



Casa abierta al tiempo

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA
Unidad Iztapalapa

DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD
POSGRADO EN BIOLOGÍA EXPERIMENTAL

**“Diferencias en el estado de la cromatina de astrocitos primarios
de corteza de rata inducidos a senescencia o a gliosis con
palmitato.”**

TESIS PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRA EN BIOLOGÍA EXPERIMENTAL

QUE PRESENTA:

BIOL. EXP. KARLA ESTEPHANIA ÁVILA GALICIA

MATRICULA: 2223803050
CORREO: kfanyrc@gmail.com

Directora: **Dra. Mina Königsberg Fainstein**

Co-director: **Dr. Ernesto Soto Reyes Solís**

Asesora: **Dra. Adriana Alarcón Aguilar**

JURADO

PRESIDENTA:

DRA. ADRIANA ALARCON AGUILAR

SECRETARIO:

DR. ARMANDO LUNA LOPEZ

VOCAL:

DRA. CYNTHIA GABRIELA SAMANO SALAZAR

VOCAL:

DRA. VERONICA SALAS VENEGAS

IZTAPALAPA, CIUDAD DE MÉXICO A 2 DE OCTUBRE DEL 2024

“El Programa de Maestría en Biología Experimental de la Universidad Autónoma Metropolitana pertenece al Programa Nacional de Posgrados de Calidad (PNPC) del CONACYT, registro 001481, en el Nivel Consolidado, y cuenta con apoyo del mismo Consejo, clave DAFCYT-2003IMPTNNN0020”.

Durante el transcurso de la Maestría en Biología Experimental, en la UAM Iztapalapa, recibí la beca otorgada por el CONACYT, con número de CVU 1255352, en el periodo 2022-2024.

El jurado designado por la Comisión Académica del Posgrado en Biología Experimental de la División de Ciencias Biológicas y de la Salud de la Universidad Autónoma Metropolitana aprobó la Tesis titulada: “Diferencias en el estado de la cromatina de astrocitos primarios de corteza de rata inducidos a senescencia o a gliosis con palmitato.”, que presentó Karla Estephania Ávila Galicia el día 02 de octubre del año 2024

Dra. Adriana Alarcón Aguilar

PRESIDENTA

Depto. de Ciencias de la Salud.

Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Iztapalapa.

Dr. Armando Luna López

SECRETARIO

Depto. Investigación Básica.

Instituto Nacional de Geriatria.

Dra. Cynthia G. Sámano Salazar

VOCAL

Depto. de Ciencias Naturales e Ingeniería

Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Cuajimalpa

Dra. Verónica Salas Venegas

VOCAL

Depto. de Ciencias de la Salud

Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Iztapalapa.

CÓMITE TUTORAL

Directora:

Dra. Mina Königsberg Fainstein

Departamento de Ciencias de la Salud, Universidad Autónoma Metropolitana
Unidad Iztapalapa. Profesor-Investigador titular C, Laboratorio de Bioenergética y
Envejecimiento Celular. Correo: mkf@xanum.uam.mx

Co-director:

Dr. Ernesto Soto Reyes Solís

Departamento de Ciencias Naturales, Universidad Autónoma Metropolitana Unidad
Cuajimalpa. Profesor-Investigador titular C, Laboratorio de Biología Celular. Correo:
esotoreyes@cua.uam.mx.

Asesora:

Dra. Adriana Alarcón Aguilar

Departamento de Ciencias de la Salud, Universidad Autónoma Metropolitana
Unidad Iztapalapa. Laboratorio de Bioenergética y Envejecimiento Celular. Correo:
adyalagui@yahoo.com.mx

Papá, Mamá... por y para ustedes que nunca me han dejado sola y que, por el contrario, me han acompañado en cada decisión que he tomado. Sin su presencia ni la de Migue, nada de esto sería posible.

El camino hubiera sido más complicado e incluso triste sin el apoyo, guía y cariño de cada uno de mis amigos y amigas del laboratorio de Bioenergética y Envejecimiento Celular: La Dra. Verónica, la Mtra. Pamela, el Lic. José Manuel, la Dra. Paola López, el Dr. Roberto. Mi dulce Lic. Paola Vázquez y mi querido Leonardo Absalón con los que he compartido tantas horas y días llenos de alegría, diversión, tristeza y angustia. Especialmente de los que considero mis mentores durante este camino: La Mtra. Michel López Teros y el Dr. Samael Olascoaga. Gracias por su amistad sincera, por su tiempo dentro y fuera del laboratorio, por su guía y compañía, por su paciencia y por su cariño. Esto no existiría como existe hoy sin ustedes. Celebro cada uno de sus logros y le pido a la vida por más, porque lo merecen.

Dra. Mina Königsberg gracias por su trato humano, gracias por siempre estar al pendiente de mi salud física y mental. Gracias por esforzarse y luchar para que podamos alcanzar nuestras metas sin olvidarnos de quienes somos en el camino.

Dra. Adriana gracias por su cariño y cuidado; confío en que todo estará bien porque usted está a nuestro lado. Cada gesto de preocupación y amor, los llevo en el corazón.

Resumen

La senescencia celular y los procesos de gliosis en el cerebro desempeñan un papel crucial en el desarrollo de enfermedades neurodegenerativas y el deterioro cognitivo. Factores como el estrés oxidativo, provocado por una dieta alta en grasas, se han identificado como elementos que favorecen el establecimiento de estos fenotipos en el cerebro. Este estudio se enfoca en identificar los cambios en las marcas epigenéticas y factores epigenéticos relacionados con la modificación del estado de la cromatina en astrocitos senescentes y en gliosis, con el objetivo de comprender cómo se regulan estos fenotipos a nivel epigenético.

Para ello, se realizaron cultivos primarios de astrocitos obtenidos de la corteza cerebral de ratas neonatales, los cuales fueron expuestos a concentraciones específicas de palmitato, un ácido graso saturado común en dietas ricas en grasas, con el fin de inducir senescencia o gliosis. Posteriormente, se evaluaron las marcas epigenéticas H3K9ac y H3K9me3, la expresión de las enzimas Sirt1 y SUV39H1, y otros factores epigenéticos, utilizando técnicas de inmunofluorescencia y análisis de secuenciación de ARN (RNA-seq).

Los resultados evidenciaron un aumento significativo en las marcas epigenéticas en ambos estados celulares. En los astrocitos senescentes, se observó una mayor intensidad de la marca H3K9me3 y un incremento en la cantidad de SUV39H1, lo que sugiere la formación de focis de heterocromatina. En los astrocitos en gliosis, se identificó un mayor número de factores epigenéticos diferencialmente expresados en comparación con los astrocitos senescentes, principalmente asociados a la regulación de la transcripción, remodelación de la cromatina y cambios metabólicos.

Estos hallazgos indican que, mientras los cambios en el estado de la cromatina en astrocitos en gliosis son regulados, los astrocitos senescentes parecen perder este control, lo que podría conducirlos a desarrollar procesos de ex-diferenciación.

Abstract

Cellular senescence and gliosis in the brain play a crucial role in the development of neurodegenerative diseases and cognitive decline. Factors such as oxidative stress induced by a high-fat diet have been identified as promoters of these phenotypes in the brain. This study aims to identify changes in epigenetic marks and factors associated with chromatin state modifications in senescent and reactive astrocytes to understand how both cellular phenotypes are regulated at the epigenetic level.

To this end, primary cultures of astrocytes were obtained from the cerebral cortex of neonatal rats and exposed to specific concentrations of palmitate, a saturated fatty acid commonly found in high-fat diets, to induce either senescence or gliosis.

Epigenetic marks H3K9ac and H3K9me3, the expression of the enzymes Sirt1 and SUV39H1, and other epigenetic factors were then evaluated using immunofluorescence techniques and RNA sequencing (RNA-seq) analysis.

The results revealed a significant increase in epigenetic marks in both cellular states. In senescent astrocytes, a higher intensity of the H3K9me3 mark and an increase in SUV39H1 were observed, suggesting the formation of heterochromatin foci. In reactive astrocytes, a greater number of differentially expressed epigenetic factors were identified compared to senescent astrocytes, mainly associated with transcriptional regulation, chromatin remodeling, and metabolic changes.

These findings indicate that while chromatin state changes in reactive astrocytes are regulated, senescent astrocytes appear to lose this control, potentially leading to processes of ex-differentiation.

Índice

1	Introducción.....	8
1.1	Astrogliosis.....	8
1.2	Senescencia celular.....	11
1.3	La epigenética.....	13
1.4	Respuesta de los astrocitos al estrés oxidativo.....	18
2	Antecedentes.....	19
3	Justificación.....	23
4	Pregunta de investigación.....	23
5	Hipótesis.....	24
6	Objetivo general.....	24
6.1	Objetivos particulares.....	24
7	Diseño Experimental.....	25
8	Análisis estadístico.....	25
9	Materiales y métodos.....	26
9.1	Animales.....	26
9.2	Reactivos.....	26
9.3	Aislamiento de astrocitos.....	26
9.4	Preparación del palmitato (PA).....	27
9.5	Inducción de la senescencia celular.....	27
9.6	Inducción de gliosis.....	28
9.7	Inmunofluorescencia.....	28
9.8	Secuenciación de ARN de alto rendimiento (RNA-seq).....	29
9.9	Análisis Bioinformático.....	29
9.9.1	Alineación y análisis de expresión diferencial.....	29
9.9.2	Análisis de enriquecimiento funcional (GO).....	30
9.9.3	Análisis de enriquecimiento en vías biológicas (KEGG).....	30
9.9.4	Visualización de los genes con mayor variabilidad (Heatmap).....	31
9.9.5	Análisis de componentes principales (PCA).....	31
9.9.6	Visualización de genes diferencialmente expresados: Volcano Plots.....	31
9.9.7	Catálogo de epifactores.....	32
9.9.8	Disponibilidad del código.....	32
10	Resultados.....	32
11	Discusión.....	47
12	Conclusión.....	55
13	Resumen gráfico.....	56
14	Bibliografía.....	57

1. Introducción

1.1 Astroglisis

El correcto funcionamiento del sistema nervioso central (SNC) es posible gracias a una óptima interacción de las diversas células que lo componen, como las neuronas y la neuroglia (Halassa et al., 2007; Nimmerjahn et al., 2005; Pfrieger & Barres, 1997). La neuroglia se conforma a su vez por células de la microglía, oligodendrocitos, células ependimarias y astrocitos. Los astrocitos, son las células gliales más abundantes del SNC encargados de mantener la homeostasis molecular y metabólica mediante procesos como la eliminación y el metabolismo de los neurotransmisores, la síntesis de glucógeno y el suministro de sustratos energéticos a las neuronas (Sofroniew & Vinters, 2010). A través de una creciente respuesta reactiva, los astrocitos junto con la microglía componen el principal sistema defensivo del SNC. Esta respuesta reactiva denominada como astroglisis son un espectro de posibles cambios moleculares, celulares y funcionales en los astrocitos que alteran su actividad a través de la ganancia o pérdida de sus funciones y que tienen un impacto benéfico o perjudicial en las células neuronales y no neuronales circundantes. Estos cambios se producen en respuesta a lesiones, traumas cerebrales y enfermedades del SNC. La astroglisis es dependiente de la severidad del daño, dando lugar a alteraciones progresivas en la expresión molecular, hipertrofia celular y, en casos severos, proliferación y formación de cicatrices (Adams & Gallo, 2018). Durante la astroglisis los astrocitos producen un cóctel de citocinas, quimiocinas y otras moléculas cuya composición depende de las condiciones del estímulo efector del daño. Las moléculas secretadas por los astrocitos tienen el

potencial de impactar en todos los aspectos de la función neuronal, desde la regulación del flujo sanguíneo, el suministro de energía hasta la función sináptica y la plasticidad neuronal (Sofroniew & Vinters, 2010; Verkhratsky & Nedergaard, 2018).

