltransferasa). Posteriormente, se retiró el medio y se añadió medio nuevo DMEM F12 con 0.1% de perlas de látex fluorescentes (FITC), las cuales previamente fueron pre-opsionizadas en SFB (1:5) durante 1 h a 37°C. Los cultivos se estimularon con LPS (500 ng/ml) (estímulo inflamatorio) durante 6 horas a 37 °C. Transcurrido el tiempo, se desechó el medio, se lavaron las células dos veces con PBS IX estéril y se recolectaron con una solución de PBS/EDTA/EGTA/Glucosa. La solución con las células se transfirió a tubos de microcentrífuga de 1.5 ml y se centrifugaron a 1500 rpm durante 5 minutos. Finalmente, se descartó el sobrenadante y se resuspendieron las células en 100 µl de PBSIX para su análisis mediante citometría de flujo.

Resultados y discusión

Los resultados demuestran que la promoción de la acetilación de

histonas por SAHA y la hipometilación del ADN e histonas por 5-AZA decrece la actividad fagocítica de la microglía en condiciones basales (Fig. 1A). De interés, la promoción de la acetilación de histonas por SAHA es eficiente en decrecer la fagocitosis inducida por el estímulo pro-inflamatorio LPS (Fig. 1B). Se ha mostrado que los inhibidores de HDAC decrecen la fagocitosis de la microglía expuesta a estímulos inflamatorios con LPS (6-7). Sin embargo, el empleo del inhibidor de HDAC no selectivo como SAHA, se desconoce cuáles HDACs modulan la activación de la microglía y como la inhibición de éstas conlleva a la acetilación de genes para reducir la actividad fagocítica. Algunos estudios señalan que la inhibición de HDACs clase I 1, 2 y 3 reducen la respuesta de macrófagos al ser estimulados con LPS (8). Por su parte, la regulación de la expresión génica por metilación del ADN ha sido poco estudiada en estas células. Se ha visto que la inhibición de la metilación en macrófagos suprime la inflamación (4). En concreto, la enzima DNMT3b disminuye la inflamación y regula la polarización de macrófagos (9).

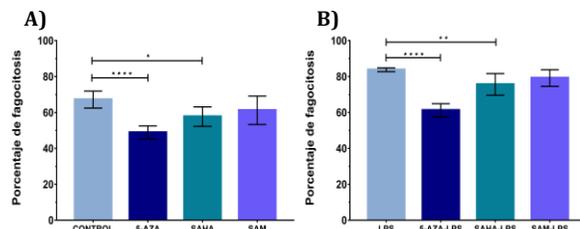


Figura 1. Efecto de moduladores epigenéticos sobre la actividad fagocítica de la microglía en condiciones basales e inflamatorias.

Conclusiones

La promoción de la acetilación de histonas y la hipometilación del ADN e histonas reducen la actividad fagocítica de la microglía en condiciones basales e inflamatorias.

Referencias

- DiSabato, D. J.; Quan, N.; Godbout, J. P. J. *of neurochemistry*. **2016**, 139, 136-153.
- Salter, M. W.; Stevens, B. *Nature medicine*. **2017**, 23(9), 1018
- Lull, M. E.; Block, M. L. *Neurotherapeutics*. **2010**, 7(4), 354-365.
- Wang, X.; Cao, Q.; Yu, L.; Shi, H.; Xue, B.; Shi, H. *JCI insight*. 2016, 1(19).
- Babu, M.; Durga, T.; Mäkinen, P.; Kaikkonen, M.; Lesch, H. P.; Junttila, S.; Ylä-Herttuala, S. *Circulation Res*. **2015**, 117(3), 289-299.
- Durham, B. S.; Grigg, R.; & Wood, I. C. J. *of neurochemistry*. **2017**, 143(2), 214-224.
- Datta, M.; Staszewski, O.; Raschi, E.; Frosch, M.; Hagemeyer, N.; Tay, T. L.; Matthias, P. *Immunity*. 2018, 48(3), 514-529.
- Jeong, Y.; Du, R.; Zhu, X.; Yin, S.; Wang, J.; Cui, H.; Lowenstein, C. J. *J.I of leukocyte biology*. **2014**, 95(4), 651-659
- Yang, X.; Wang, X.; Liu, D.; Yu, L.; Xue, B.; Shi, H. *Molecular Endocrinology*. **2014**, 28.4 (2014): 565-5