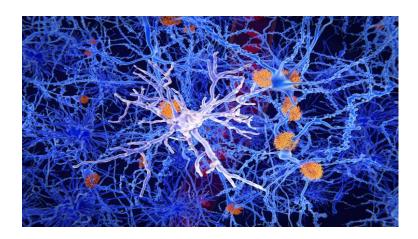


06/07/2021

Un nuevo protocolo de citometría de flujo permite estudiar la actividad fagocítica de las células de la microglía obtenidas in vivo



La microglía son células del sistema inmunitario que residen en el sistema nervioso central. Juegan un papel fundamental en el curso de enfermedades que producen lesiones cerebrales, en la autoinmunidad o la esclerosis múltiple, debido a que una de sus funciones es limpiar la zona de restos celulares dañados. En este artículo, investigadoras del Departamento de Biología Celular, Fisiología e Inmunología proponen un nuevo protocolo mediante la técnica de citometría de flujo, para identificar la capacidad fagocítica de estas células, obtenidas in vivo, en el tejido nervioso dañado. De esta manera se podrían desarrollar nuevas estrategias terapéuticas al favorecer su eficiencia en este tipo de afectaciones.

iStock_Selvanegra

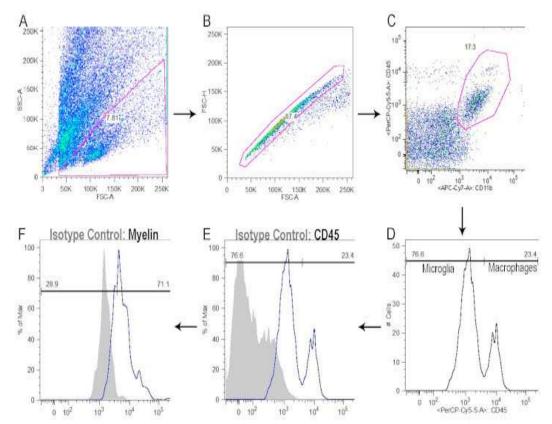
La microglía son los macrófagos residentes del sistema nervioso central y sus principales células inmunitarias. Estas células participan en el buen mantenimiento del cerebro y también tienen un papel fundamental en enfermedades relacionadas con la neuroinflamación. La neuroinflamación se define como una respuesta inflamatoria iniciada por diferentes factores que incluyen infección, lesiones cerebrales traumáticas o autoinmunidad, entre otros. En este proceso, las células de la microglía juegan un papel fundamental, puesto que se encargan de la detección y eliminación de residuos resultantes

del daño tisular, y posteriormente promueven la regeneración del tejido neuronal para restablecer el buen funcionamiento. Por ejemplo, en enfermedades desmielinizantes, es decir, aquellas que provocan la degeneración de la mielina (un envoltorio que recubre el axón de las células nerviosas y que permite la correcta transmisión del impulso nervioso), o en lesiones del sistema nervioso central, la microglía juega un papel fundamental eliminando restos de mielina malograda. La eliminación de esta mielina malograda es un proceso clave en el curso de la reparación de una lesión, debido a que los restos son altamente tóxicos y una fuente de mediadores oxidativos. Si no fueran eliminados implicaría una serie de desventajas que supondrían, por ejemplo, un retraso en la recuperación de la mielina en la zona dañada, y por tanto, del buen funcionamiento de las neuronas.

Debido a todo lo que se ha expuesto previamente, la capacidad y eficiencia de la microglía en la fagocitosis (proceso de eliminación de restos celulares) de la mielina tiene un impacto decisivo en la recuperación de enfermedades y lesiones desmielinizantes, como podría ser la esclerosis múltiple. En los últimos años, muchos estudios se han centrado en la posible modulación de la microglía como posible estrategia terapéutica para una mejor eficiencia en la eliminación de restos de mielina, y un mayor apoyo trófico a las células que la forman, para favorecer el proceso de remielinización. Es por eso, que los ensayos de evaluación de la capacidad fagocítica de mielina por parte de la microglía son una herramienta importante para estudiar el fenotipo de la microglía.

En un artículo publicado recientemente en nuestro grupo hemos desarrollado un protocolo que permite la caracterización de la capacidad fagocítica de estas células en cuanto a la ingesta y eliminación de la mielina utilizando la técnica de citometría de flujo. Este ensayo ha consistido en la detección de mielina, previamente marcada con fluorescencia, que ha sido eliminada por la microglía. Si bien este tipo de ensayo se había realizado de forma muy común en ensayos in vitro, usando cultivos celulares, en nuestro estudio hemos realizado este ensayo con microglía obtenida directamente del tejido nervioso del sistema nervioso central de un modelo animal. De este modo, hemos adaptado un protocolo de citometría de flujo, que ofrece la ventaja de poder estudiar varios marcadores a la vez, para realizar un ensayo de fagocitosis de mielina por parte de las células de microglía obtenidas in vivo, que pueden provenir de una diversidad muy grande de modelos experimentales de animales.

El uso de este protocolo permitirá obtener un enfoque más próximo a las condiciones in vivo de la microglía que fagocita mielina en varios modelos experimentales de enfermedades desmielinizantes, y podrá favorecer un buen desarrollo de las estrategias terapéuticas para modular la microglía en estas enfermedades.



Pie de figura: Análisis de la capacidad fagocítica de las células de la microglía con la técnica de citometría de flujo. En esta figura se pueden observar los diferentes gráficos obtenidos con esta técnica que nos permite detectar y caracterizar las células de microglía que han fagocitado la mielina marcada con fluorescencia. Las imágenes A,B y C nos muestran la forma de delimitar los macrófagos y la micròglia con el uso de anticuerpos expresados por estas células del resto del tejido. En la imagen D podemos observar dos picos que nos permiten separar la micròglia de la población de macrófagos. Finalmente las imágenes E y D muestran las células de microglía que expresan un marcador específico y las que han internalizado la mielina, respectivamente.

Ariadna Gómez López i Gemma Manich Raventós

Unidad de Histología Médica Departamento de Biología Celular, Fisiología e Immunología Universitat Autònoma de Barcelona

ariadna.regina.gomez@gmail.com gemma.manich@uab.cat

Referencias

Gómez-López AR, Manich G, Recasens M, Almolda B, González B, Castellano B. Evaluation of Myelin Phagocytosis by Microglia/Macrophages in Nervous Tissue Using Flow Cytometry. Curr Protoc 2021 Mar;1(3):e73. doi: https://doi.org/10.1002/cpz1.73

View low-bandwidth version