En respuesta a lesiones de leves a moderadas la proliferación de los astrocitos se mantiene estable o aumenta muy poco produciendo una leve o nula reorganización tisular; si el mecanismo desencadenante se resuelve, la astrogliosis asume un papel resolutivo en donde los astrocitos recuperan la morfología en reposo, característica del tejido sano (Sofroniew & Vinters, 2010). Por el contrario, en la astrogliosis difusa grave causada por una lesión de mayor magnitud, ocurre un aumento en la proliferación de los astrocitos produciendo una reorganización de la arquitectura tisular que puede extenderse de manera difusa sobre áreas importantes (Faulkner et al., 2004). Esta es una respuesta normal y fisiológica de los astrocitos frente a un daño (Escartin et al., 2021)

Cuando sucede una lesión grave, como un daño tisular severo derivado de un traumatismo penetrante (como una isquemia), necrosis, infecciones invasivas o neurodegeneración crónica, se produce una astrogliosis severa que incrementa la proliferación celular e induce la formación de una cicatriz glial densa, estrecha y compacta a lo largo de los bordes del sitio donde sucedió la lesión. La formación de una cicatriz glial es esencial en la resolución del daño ya que inhibe la propagación y persistencia de las células inflamatorias (Myer, 2006), facilita la reparación de la barrera hematoencefálica (BHE), evita la pérdida neuronal y desmielinización, disminuye el tamaño de la lesión lo que produce a su vez una disminución de los signos clínicos (Faulkner et al., 2004).

Se ha clasificado a los astrocitos en gliosis dependiendo de su fenotipo. Los astrocitos reactivos tipo A1 se caracterizan por una respuesta inflamatoria desregulada que puede generar una reacción inflamatoria crónica en el cerebro y la médula espinal. Se ha sugerido que la presencia de astrocitos A1 puede contribuir a la progresión de las enfermedades neurodegenerativas al alterar el equilibrio entre la supervivencia y la muerte celular en el cerebro y la médula espinal. Los astrocitos reactivos A2, por su parte son inducidos por isquemias y pertenecen a un fenotipo anti-inflamatorio y neuroprotector que promueve la regeneración del SNC al secretar factores neurotróficos y trombospondinas que ayudan a la supervivencia de las neuronas y a la recuperación de las sinapsis, respectivamente (Lazic et al., 2022). Si bien esta visión binaria de los fenotipos que adquieren los astrocitos durante la astrogliosis ayuda a tener un panorama general de lo que ocurre en el contexto celular, no captura la diversidad de estados que pueden tener los astrocitos reactivos en las diferentes enfermedades del SNC. Escartin et al., (2021) proponen que “Existe un espectro continuo de fenotipos de astrocitos reactivos que coexisten en el cerebro donde la ganancia de funciones protectoras y la pérdida de funciones beneficiosas de los astrocitos reactivos durante la enfermedad pueden ocurrir simultáneamente” (Escartin et al., 2021). En otras palabras, en diferentes etapas de la respuesta frente a un estímulo adverso, los astrocitos reactivos adquieren diferentes estados los cuales pueden tener efectos protectores o perjudiciales al mismo tiempo, por lo que no es conveniente separarlos en astrocitos A1 y A2 (Sofroniew, 2020).

La astrogliosis, que en ciertos momentos se considera una respuesta protectora del SNC, también puede resultar perjudicial en el contexto de la neurodegeneración,

donde se presenta una inflamación crónica. En estos casos, puede aumentar el daño neuronal al facilitar la producción de citocinas proinflamatorias, aumentar la permeabilidad de la BHE y aumentar el estrés oxidativo (Ferrer, 2017).

1.2 Senescencia Celular

El aumento del estrés oxidativo y una inflamación crónica de bajo grado son eventos característicos del envejecimiento que producen cambios en la estructura y función de los astrocitos e incluso a la disfunción de los mismos, contribuyendo al desarrollo de enfermedades neurológicas genéticas y neurodegenerativas, tales como la enfermedad de Alzheimer (EA) y la enfermedad de Parkinson (EP) que ocurren con mayor frecuencia en cerebros envejecidos (Salminen et al., 2011). Estas enfermedades neurodegenerativas o estados patológicos previos pueden tener respuestas particulares vinculadas a la astrogliosis y sufrir cambios relacionados con la senescencia, lo que significa que estos dos estados de los astrocitos comparten el mismo espacio-tiempo en el cerebro (Ferrer, 2017).

La senescencia celular se define como un estado prolongado y generalmente irreversible de arresto del ciclo celular. La senescencia se induce como respuesta a estímulos estresores ya sean internos, tales como alteraciones epigenéticas, un estado de inflamación crónico, acortamiento de los telómeros, activación de oncogenes, estrés oxidativo y disfunción de la mitocondria, o externos como radiación ionizante y exposición a agentes quimioterapéuticos que activan una respuesta al daño del ADN (DDR, por sus siglas en inglés) (d'Adda Di Fagagna, 2008; Wiley & Campisi, 2016). Debido a los múltiples factores que pueden participar

en el establecimiento de la senescencia se han propuesto diversos tipos de senescencia, incluida la senescencia replicativa, la senescencia programada en el desarrollo y la senescencia inducida por estrés (Zhu et al., 2021).

Las células senescentes están presentes en diferentes estadios de la vida, durante la embriogénesis ayudan al desarrollo y remodelación de tejidos; en la vida adulta previenen la propagación de células dañadas y suprimen la generación de tumores; y en la vejez su acumulación está relacionada con el deterioro de tejidos y la aparición de enfermedades (Gorgoulis et al., 2019; Herranz & Gil, 2018). En el envejecimiento la presencia de células senescentes interfiere con la capacidad de los tejidos para repararse y regenerarse con consecuencias graves para el mantenimiento de la homeostasis de los mismos (Herranz & Gil, 2018).

Si bien los estímulos iniciales que inducen senescencia son suficientes para iniciar la salida del ciclo celular, las células senescentes adicionalmente hacen uso de otros mecanismos para mantener dicho arresto del ciclo celular. Las células senescentes mantienen un estado metabólico activo que les permite llevar a cabo diversos procesos como la remodelación de su cromatina (Herranz & Gil, 2018). La remodelación de la cromatina es relevante para la formación de focos de heterocromatina relacionados a senescencia (SAHF) en algunos tipos de senescencia (Chandra, 2016). Los focos de heterocromatina se manifiestan en forma de compartimentos subnucleares que conforman regiones densas de cromatina que dan lugar al silenciamiento de genes necesarios para la progresión del ciclo celular (Ivanov et al., 2013) y brindan protección contra la señalización excesiva de daños en el ADN durante el estrés inducido por oncogenes, por ejemplo (Fortuny et al.,

2021). Otros marcadores de senescencia celular incluyen la presencia de la histona γ -H2Ax fosforilada en la S139 (γ -H2AX) que aumenta durante la respuesta del daño al ADN (DDR); la sobreexpresión de las proteínas p21^{CIP1} y p16^{INK4}, que participan en la inhibición de las CDK2 y CDK4/6, para inhibir la progresión del ciclo celular (Herranz & Gil, 2018) y la disminución de la Lámina B1 (Shimi et al., 2011). Sin embargo, el marcador de senescencia más utilizado es la actividad de la enzima β -galactosidasa asociada a la senescencia (SA β -gal) la cual se encuentra elevada como resultado de un aumento en el contenido lisosomal (Herranz & Gil, 2018; Kurz et al., 2000). Las múltiples vías de señalización que participan en la regulación de la senescencia, también convergen en una inflamación desregulada, alteración de procesos epigenéticos y un desequilibrio metabólico (Zhu et al., 2021).

1.3 La epigenética

A los mecanismos que ocasionan cambios en la expresión génica debido a modificaciones químicas en el ADN y/o en las proteínas involucradas en su regulación, sin modificar su secuencia de nucleótidos, se les conoce como mecanismos epigenéticos (Bird, 2007). Estos involucran mecanismos ampliamente estudiados como la metilación del ADN (Senner, 2011), y las modificaciones postraduccionales de de las histonas (Kouzarides, 2007), y otros propuestos recientemente que tienen que ver con la organización 3D del genoma (Aboelnour & Bonev, 2021) y la participación de los lncRNAs (Kumar et al., 2020).

Dentro de las modificaciones epigenéticas destacan las modificaciones postraduccionales de las histonas. Estas modificaciones son esenciales para regular la

dinámica de la cromatina, la cual constituye “la forma física de nuestro material genético” y cuyos cambios son esenciales para activar o desactivar la actividad transcripcional de regiones genómicas específicas, con el fin de producir cambios celulares y fisiológicos (Allis & Jenuwein, 2016). Las histonas son proteínas de naturaleza básicas que al agruparse dan lugar a los nucleosomas, octámeros de histonas en los cuales se enrolla el ADN con el fin de empaquetarse, protegerse y regularse (Fuggle et al., 2022). Se reconocen cuatro como las histonas canónicas que forman parte del core de los nucleosomas y cada una de ellas se encuentra por duplicado en los nucleosomas: la H2A, la H2B, la H3 y la H4 (Hodawadekar & Marmorstein, 2007). Sin embargo, existe una gran variedad de variantes de histonas (Martire & Banaszynski, 2020).

Las modificaciones postraduccionales que presentan estas proteínas pueden producir cambios en su naturaleza química, alterando así su interacción con el ADN y con las proteínas adyacentes dentro del nucleosoma (Bannister & Kouzarides, 2011). Además, estas modificaciones pueden facilitar el reclutamiento de enzimas que contribuyen a cambios en la estructura de la cromatina. Estas modificaciones ocurren principalmente en la histona 3 y 4, y pueden ser metilaciones, acetilaciones y fosforilaciones, entre otras, siendo las primeras dos las más estudiadas (Kouzarides, 2007),

La acetilación de las histonas se lleva a cabo en sus residuos de lisina por una familia de enzimas conocidas como acetil-transferasas de histonas (HATs, por sus siglas en inglés) (Kouzarides, 2007). La acetilación de un residuo de lisina produce la neutralización de su carga positiva, provocando el debilitamiento de la interacción

histona-ADN. Esta pérdida o debilitamiento en la interacción de las histonas con el ADN permite la apertura de ciertas regiones genómicas, pudiendo ser abordadas por la maquinaria transcripcional. Es por ello que se considera a la acetilación de las histonas como una modificación activadora que se observa principalmente en promotores y enhancers activos. (Armenta-Castro et al., 2020). Sin embargo, la acetilación es un proceso altamente dinámico que puede ser revertido por la acción de una familia de enzimas conocidas como desacetilasas de histonas (HDACs, por sus siglas en inglés) que se encargan de retirar la acetilación de los residuos de lisina, y de esta manera restablecer su carga negativa, y por ende, su interacción con el ADN (Bannister & Kouzarides, 2011).

De acuerdo con estudios filogenéticos, las HDACs se han dividido en cuatro familias: las clase I, clase II, clase III y las clase IV. Dentro de las Clase III se encuentran las Sirtuinas (SIRT), una familia de 7 enzimas que usan como cofactor el NAD⁺ (Hodawadekar & Marmorstein, 2007) y que participan en la regulación de la expresión génica, reparación de ADN, en respuesta al estrés oxidativo y la disfunción mitocondrial. Las sirtuinas se localizan en diferentes compartimentos celulares, por ejemplo, SIRT1, SIRT6 y SIRT7 se encuentran en el núcleo, destacando SIRT1 por ser la más estudiada (Iside et al., 2020). La SIRT1 se ha visto involucrada no solo en la desacetilación de histonas, sino también de proteínas de gran importancia biológica como p53, FoxOs, PGC1- α , PPAR γ y NF κ B, participando en la regulación de diversos procesos biológicos como el envejecimiento y la senescencia celular (Chen et al., 2020). Se ha observado que durante la senescencia celular el contenido proteico de SIRT1 disminuye independientemente de sus niveles de RNAm (Sasaki

et al., 2006) y que su sobreexpresión puede, por el contrario, revertirla (Ota et al., 2007).

Por otro lado, la metilación de histonas se lleva a cabo principalmente en sus residuos de lisina (K) y arginina (R), y contrario a la acetilación, esta modificación post-traduccional no modifica la carga de las histonas (Bannister & Kouzarides, 2011). Las lisinas, específicamente, pueden ser mono-, di-, o tri-metiladas; En este sentido, la metilación de histonas está regulada por una red compleja de enzimas que reconocen sitios y otras marcas específicas con el fin de reconocer, metilar o desmetilar dichos sitios (Bannister & Kouzarides, 2011; Lan & Shi, 2009).

Una de las primeras histonas-metiltransferasa en ser caracterizada fue el Supresor de Variegación 3-9 Homólogo 1 (SUV39H1), responsable de la formación de la marca H3K9me3 a través de la di y tri-metilación de la lisina nueve de la histona 3 (H3K9). Esta marca se ha asociado con la organización de la heterocromatina en regiones pericentroméricas y teloméricas, el silenciamiento de dominios de eucromatina y represión transcripcional. Además, durante la senescencia replicativa y el envejecimiento se ha observado disminuida, al igual que SUV39H1. Esta disminución en la marca H3K9me3, así como en la enzima responsable de su establecimiento, durante el envejecimiento y la senescencia replicativa sugiere que durante ambos estados hay una pérdida global de la heterocromatina y cambios en la estabilidad genómica (Sidler et al., 2014).

Tanto la acetilación como la metilación tienen un papel muy importante en la regulación de la dinámica de la cromatina y, por ende, de la regulación génica; ya

que una cromatina condensada, llamada clásicamente heterocromatina, no permite el paso de factores de transcripción y/o RNA polimerasas para llevar a cabo la expresión de los genes ubicados en estas regiones. Por otro lado, una cromatina laxa, conocida también como eucromatina, permite el acceso y la interacción de estos factores y proteínas, que juntos pueden llevar a cabo la transcripción de diversos genes (Klemm et al., 2019).

Sin embargo, no sólo las modificaciones post traduccionales de las histonas son cruciales en la regulación de la expresión génica a través de la modificación de la dinámica de la cromatina. Diversas proteínas se encargan también de orquestar estos cambios en la organización cromosómica a través de diversos mecanismos. Gracias a un repositorio llamado “Epifactores” (Marakulina et al., 2022) es posible identificar y clasificar cada una de estas proteínas, así como otros epifactores. De acuerdo con este repositorio, los epifactores se definen a través de varias consideraciones e incluyen a proteínas que cambian la estructura general de la cromatina, cofactores proteicos que forman complejos con factores epigenéticos, proteínas que actúan como histonas, variantes de histonas o protaminas así como aquellas proteínas que ayudan al plegamiento y ensamblaje de histonas. También incluye a proteínas que actúan sobre modificaciones del ADN o ARN de tal manera que afecta la expresión génica, pero no a través del procesamiento del ARN y finalmente, los LncRNA que participan en la regulación epigenética mediante diversos mecanismos. A través del análisis de expresión génica mediante RNA-seq, por ejemplo, se puede obtener información valiosa para evaluar el estado

transcripcional de estos epifactores e intentar determinar su papel en el estado celular.

1.4 Respuesta de los astrocitos al estrés oxidativo

Tanto la aparición de astrocitos senescentes como en gliosis puede ocurrir en respuesta a un aumento en el estrés oxidativo dentro del SNC (Sofroniew, 2009). Es importante mencionar que el cerebro es especialmente susceptible a sufrir estrés oxidativo como consecuencia del metabolismo principalmente oxidativo de las neuronas, de esta manera generan una alta cantidad de especies reactivas de oxígeno (ERO) durante la fosforilación oxidativa; Lo anterior aunado al hecho de que el cerebro posee una capacidad antioxidante relativamente baja como consecuencia de la actividad intrínsecamente disminuida de enzimas antioxidantes como la superóxido dismutasa (SOD), la catalasa y la glutatión peroxidasa constituye una importante fuente de ERO dentro del cerebro (Dröge, 2002). Además el cerebro es rico en ácidos grasos insaturados los cuales son el blanco de los procesos de lipoperoxidación que ocurren como consecuencia de un aumento de las ERO (Dringen, 2000). Sin embargo, el cerebro también cuenta con sistemas de defensa contra esta elevada producción de ERO. Estos sistemas de defensa provienen principalmente de los astrocitos, ya que poseen un gran número de moléculas y enzimas antioxidantes, tales como el glutatión (GSH), la glutatión peroxidasa y la catalasa; así como una mayor expresión y activación de Nrf2, un factor de transcripción sensible a cambios en el estado redox que desencadena una respuesta antioxidante con el fin de proteger, principalmente a las neuronas (Bélanger et al.,

2011; Vargas & Johnson, 2009). Además, los astrocitos tienen una ubicación clave dentro del cerebro donde a través de sus procesos vasculares, hacen contacto con los endotelios de los vasos sanguíneos cercanos, de esta manera son los primeros en detectar el entorno que los rodea y responder a los cambios extracelulares y en la circulación, con el fin de proteger al resto de las células del cerebro (Bélanger et al., 2011).

Diversos estudios han demostrado que una dieta alta en grasas puede ser el origen del estrés oxidativo en el cerebro, o bien, un potenciador del estrés preexistente ocasionado por el envejecimiento *per se* o estados patológicos (López-Teros et al., 2022; Ogrodnik et al., 2019; Salas-Venegas et al., 2023), debido a la acumulación de ácidos grasos libres en la sangre que ocasiona. Dentro de estos ácidos grasos libres en sangre que aumentan en respuesta a una dieta alta en grasas, destaca el ácido palmítico (C16:0) por ser el más abundante (Ubhayasekera et al., 2013). Diversos estudios relacionan el aumento de este ácido graso con la presencia de procesos inflamatorios en diversos órganos (Zeng et al., 2015) y regiones cerebrales (Dalvi et al., 2017; Lieu et al., 2021). De manera que el estrés oxidativo generado por los ácidos grasos podría favorecer la aparición tanto de astrocitos senescentes como en gliosis.

2. Antecedentes

El envejecimiento es un factor de riesgo importante para el desarrollo de diversas enfermedades neurodegenerativas; el deterioro cognitivo leve, la atrofia e hipoperfusión cerebrales ocurren con más frecuencia durante el envejecimiento, así

como la prevalencia de enfermedades metabólicas (Albert et al., 2011). Además, los pacientes con diabetes u obesidad son los que mayores probabilidades tienen de desarrollar complicaciones relacionadas con la edad (A. K. Palmer et al., 2019). El aumento en el riesgo de padecer alguna enfermedad neurodegenerativa durante el envejecimiento está relacionado con el incremento del estrés oxidativo como consecuencia de la disminución en la capacidad de eliminar las ERO, acompañado de otros factores como una dieta poco saludable (Ferrer, 2017; A. L. Palmer & Ousman, 2018). Estudios recientes han encontrado que una dieta alta en grasas y azúcares mantenida durante varios meses desencadena la aparición de astrogliosis en el hipotálamo mediobasal (MBH) produciendo inflamación local y un aumento en el estrés oxidativo (Rosenbaum et al., 2022). En paralelo, Gupta et al. (2012) encontraron que los altos niveles de ácidos grasos saturados circulantes, como el ácido palmítico (PA), pueden causar astrogliosis e inflamación cerebral in vivo al aumentar el estrés oxidativo (Gupta et al., 2012). Como se mencionó arriba, el estrés oxidativo también está involucrado en el establecimiento de la senescencia celular (Passos et al., 2010). Investigaciones han revelado que los astrocitos senescentes exhiben un mayor daño oxidativo y una mayor producción de superóxido (García-Matas et al., 2008), lo que sugiere la formación de un círculo vicioso donde se perpetúa la generación de estrés oxidante.

A través de los años se ha acumulado evidencia que sostiene que las modificaciones epigenéticas regulan una amplia gama de procesos neurofisiológicos y neuropatológicos. Los estudios sobre la regulación epigenética de los astrocitos durante su diferenciación en el desarrollo son abundantes y aunque estos estudios

no tienen un impacto directo en la neurodegeneración, pueden proporcionar información útil para entender los mecanismos epigenéticos en los astrocitos que pueden estar implicados en enfermedades neurodegenerativas. Tal es el caso del estudio realizado por Sriram et al., (2004) que demuestra que mecanismos epigenéticos como la metilación del ADN pueden influir en la vía de STAT3 (Sriram et al., 2004). Cabe mencionar que STAT3 es un importante regulador de la astrogliosis reactiva, por lo tanto, se puede deducir que la metilación del ADN podría alterar potencialmente la reactividad de los astrocitos y el estado inflamatorio en enfermedades neurodegenerativas mediante el control de la vía STAT3, junto con otras vías de señalización. Sin embargo, se necesita más investigación al respecto.

La mayor parte de la información obtenida sobre los cambios en las modificaciones epigenéticas que ocurren en un contexto de astrogliosis se ha obtenido a partir de un modelo de oclusión de la arteria cerebral media en roedores, que representa las condiciones de un accidente cerebrovascular en humanos (Schweizer et al., 2013). Al analizar estos estudios se observa una brecha significativa en la información obtenida sobre los cambios en las modificaciones epigenéticas de astrocitos reactivos en comparación con la encontrada en neuronas de regiones cerebrales específicas. En otras palabras, aunque se tiene una gran cantidad de información sobre los cambios epigenéticos en las neuronas que ocurren durante un accidente cerebrovascular, se dispone de poca información similar sobre los astrocitos reactivos.

Su et al., (2015) encontraron que el PA induce la metilación del promotor del Coactivador 1 α de PPAR (PGC-1 α) en los principales tipos de células del cerebro,

incluidos los astrocitos (Su et al., 2015). Este cambio en la metilación provoca una disminución en la expresión de PGC-1 α , impidiendo así que ejerza sus efectos neuroprotectores al evitar su unión con el receptor activado por proliferadores de peroxisomas β (PPAR β) y contribuir entonces a la disminución de las ERO (Su et al., 2015). Además de cambios en el estado de metilación del ADN e histonas, diversos estudios han mostrado cambios en el nivel de acetilación de las histonas en un contexto de gliosis. Tal es el caso de Kalinin et al. (2013) que encontraron que los astrocitos de rata in vivo después de una lesión cerebral traumática muestran una acetilación reducida de la histona H3 (Kalinin et al., 2013).

Por otro lado, los cambios en las modificaciones epigenéticas que ocurren durante la senescencia celular se han caracterizado en algunos tipos celulares; sin embargo, la exploración de estos cambios es muy poca en lo que se refiere a los astrocitos.

Chisholm et al. (2015) demostraron que las modificaciones epigenéticas en astrocitos de ratas hembra de 11 meses, 48 horas después de haber sufrido una isquemia cerebral, presentan cambios significativos. En comparación con ratas de 6 meses, las de 11 meses mostraron un patrón de cromatina más inactiva en los astrocitos, caracterizado por una disminución de la marca epigenética asociada con la activación transcripcional, H3K4me3, y un aumento de la marca vinculada a la represión transcripcional, H3K9me3 (Chisholm et al., 2015).

Se ha discutido previamente que, frente a un estímulo adverso dentro del cerebro, pueden coexistir de manera simultánea tanto astrocitos en gliosis reactiva como en senescencia. Sin embargo, actualmente no existen estudios comparativos que

analicen las diferencias en las modificaciones epigenéticas cuando los astrocitos atraviesan uno u otro estado en respuesta a dicho estímulo, específicamente, con relación a la respuesta a un estrés oxidativo causado por una dieta alta en grasas.

3. Justificación

Debido a que una dieta alta en grasas produce un aumento en el estrés oxidativo que promueve la aparición de astrocitos senescentes y en gliosis, fenotipos altamente relacionados con la aparición de enfermedades neurodegenerativas y procesos de deterioro cognitivo, es importante estudiar los mecanismos que subyacen al establecimiento de ambos fenotipos. Especialmente los mecanismos epigenéticos que son fundamentales para que se lleven a cabo los cambios fenotípicos celulares. Puesto que se tiene muy poca información al respecto, en el presente estudio se busca identificar cambios en algunas de las marcas epigenéticas asociadas a los cambios en el estado de la cromatina, en cultivos primarios de astrocitos de ratas inducidos a senescencia o gliosis mediante el tratamiento con palmitato, un ácido graso saturado presente en una dieta rica en grasas.

Se espera que los resultados obtenidos a partir de este estudio puedan proporcionar información valiosa para el diseño de nuevas estrategias terapéuticas que aborden el desarrollo de enfermedades neurodegenerativas asociadas con la dieta.

4. Pregunta de investigación

¿Cuál será la diferencia en la estructura de la cromatina en astrocitos primarios de corteza de rata inducidos a senescencia o a gliosis con palmitato?

5. Hipótesis

La organización de la cromatina en astrocitos primarios de corteza de rata senescentes tenderá a una estructura de eucromatina mientras que en astrocitos en gliosis hacia una de heterocromatina.

6. Objetivo general

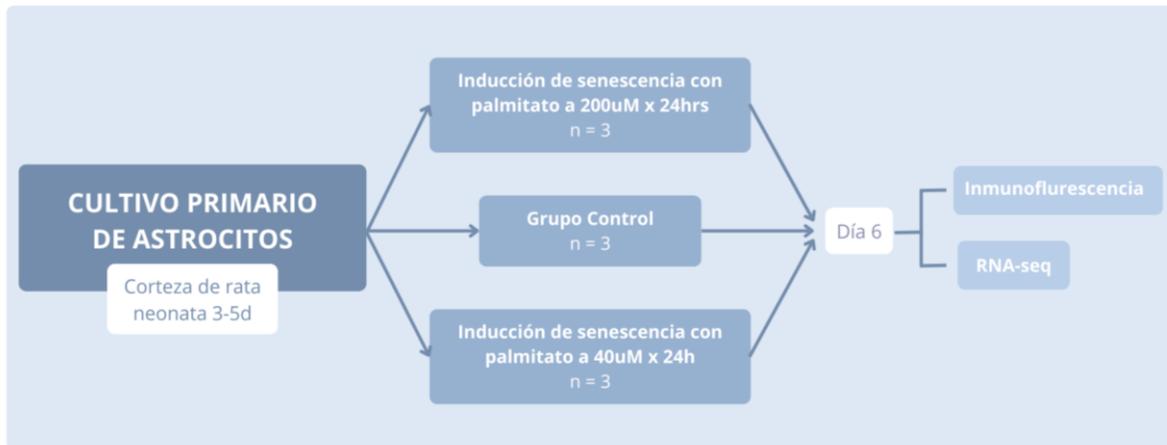
Identificar cambios en las marcas epigenéticas y epifactores (factores epigenéticos) asociados a modificaciones en el estado de la cromatina en cultivo primario de astrocitos de corteza de ratas inducidos a senescencia o gliosis con palmitato.

6.1 Objetivos particulares

- Determinar el estado de la marca epigenética H3K9me3 relacionada con la formación de focos de heterocromatina asociados a senescencia (SAHF) en cultivo primario de astrocitos de corteza cerebral de rata inducidos a senescencia o a gliosis con palmitato.
- Determinar el estado de la marca epigenética H3K9ac relacionada con la presencia de eucromatina en cultivo primario de astrocitos de corteza cerebral de rata inducidos a senescencia o a gliosis con palmitato.
- Evaluar cambios en el contenido y la expresión de las enzimas Suv39H1 y SIRT1, las cuales tienen un rol en el establecimiento y eliminación de las marcas epigenéticas H3K9me3 y H3K9ac respectivamente.

- Analizar la expresión génica de factores epigenéticos relacionados con cambios en el estado de la cromatina en un cultivo primario de astrocitos de corteza cerebral de rata inducidos a senescencia o a gliosis con palmitato

7. Diseño experimental



8. Análisis estadístico

Todos los experimentos se realizaron como mínimo 3 experimentos independientes por grupo realizados por triplicado. Los datos se informan como valores promedios \pm desviación estándar. Los datos de las mediciones de la intensidad relativa obtenidos mediante análisis de inmunofluorescencia, fueron analizados mediante una prueba de Kruskal-Wallis seguida de un análisis post hoc con test de Mann-Whitney U con corrección de Bonferroni. Los valores se presentan como media \pm SEM de tres experimentos independientes por triplicado (n=3), $p < 0.05$.

9. Materiales y métodos

9.1 Animales

Para este trabajo se emplearon ratas Wistar (*Rattus norvegicus*) neonatales de 3-7 días de edad, obtenidas de la colonia de cría de la Universidad Autónoma Metropolitana- Iztapalapa (UAM-I). Las ratas se alojaron en jaulas de policarbonato con acceso ad libitum a comida y agua, bajo un ciclo de luz/oscuridad de 12/12 h, a una temperatura de 19–21 °C y una humedad de 45–65%. Todos los procedimientos con animales se realizaron siguiendo la Norma Oficial Mexicana de Ética 062-ZOO-1999 y la Guía de Institutos Nacionales de Salud para el cuidado y uso de animales de laboratorio.

9.2 Reactivos

Todos los productos químicos y reactivos se adquirieron de Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO). Los reactivos obtenidos de otras fuentes se detallan a lo largo del texto. Los anticuerpos primarios empleados son: H3K9me3 (Abcam, ab8898), H3K9ac (Abcam, ab32129), Sirt1 (Abcam, ab189494), Suv39H1 (Abcam, ab309471).

9.3 Aislamiento de astrocitos

Se aislaron los astrocitos a partir de la corteza cerebral de ratas Wistar (*Rattus norvegicus*) neonatales de 3-7 días de edad. La corteza cerebral fue diseccionada libre de meninges adherentes y posteriormente disgregada físicamente con ayuda de un bisturí. Posteriormente se disoció el tejido en 5 mL de buffer de fosfatos (PBS) con Antibiótico-Antimicótico (Ab-Am) (Gibco 15240-062) al 2% en placas de Petri. Después, se agregó 1 mL de Tripsina EDTA al 0.5% (Gibco 15400-054) y se incubó

durante 10 minutos. Una vez transcurrido este tiempo, se neutralizó con 2 mL de Medio Esencial Mínimo (MEM) (Gibco 61100-087) suplementado con 10% de Suero Fetal Bovino (FBS) (Gibco 16000-044), 1% de Ab-Am, 1.1% de L-glutamina, 2.2 g de bicarbonato de sodio y 1.5% de glucosa a un pH de 7.4. Posteriormente, se centrifugó a 3,500 rpm durante 15 minutos, se retiró el sobrenadante y se resuspendió el botón en 5 mL de medio MEM. Finalmente, se sembró el filtrado obtenido con ayuda de un filtro de 0.22 μ m (Millex-GV SLGV004SL) en placas de Petri y se mantuvo a 37 °C en atmósfera humidificada con 5% de CO₂. Se realizaron los cambios de medio de manera pertinente.

9.4 Preparación del palmitato (PA)

La preparación de PA se realizó a través de la conjugación del ácido palmítico (5mM) con albúmina sérica bovina (BSA) 0.85 mM (Gibco 11530376) en una relación 6:1. El ácido palmítico se solubilizó previamente en dimetil sulfoxido (DMSO) al 1% y se estabilizó en un baño de agua caliente a una temperatura de 70°C. Una vez disuelto se adicionó el BSA y se llevó al volumen deseado con PBS estéril. El conjugado se filtró a través de un filtro de 0.22 μ m para retirar cualquier precipitado y se preparó para su uso inmediato.

9.5 Inducción de la senescencia celular

Para inducir senescencia celular en los astrocitos primarios, se añadió 1ml de la solución de PA-BSA previamente elaborada a las placas de cultivo junto con 4ml de medio MEM con el fin de obtener una concentración final de 200 μ M. Las placas se incubaron durante 24 h; una vez transcurrido este tiempo se cambió el medio. El

cultivo se mantuvo 5 días más y se usaron las células al sexto día después de la inducción como ya se estandarizó por López-Teros y col. (artículo en preparación).

9.6 Inducción de gliosis

Se añadieron 200µL de la solución de PA+BSA previamente elaborada a las placas de cultivo junto con 4.8mL de MEM para obtener una concentración final de 40 µM. Las placas se incubaron durante 24 h; una vez transcurrido este tiempo el medio fue cambiado. El cultivo se mantuvo 5 días más y se usaron las células al sexto día después de la inducción, como ya se estandarizó por López-Teros y col. (artículo en preparación).

9.7 Inmunofluorescencia

Al día 6 después de la inducción, los astrocitos se lavaron con PBS y se fijaron con paraformaldehído al 4% durante 15 minutos. Posteriormente se permeabilizaron con PBS+Triton (Invitrogen HFH10) (Triton X100 al 0.1% en PBS) durante 30 minutos a temperatura ambiente en agitación constante (25rpm). El PBS+Triton se retiró y se colocó la solución de bloqueo (Leche 0.2%, Albúmina 2% y Triton X100 al 0.2% en PBS) durante 90 minutos a temperatura ambiente en agitación leve. Se realizaron 3 lavados con PBS+Tritón y se incubaron las células durante 1h con el anticuerpo primario correspondiente con la dilución establecida previamente: H3K9me3 1:500, H3K9ac 1:500, Sirt1 1:100 7 Suv39H1 1:100. Las células se lavaron 2 veces con PBS+Tween al 0.2% y se incubaron con el anticuerpo secundario (ALEXA 488 dilución 1:200) durante 1h. Después de 3 lavados más, las células se incubaron con DAPI (10 mg/ml) durante 10 minutos. Las células se lavaron dos veces nuevamente

y se montaron con medio de montaje fluorescente (DakoCytomation, Glostrup, Dinamarca). Las imágenes de un solo plano se obtuvieron con un microscopio confocal LSM-META-Zeiss Axioplan 2 a 30 con Diodo Laser 405 nm para DAPI y Ar/ML 458/488/514 nm para ALEXA.

9.8 Secuenciación de ARN de alto rendimiento (RNA-seq)

Se realizó la extracción de RNA con el kit Zymobionics RNA Miniprep Kit. La construcción de las bibliotecas se realizó usando el protocolo de construcción de TruSeq stranded mRNA. La secuenciación se realizó en un equipo de secuenciación NextSeq 500 de la compañía Illumina, utilizando un NextSeq 500/550 High Output Kit v2.5 de 150 cycles para una secuencia de 2x75 ciclos. Se obtuvieron rendimientos muy por arriba de 10 millones de secuencias por muestra, con calidades de PRHED con superiores a Q32 en promedio a lo largo de todas las secuencias. No se evidenció la presencia de adaptador, por lo que no eliminamos secuencias por calidad o por presencia de Adaptador. Este procedimiento se realizó en colaboración con la Unidad de Secuenciación Masiva y Bioinformática del Instituto de Biotecnología de la UNAM.

9.9 Análisis Bioinformático

9.9.1 Alineación y Análisis de Expresión diferencial

El análisis bioinformático inició con el alineamiento pareado de las muestras vs el genoma de rata descargado de NCBI: GCF_000001895.5_Rnor_6.0_genomic.fna.gz, mismo que fue indexado con un k-mero de tamaño 20 y un step de 13 para el programa de alineamiento de secuencias cortas smalt-0.7.6, llevando a cabo el

alineamiento solicitando un porcentaje de semejanza de 80%. Se marcaron los duplicados ópticos usando MarkDuplicates VN:2.18.14-SNAPSHOT. Luego se realizó el cálculo de coberturas usando el programa coverageBed del paquete bedtools2-2.27.1. Estas coberturas se subieron al sitio <http://www.uusmb.unam.mx/ideamex/> para realizar el análisis de expresión diferencial, utilizando 4 métodos de análisis: NOISeq, DESeq2, EdgeR y limma. Se consideraron expresados diferencialmente sólo a aquellos genes con un pvalue < 0.05 y un LFC > 1.5 ;< -1.5

9.9.2 Análisis de Enriquecimiento Funcional (GO)

Para identificar los procesos biológicos en los que están implicados los genes diferencialmente expresados, se realizó un análisis de enriquecimiento funcional utilizando Gene Ontology (GO). Este análisis se realizó utilizando la biblioteca gseapy en Python, enfocándose en los procesos biológicos (GO Biological Processes) para evaluar la implicación funcional de los genes regulados al alza y a la baja. Los genes fueron previamente filtrados y ordenados según su log2FoldChange, seleccionando los 50 genes más regulados al alza y a la baja.

9.9.3 Análisis de Enriquecimiento en Vías Biológicas (KEGG)

Para investigar las vías biológicas en las que están implicados los genes diferencialmente expresados, se realizó un análisis de enriquecimiento utilizando la base de datos KEGG. El análisis se llevó a cabo utilizando la biblioteca gseapy en Python. Se filtraron y ordenaron los genes con mayor log2FoldChange y se analizaron las vías biológicas enriquecidas en estos genes.

9.9.4 Visualización de los Genes con Mayor Variabilidad (Heatmap)

Para identificar patrones de expresión génica en los genes con mayor variabilidad, se generó un heatmap de los 100 genes con mayor desviación estándar. Se utilizó Python con las bibliotecas pandas, numpy, seaborn y matplotlib para este propósito. Los datos de expresión génica fueron transformados logarítmicamente y luego escalados usando z-score antes de la visualización.

9.9.5 Análisis de Componentes Principales (PCA)

Para explorar la variabilidad global en los datos de expresión génica, se realizó un Análisis de Componentes Principales (PCA). Este análisis permite identificar patrones en los datos y observar cómo se agrupan las muestras en un espacio bidimensional. El análisis se llevó a cabo utilizando Python con las bibliotecas pandas, numpy, scikit-learn, y matplotlib.

9.9.6 Visualización de Genes Diferencialmente Expresados: Volcano Plots

Para identificar y visualizar los genes diferencialmente expresados entre las condiciones experimentales, se generaron Volcano Plots. Estos gráficos permiten observar la magnitud del cambio en la expresión génica en relación con la significancia estadística. Los datos fueron procesados en Python utilizando pandas, numpy, y matplotlib.

9.9.7 Catálogo de epifactores

Para la construcción del catálogo de epifactores, se consultó el repositorio Epifactors (Marakulina et al., 2022), seleccionando únicamente aquellos correspondientes a proteínas, histonas y protaminas. Dado que este repositorio incluye únicamente epifactores de origen humano y sus ortólogos en ratón, se utilizó la herramienta BioMart de Ensembl para identificar los genes ortólogos en rata correspondientes a las proteínas epifactores humanas. En el caso de las histonas y protaminas, se conservaron los genes ortólogos en ratón identificados.

9.9.8 Disponibilidad del Código

El código utilizado para realizar los análisis de enriquecimiento funcional, así como las visualizaciones correspondientes, está disponible en una carpeta de drive. El repositorio puede ser accedido a través del siguiente enlace:

https://drive.google.com/drive/folders/12mgN9k0sKHKxiMTmj3iOp-oZYi7ZhK0E?usp=drive_link

10. Resultados

La marca epigenética relacionada con activación transcripcional H3K9ac está aumentada en astrocitos primarios senescentes y en gliosis.

El análisis de inmunofluorescencia permitió observar un aumento en la marca epigenética H3K9ac en los astrocitos inducidos a gliosis y senescencia en comparación con los astrocitos control (Figura 1A). En particular, los astrocitos senescentes mostraron un incremento significativo en la expresión de H3K9ac en

comparación con los astrocitos en gliosis. Estos presentaron un porcentaje de intensidad relativa promedio de 9.13%, mientras que los astrocitos en gliosis mostraron uno de 4.9%. Es decir, en los astrocitos senescentes, la intensidad relativa de la marca H3K9ac aumentó al doble que en los astrocitos en gliosis y casi al triple que en los astrocitos control, los cuales presentaron una intensidad relativa promedio de 3.7% (Figura 1B).

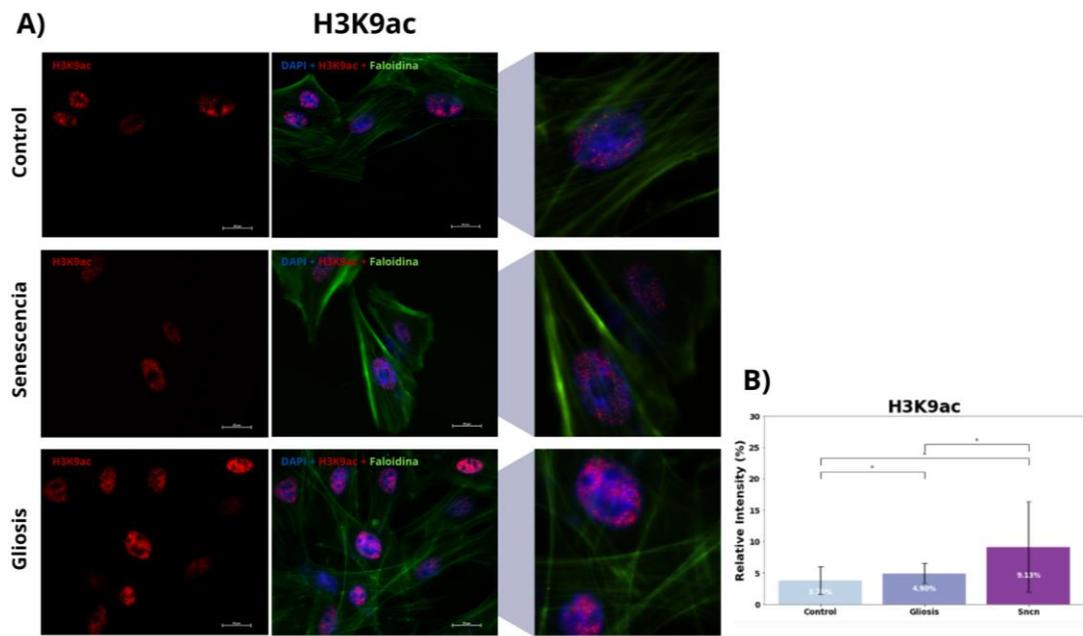


Figura 1. Abundancia de H3K9ac en astrocitos control e inducidos a senescencia y gliosis con palmitato.

A) Imagen representativa de inmunofluorescencia a 40X de H3K9ac (rojo), DAPI (azul) para la visualización del núcleo y Faloidina (verde) para destacar los filamentos de actina. Las filas muestran las condiciones experimentales: control, senescencia y gliosis.

B) Cuantificación de la intensidad relativa de fluorescencia de H3K9ac. Los datos fueron analizados mediante una prueba de Kruskal-Wallis seguida de un análisis post hoc con test de Mann-Whitney U con corrección de Bonferroni. Los valores se presentan como media \pm SEM de tres experimentos independientes por triplicado ($n=3$). Se evaluaron 16 campos por cada réplica, evaluando un total de 144 campos seleccionados de forma aleatoria para evitar sesgos. * $p < 0.05$ indica diferencias estadísticamente significativas en comparación con el control.

La enzima encargada de desacetilar a la lisina 9 de la histona 3, Sirt1, se encuentra aumentada en astrocitos senescentes y en gliosis.

El análisis por inmunofluorescencia de Sirt1 mostró que los astrocitos inducidos a gliosis y senescencia presentaron un aumento en su abundancia en comparación con los astrocitos control (Figura 2A). Los astrocitos senescentes presentaron una intensidad relativa de 9.51%, los astrocitos en gliosis una de 3.49% y los astrocitos control una de 3.09% (Figura 2B). Esto indicó un incremento significativo de Sirt1 en los astrocitos senescentes en comparación con los astrocitos control e incluso con los astrocitos en gliosis.

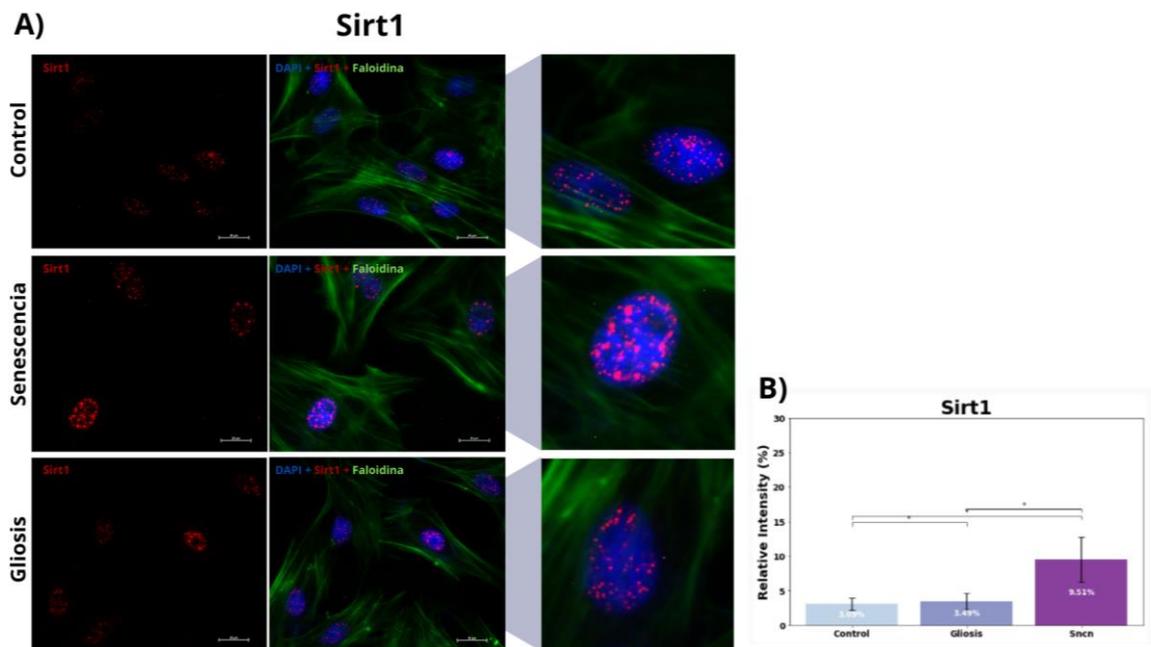


Figura 2. Abundancia de Sirt1 en astrocitos control e inducidos a senescencia y gliosis con palmitato.

A) Imagen representativa de inmunofluorescencia a 40X de Sirt1 (rojo), DAPI (azul) para la visualización del núcleo y Faloidina (verde) para destacar los filamentos de actina. Las filas muestran las condiciones experimentales: control, senescencia y gliosis.

B) Cuantificación de la intensidad relativa de fluorescencia de Sirt1. Los datos fueron analizados mediante una prueba de Kruskal-Wallis seguida de un análisis post hoc con test de Mann-Whitney U con corrección de Bonferroni. Los valores se presentan como media \pm SEM de tres experimentos independientes por triplicado (n=3). Se evaluaron 16 campos por cada réplica, evaluando un total de 144 campos seleccionados de forma aleatoria para evitar sesgos. * $p < 0.05$ indica diferencias estadísticamente significativas en comparación con el control.

La modificación postraducciona de histonas H3K9me3, asociada con la formación de heterocromatina constitutiva, está incrementada en astrocitos primarios senescentes y en condiciones de gliosis.

Por otro lado, el análisis de la marca de histonas H3K9me3 en astrocitos inducidos a gliosis y senescencia reveló un incremento en comparación con los astrocitos control (Figura 3A). Particularmente, los astrocitos senescentes mostraron una intensidad relativa de 17.3%, los astrocitos en gliosis de 5.59% y los astrocitos control de 3.37%, sugiriendo que los astrocitos senescentes presentaron un aumento de la cantidad proteica de H3K9me3 de más de tres veces en comparación con los astrocitos en gliosis y de más de cinco veces en comparación con los astrocitos control (Figura 3B). Este aumento fue considerablemente alto en comparación con el de las demás proteínas evaluadas, lo que sugiere un papel clave de esta modificación en la regulación de la cromatina de los astrocitos senescentes y en gliosis, especialmente durante la senescencia.

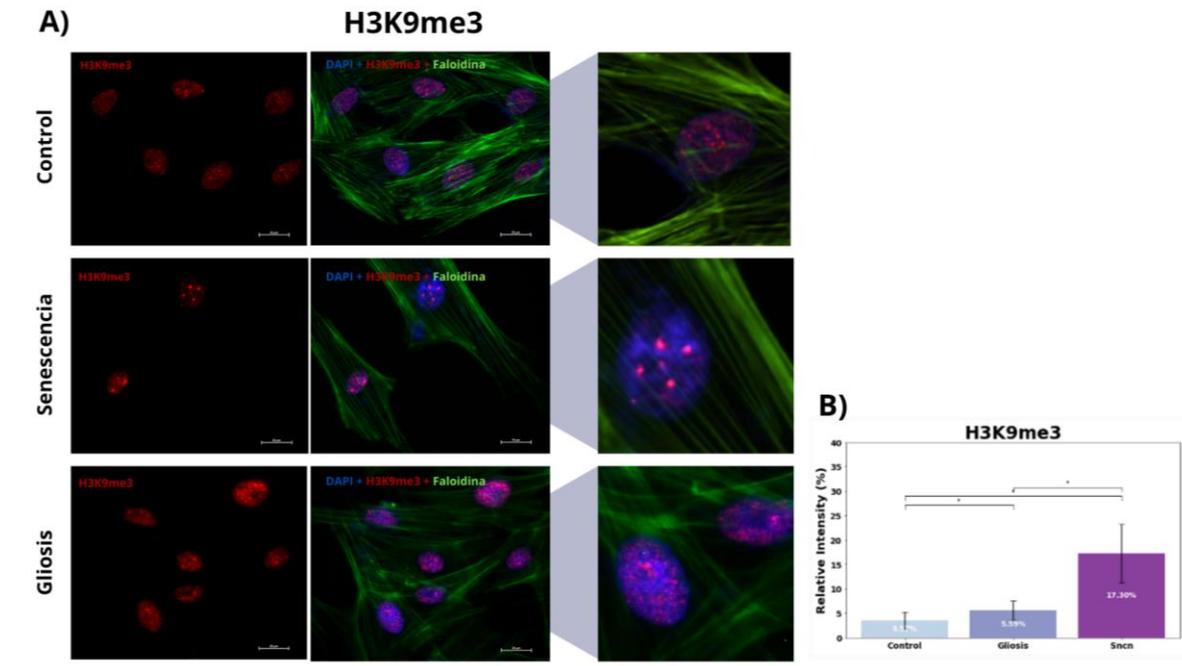


Figura 3. Abundancia de H3K9me3 en astrocitos control e inducidos a senescencia y gliosis con palmitato.

A) Imagen representativa de inmunofluorescencia a 40X de H3K9me3 (rojo), DAPI (azul) para la visualización del núcleo y Faloidina (verde) para destacar los filamentos de actina. Las filas muestran las condiciones experimentales: control, senescencia y gliosis.

B) Cuantificación de la intensidad relativa de fluorescencia de H3K9me3. Los datos fueron analizados mediante una prueba de Kruskal-Wallis seguida de un análisis post hoc con test de Mann-Whitney U con corrección de Bonferroni. Los valores se presentan como media \pm SEM de tres experimentos independientes por triplicado (n=3). Se evaluaron 16 campos por cada réplica, evaluando un total de 144 campos seleccionados de forma aleatoria para evitar sesgos. * $p < 0.05$ indica diferencias estadísticamente significativas en comparación con el control.

La metiltransferasa de histonas SUV39H1, responsable de establecer la marca H3K9me3, está incrementada en astrocitos primarios senescentes y en estados de gliosis.

Al realizar un análisis de la abundancia de la enzima SUV39H1 se observó un incremento en los astrocitos inducidos a gliosis y senescencia en comparación con los astrocitos control (Figura 4A). Los análisis cuantitativos mostraron que los

astrocitos senescentes muestran una intensidad relativa de 8.12%, los astrocitos en gliosis una de 3.61% y los astrocitos en control una de 2.59% (Figura 4B); Estos datos sugieren que durante el proceso de senescencia inducida con PA, la metilasa de histonas, SUV39H1, pudiera tener una participación importante.

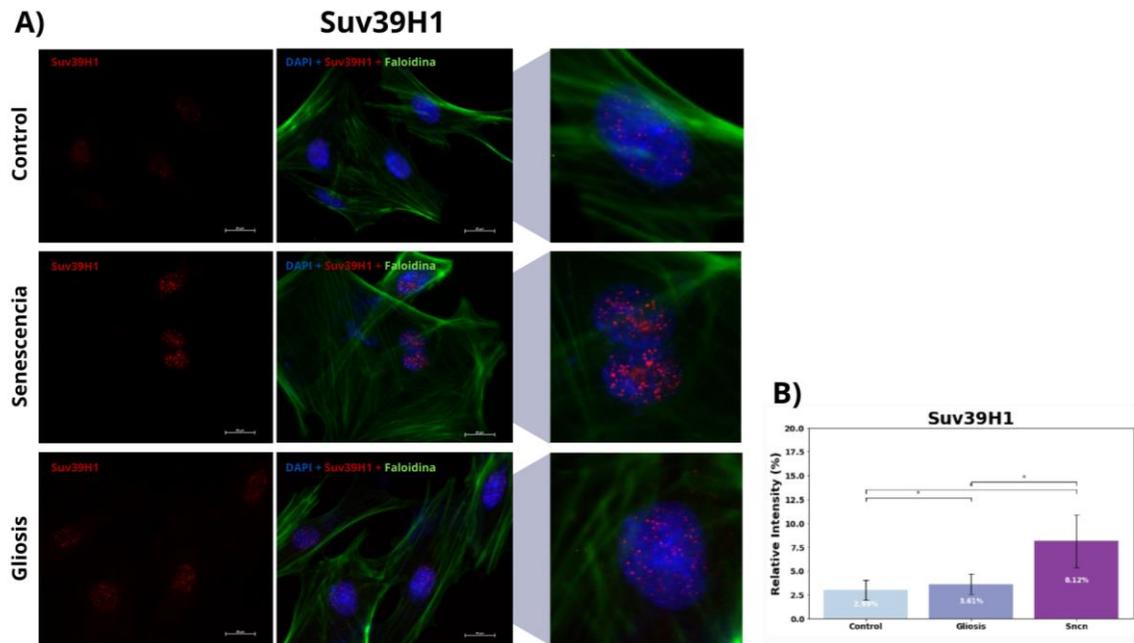


Figura 4. Abundancia de SUV39H1 en astrocitos control e inducidos a senescencia y gliosis con palmitato.

A) Imagen representativa de inmunofluorescencia a 40X de SUV39H1 (rojo), DAPI (azul) para la visualización del núcleo y Faloidina (verde) para destacar los filamentos de actina. Las filas muestran las condiciones experimentales: control, senescencia y gliosis.

B) Cuantificación de la intensidad relativa de fluorescencia de SUV39H1. Los datos fueron analizados mediante una prueba de Kruskal-Wallis seguida de un análisis post hoc con test de Mann-Whitney U con corrección de Bonferroni. Los valores se presentan como media \pm SEM de tres experimentos independientes por triplicado (n=3). Se evaluaron 16 campos por cada réplica, evaluando un total de 144 campos seleccionados de forma aleatoria para evitar sesgos. * $p < 0.05$ indica diferencias estadísticamente significativas en comparación con el control.

Los astrocitos senescentes y en gliosis inducidos con palmitato muestran perfiles de expresión característicos.

Con el fin de analizar los datos de expresión génica obtenidos mediante RNA-seq en astrocitos control, senescentes y en gliosis, se construyeron representaciones visuales como Heatmaps, Volcano Plots y Diagramas de Venn (Fig. 4). Cada condición mostró perfiles de expresión génica característicos (Fig. 4A, C y D). Particularmente, los astrocitos en gliosis presentaron un mayor número de genes expresados diferencialmente en comparación con el control (Fig. 4B).

Los astrocitos en gliosis poseyeron 4,393 DEG; de estos, 4,063 estuvieron sobreexpresados y 330 subexpresados. Por otro lado, los astrocitos senescentes expresaron 1,327 DEG, casi una tercera parte de los observados en gliosis; 1,235 estuvieron sobreexpresados y 92 subexpresados. Finalmente, 759 de estos genes expresados diferencialmente fueron comunes entre senescencia y gliosis (Fig. 4B).

Estos resultados mostraron la magnitud de los cambios en la expresión génica, especialmente durante la gliosis inducida por PA, sugiriendo una alteración significativa en los patrones de expresión.

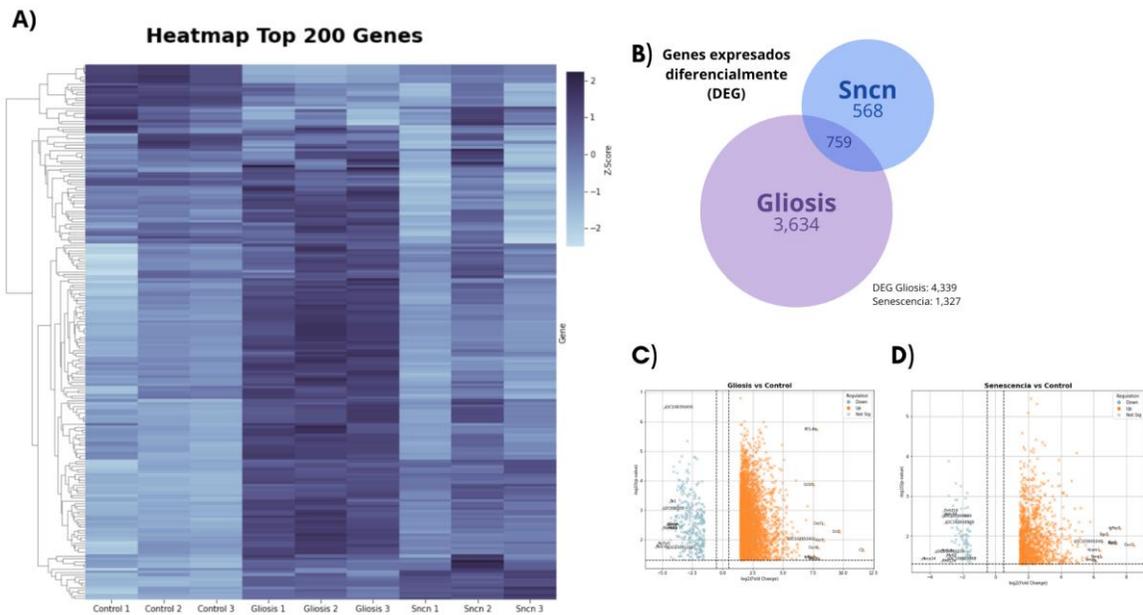


Figura 5. Identificación y visualización de los genes diferencialmente expresados entre las condiciones experimentales.

A) Heatmap de la expresión de los 200 genes más variables en astrocitos corticales bajo tres condiciones experimentales: Control, Gliosis, y Senescencia (Sncn). Cada columna representa una réplica biológica (n=3) para cada condición. Los valores de expresión génica fueron transformados en Z-scores para su normalización, con el color oscuro indicando una mayor expresión relativa y el color claro una menor expresión relativa. El dendrograma a la izquierda refleja el agrupamiento jerárquico de los genes basado en la similitud de sus patrones de expresión, utilizando la distancia euclidiana y el método de enlace promedio.

B) Diagrama de Venn que muestra los genes expresados diferencialmente (DEG) en astrocitos corticales bajo las condiciones de Gliosis y Senescencia (Sncn). El número total de genes expresados diferencialmente en la condición de Gliosis es de 4,393, de los cuales 3,634 son exclusivos de Gliosis. En la condición de Senescencia, hay un total de 1,327 genes expresados diferencialmente, de los cuales 568 son exclusivos de Senescencia. Un total de 759 genes expresados diferencialmente son compartidos entre ambas condiciones. Este análisis destaca las similitudes y diferencias en la respuesta génica bajo las condiciones experimentales de Gliosis y Senescencia.

C y D) Gráfico de volcán que muestra la expresión diferencial de genes en astrocitos corticales bajo la condición de gliosis comparada con el control (C) y senescencia comparada con el control (D). El eje x representa el log₂ del cambio en la expresión génica (Fold Change), mientras que el eje y muestra el valor negativo del log₁₀ del p-value. Los genes con una regulación significativa (p-value < 0.05) y un cambio de expresión absoluto (|log₂FoldChange| > 1.5) se destacan en color: los genes sobreexpresados en color naranja y los subexpresados en azul. Los genes no significativos están en gris. Los genes más significativamente regulados se etiquetan con sus nombres para facilitar la identificación.

Los genes expresados diferencialmente (DEG) en astrocitos senescentes y en gliosis están involucrados en procesos y vías biológicas específicas.

Con el objetivo de evaluar los procesos y las vías biológicas en las que estuvieron involucrados los genes expresados diferencialmente en los astrocitos senescentes y en gliosis, se realizaron análisis de enriquecimiento de vías (KEGG) y procesos biológicos (GO). Se encontró que los DEG en los astrocitos en gliosis estuvieron involucrados en la sobreexpresión de procesos y vías relacionadas con respuestas inflamatorias, y en la subexpresión de procesos y vías relacionadas con la organización de los microtúbulos, la organización del huso mitótico y aspectos relacionados con el proceso de mitosis (Fig 6A).

Por otro lado, los DEG en los astrocitos senescentes estuvieron involucrados en la sobreexpresión de procesos biológicos relacionados con la respuesta celular a citocinas y el desarrollo del sistema nervioso central, y en la subexpresión de aspectos relacionados con la contracción muscular. Además, las vías de señalización activadas por IL-17, quimiocinas y TNF α , así como la interacción citocina-receptor, fueron sobreexpresadas por los DEG en los astrocitos senescentes, mientras que las vías de señalización FoxO y JAK-STAT, y las involucradas en uniones estrechas, estuvieron subexpresadas.

Estos resultados sugirieron que los DEG en ambos fenotipos, senescencia y gliosis, mantuvieron sobreexpresadas vías y procesos relacionados con la inflamación, mientras que participaron en la subexpresión de vías y procesos diferentes.

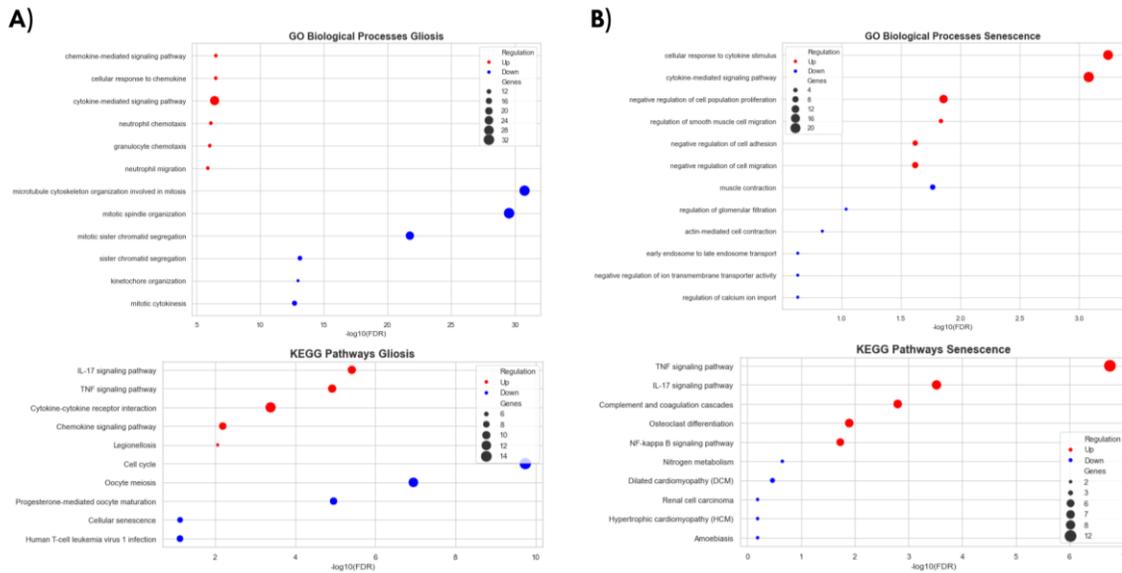


Fig 6. Análisis de enriquecimiento de términos de procesos biológicos (GO) y de enriquecimiento de vías biológicas (KEGG) para genes expresados diferencialmente en astrocitos corticales bajo la condición de gliosis (A) y senescencia (B).

Los términos de GO significativos se muestran en el eje y, mientras que el eje x representa el valor negativo del log10 del FDR (False Discovery Rate). Los puntos rojos indican procesos biológicos regulados al alza y los puntos azules indican procesos regulados a la baja. El tamaño de los puntos es proporcional al número de genes asociados a cada término de GO y KEGG.

La cantidad de epifactores expresados diferencialmente (DEE) en los astrocitos en gliosis es significativamente mayor que en los astrocitos senescentes.

Posteriormente, se seleccionaron los genes expresados diferencialmente correspondientes a epifactores (proteínas, histonas y protaminas) en astrocitos senescentes y en gliosis. El análisis reveló que, en los astrocitos senescentes, únicamente 4 epifactores estuvieron sobreexpresados. En contraste, en los astrocitos en gliosis, se expresaron diferencialmente 120 epifactores, de los cuales

101 estuvieron sobreexpresados y 19 subexpresados. Además, solo tres DEE fueron comunes entre los astrocitos senescentes y en gliosis (Fig. 7A).

Este análisis permitió determinar que la cantidad de epifactores expresados diferencialmente en astrocitos en gliosis fue, por mucho, mayor en comparación con los astrocitos senescentes.

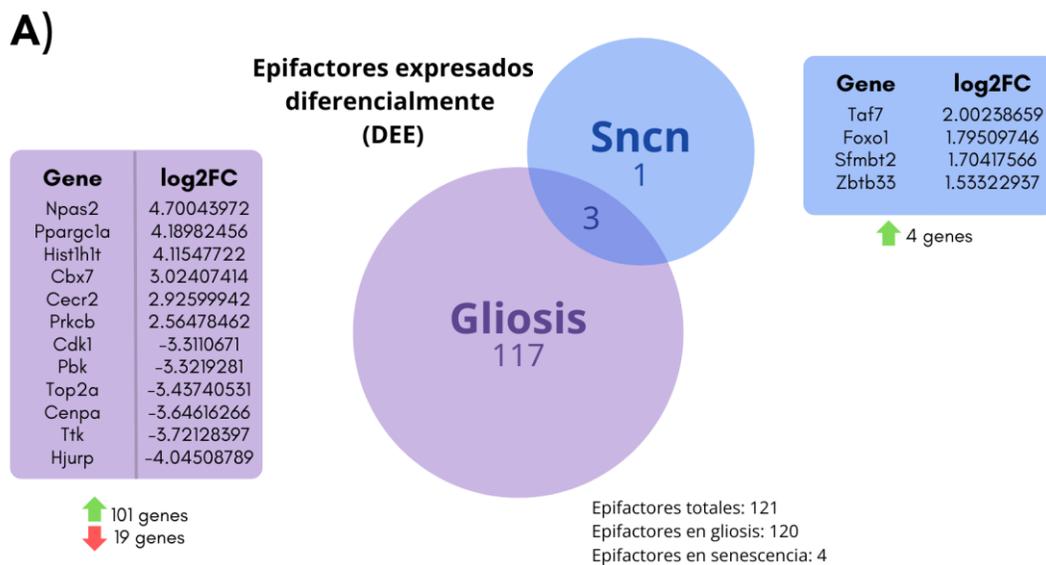


Fig 7. Diagrama de Venn que representa los epifactores expresados diferencialmente (DEE) en astrocitos corticales bajo las condiciones de Gliosis y Senescencia (Sncn).

Los epifactores expresados diferencialmente compartidos entre astrocitos en gliosis y senescencia están regulados al alza

Los 3 epifactores expresados diferencialmente que se compartieron entre astrocitos senescentes y en gliosis estuvieron sobreexpresados, pero con diferentes valores de Log2Fold Change (Fig. 8A). Este análisis destacó la limitada cantidad de epifactores

compartidos entre ambas condiciones y la probabilidad de que estén involucrados en el control de procesos y vías igualmente compartidas.

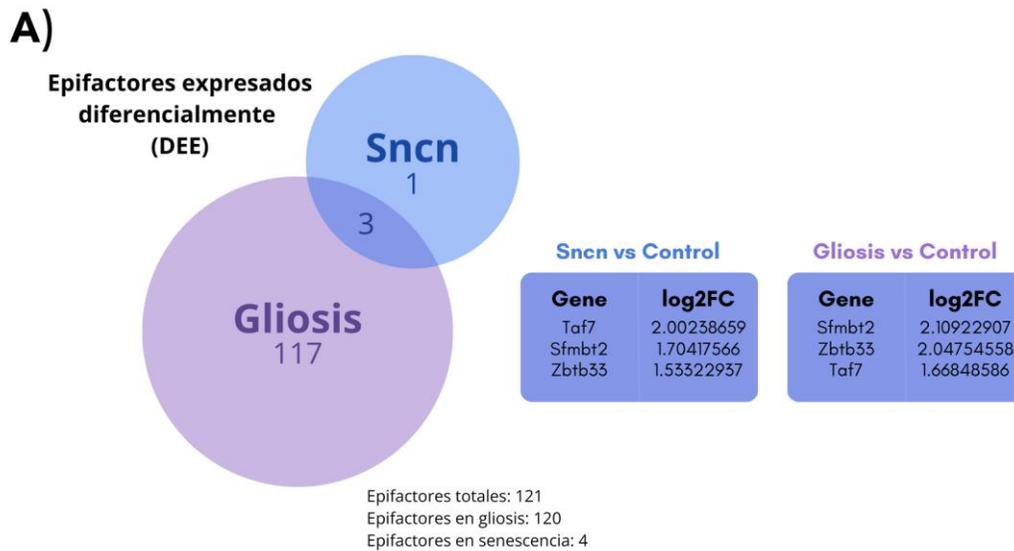


Figura 8. Diagrama de Venn que representa los epifactores expresados diferencialmente (DEE) que se comparten entre los astrocitos en gliosis y senescentes (sncn).

Los epifactores expresados diferencialmente (DEE) en astrocitos en gliosis inducidos con palmitato regulan procesos y vías biológicas variadas.

Para evaluar los procesos y vías biológicas en los que estuvieron involucrados los DEE en los astrocitos en gliosis, se realizaron análisis de enriquecimiento de vías (KEGG) y procesos biológicos (GO) (Fig. 9). Dentro de los procesos biológicos más representativos destacó la regulación de la transcripción a diferentes niveles, y los procesos metabólicos del ADN (organización espacial del núcleo), la organización del huso mitótico y de los microtúbulos (Fig. 9A), los cuales se encontraron

subexpresados. Las vías sobreexpresadas incluyeron términos como glioma y hepatitis B, mientras que las vías subexpresadas incluyeron términos como ciclo celular.

Estos resultados muestran que los DEE participan en la regulación de una variedad de procesos y vías, principalmente sobreexpresados.

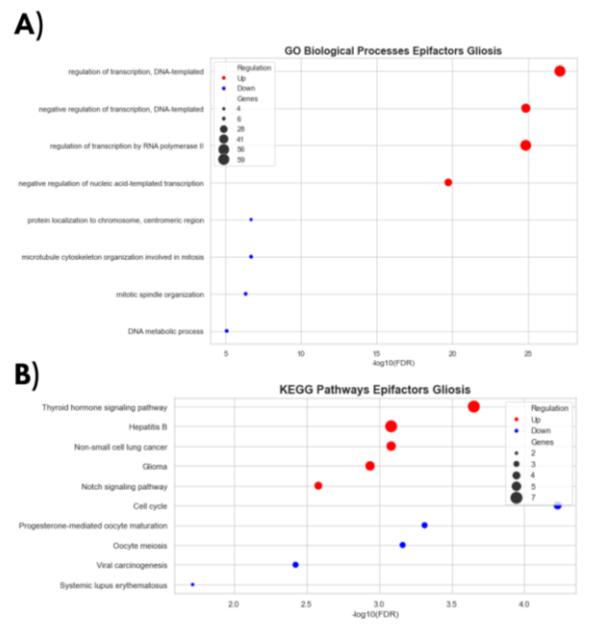


Figura 9. Análisis de enriquecimiento de términos de procesos biológicos (GO) y de enriquecimiento de vías biológicas (KEGG) para genes que codifican para epifactores expresados diferencialmente en astrocitos corticales bajo la condición de gliosis.

Los términos de GO y KEGG significativos se muestran en el eje y, mientras que el eje x representa el valor negativo del log10 del FDR (False Discovery Rate). Los puntos rojos indican procesos y vías regulados al alza y los puntos azules indican procesos y vías regulados a la baja. El tamaño de los puntos es proporcional al número de genes asociados a cada término.

Durante la gliosis inducida por palmitato se observa una expresión diferencial en diversos epifactores que regulan una gran variedad de procesos epigenéticos.

Durante la gliosis inducida por palmitato, se observó una expresión diferencial en diversos epifactores que regulan una gran variedad de procesos epigenéticos. Para identificar los epifactores expresados diferencialmente (DEE) y su participación en procesos epigenéticos en astrocitos en gliosis (Fig. 10) y senescentes (Fig. 11), se construyeron esquemas específicos para cada fenotipo, con anotaciones correspondientes a la función epigenética de cada DEE.

En los astrocitos en gliosis, se identificaron 120 DEE, de los cuales diez fueron histonas, doce actuaron como lectores de modificaciones postraduccionales, treinta establecieron estas modificaciones y quince funcionaron como cofactores de las enzimas responsables de dichas modificaciones. Otros veinte DEE se encargaron de "borrar" estas modificaciones epigenéticas o actuaron como cofactores de las enzimas involucradas en este proceso. Un grupo considerable de DEE estuvo involucrado en la remodelación de la cromatina, con un total de veinticuatro genes. Tres pertenecieron al grupo Polycomb (PcG) y cinco fueron clasificados como "otros," incluyendo funciones como "Histone chaperone" y "Histone modification cofactor".

En los astrocitos senescentes, se encontró que dos epifactores (Taf7 y Zbtb33) fueron cofactores de enzimas responsables de establecer modificaciones postraduccionales, y uno (Sfmbt2) actuó como lector de dichas modificaciones.

Además, Foxo1 se identificó como el único DEE exclusivo en los astrocitos senescentes, correspondiendo a un factor de transcripción (Fig. 11).

Estos esquemas resaltaron las diferencias en la composición y funciones de los epifactores expresados diferencialmente entre astrocitos en gliosis y senescentes. En los astrocitos en gliosis, la diversidad de epifactores, que incluyó histonas, lectores, cofactores, "borradores" de modificaciones epigenéticas y remodeladores de cromatina, sugirió una compleja red de regulación epigenética. En contraste, los astrocitos senescentes presentaron un perfil más limitado, con solo cuatro epifactores involucrados.

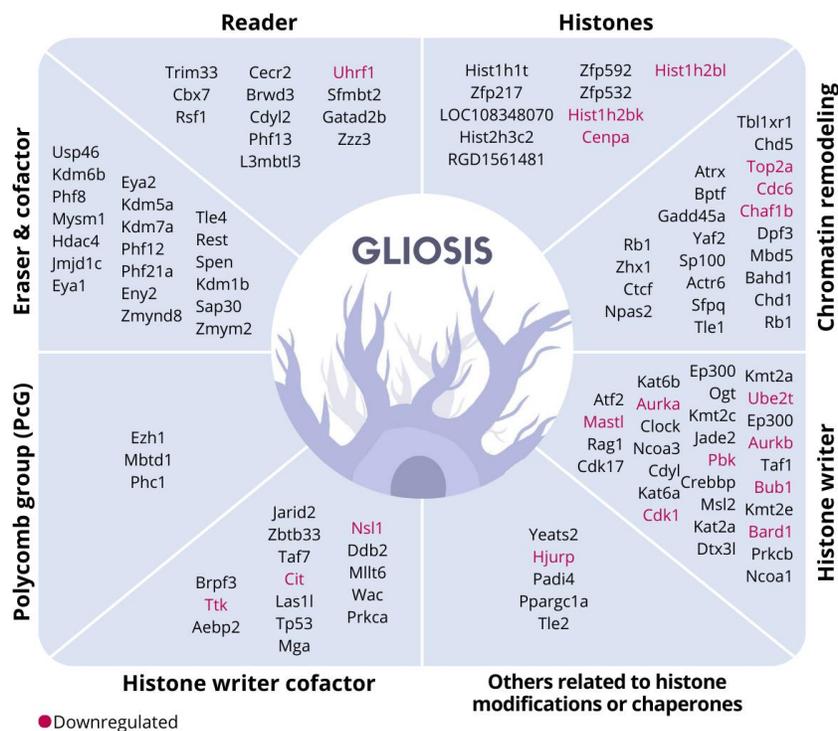


Figura 10. Clasificación de los epifactores diferencialmente expresados en astrocitos en gliosis inducidos con PA. Los epifactores se dividen en varias categorías funcionales, incluyendo "Eraser

& cofactor", "Polycomb group (PcG)", "Histone writer cofactor", "Chromatin remodeling", "Reader", "Histone writer", "Histones", y "Otros relacionados con modificaciones de histonas o chaperonas".

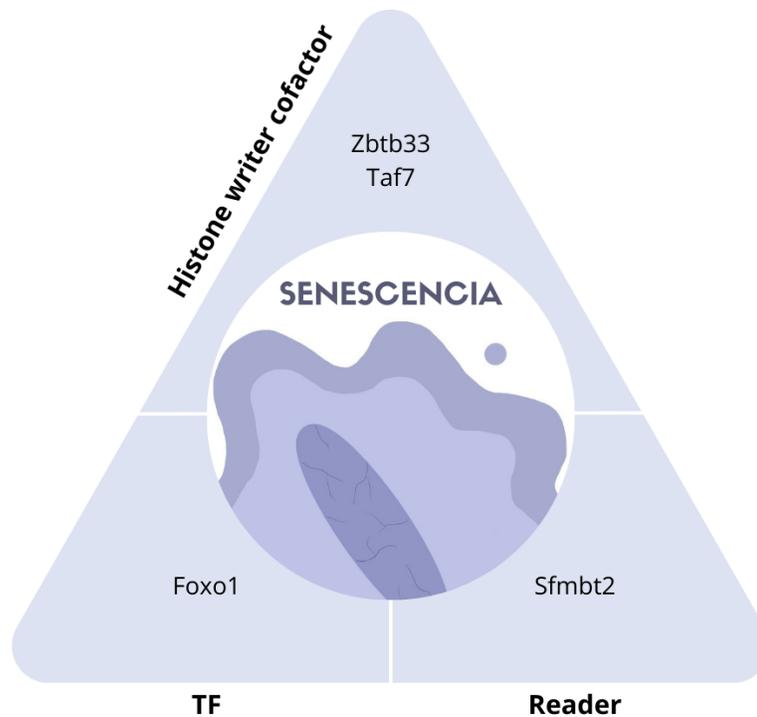


Figura 11. Clasificación de los epifactores diferencialmente expresados en astrocitos senescentes inducidos con PA. Los epifactores se dividen en varias categorías funcionales, incluyendo "Eraser & cofactor", "Polycomb group (PcG)", "Histone writer cofactor", "Chromatin remodeling", "Reader", "Histone writer", "Histones", y "Otros relacionados con modificaciones de histonas o chaperonas".

11. Discusión

El presente estudio aporta nuevas evidencias sobre las diferencias epigenéticas entre astrocitos senescentes y en gliosis, al menos en nuestro modelo de astrocitos corticales primarios de rata inducidos a senescencia o a gliosis mediante el tratamiento con PA. Estas nuevas evidencias pueden ayudar a comprender mejor

cómo responde este tipo celular a diferentes concentraciones de ácidos grasos saturados a nivel epigenético.

Se observó un incremento significativo en las marcas epigenéticas relacionadas tanto con la activación como con la represión transcripcional en ambos estados celulares, aunque con distintas intensidades. En particular, los astrocitos senescentes mostraron un aumento notable en la marca H3K9me3, así como en la intensidad relativa correspondiente a SUV39H1. Este aparente aumento en la cantidad proteica de SUV39H1 no se explica por un aumento en su expresión génica, de acuerdo a nuestros resultados de RNA-seq. Esto podría explicarse debido a que, como sugieren algunos autores (Cheung et al., 2021; Johnson et al., 2017), una mayor concentración de una proteína en regiones específicas dentro de la célula puede detectarse mediante inmunofluorescencia como un aumento en la señal, lo que podría dar la impresión de una mayor expresión cuando en realidad lo que está ocurriendo es un cambio en la localización celular. En el modelo de astrocitos en gliosis se observa que SUV39H1 se localiza de manera homogénea en todo el núcleo, sin embargo, durante la senescencia, SUV39H1 parece migrar hacia regiones centrales del núcleo y aglomerarse en zonas específicas al igual que la marca H3K9me3. Este comportamiento se relaciona con la formación de foci de heterocromatina durante la senescencia (Chandra, 2016), a los que SUV39H1 puede estar contribuyendo (Sidler et al., 2014).

Por otro lado, el aumento en la intensidad relativa de Sirt1 en los astrocitos senescentes y en gliosis coincide con el aumento en sus niveles de expresión en ambos fenotipos. Estos resultados podrían parecer ser contradictorios, ya que la

marca H3K9ac mostró también una intensidad relativa significativamente mayor en astrocitos en gliosis y principalmente, en los senescentes. Sin embargo, esta discrepancia podría explicarse por la sobreexpresión observada de las HATs KAT2A y PCAF en astrocitos en gliosis, lo que sugiere que la acetilación de H3K9 podría estar predominantemente influenciada por estas HATs en lugar de las HDACs (Jin et al., 2011 & Kouzarides, 2007) en el modelo de astrocitos en gliosis pero no así en el de astrocitos senescentes. Este hallazgo enfatiza la importancia de un equilibrio dinámico entre las enzimas que establecen y eliminan las marcas epigenéticas, lo cual puede variar según el estado fenotípico de los astrocitos.

Otra hipótesis que podría explicar el aumento de la marca H3K9ac a pesar del incremento de Sirt1, podría estar relacionada con las funciones metabólicas cerebrales y la función de Sirt1 frente a un contexto de estrés oxidante. El cerebro, que consume aproximadamente el 25% de la glucosa de la dieta (Harris et al., 2012), no depende únicamente de la glucosa como fuente de energía; los ácidos grasos libres también son cruciales para la producción de ATP (Schönfeld & Reiser, 2013). La oxidación de una molécula de ácido palmítico, por ejemplo, produce cerca de 106 moléculas de ATP, en contraste con las 30-32 moléculas generadas por la glucosa, dependiendo de las condiciones celulares (Nelson et al., 2017). Este elevado rendimiento energético aumenta el ratio de FADH₂/NADH, potenciando la actividad de la cadena de transporte de electrones y promoviendo la generación de especies reactivas de oxígeno (ERO) (Murphy, 2009).

Los astrocitos, en particular, parecen tener una mayor capacidad para producir ERO debido a una mayor proporción del complejo I libre en la cadena transportadora de

electrones, en comparación con las neuronas (Lopez-Fabuel et al., 2016). La sobrecarga de ácidos grasos saturados podría exacerbar esta generación de ERO en los astrocitos, induciendo un estado de estrés oxidativo cuando se supera la capacidad antioxidante celular (Lee et al., 2021). Ante este estado de estrés oxidante, Sirt1 puede regular el daño oxidativo a través de la activación de proteínas nucleares como Nrf1-2, HIF-1 α , FOXO, PGC-1 α y proteínas activadas durante la respuesta de daño al ADN como p53 (Fang et al., 2016). Ppargc1a, el gen que da lugar a la proteína PGC-1 α , es uno de los epifactores con mayor regulación al alza en nuestro modelo de astrocitos en gliosis. A través de su sobreexpresión se podría estar regulando transcripcionalmente genes involucrados en la oxidación de ácidos grasos y la fosforilación oxidativa, así como la expresión de enzimas que contrarrestan y previene el daño oxidativo ocasionado por las ERO en las células del cerebro (St-Pierre et al., 2006) con el fin de contrarrestar y disminuir el daño ocasionado por el PA (Nemoto et al., 2005) Por otro lado Foxo1, el gen que codifica para la proteína FOXO1 es un factor transcripcional que juega también un papel crucial en la respuesta al estrés oxidativo a través de regular diferentes procesos como la expresión de genes involucrados en la supervivencia celular, la reparación de ADN, la regulación del ciclo celular y la homeostasis del estado redox (J. Lu et al., 2021). La sobreexpresión de este factor transcripcional en los astrocitos senescentes puede estar relacionado con el establecimiento del arresto del ciclo celular a través de regular la expresión de Sirt1 (Brunet et al., 2004; Y. Yang et al., 2005) y del establecimiento de la senescencia a través del promover al aumento de p21 (Bae

et al., 2020; Diep et al., 2013), todo esto con el fin de no propagar el daño ocasionado por el alto contenido de PA dentro de la célula (W. Zhang et al., 2020).

Dentro de todos estos cambios en la expresión génica necesarios para llevar a cabo funciones específicas de cada fenotipo, la remodelación de la cromatina desempeña un papel crucial en las respuestas celulares a niveles elevados de ácidos grasos (Leung et al., 2016) Si bien los cambios observados en los niveles de las marcas H3K9ac y H3K9me3 brindan un panorama de lo que puede estar ocurriendo a nivel de organización de la cromatina, no son suficientes para tratar de comprender las diferencias en el estado de la cromatina entre astrocitos senescentes y en gliosis, así como sus implicaciones biológicas. Por ello, se realizó el análisis de la expresión génica de proteínas, incluyendo histonas y protaminas, consideradas epifactores en ambos modelos, encontrando que entre ambos fenotipos solo se comparten 3 epifactores regulados a la alza: TAF7 y ZBTB33 clasificadas con cofactores de enzimas encargadas de llevar a cabo modificaciones postraduccionales en las histonas, y SFBMT2, una proteína encargada de leer estas modificaciones. Mientras ZBTB33 y SFMBT2 se asocian con la represión de genes (Blattler et al., 2013; J. Zhang et al., 2013), TAF7 facilita el acceso de la maquinaria transcripcional al ADN al formar parte del complejo TFIID asociado con regiones promotoras del ADN (Kloet et al., 2012). A pesar de que estos epifactores se regulan al alza en ambos estados celulares, no se podría aseverar que están llevando a cabo procesos comunes, debido a la variedad de procesos en los que han sido involucrados (Bhattacharya et al., 2014; Choi et al., 2019; Lin et al., 2013; Pozner et al., 2016).

En comparación con los astrocitos senescentes, los astrocitos en gliosis expresan diferencialmente una gran cantidad de epifactores que están involucrados principalmente en la remodelación de la cromatina, el establecimiento y eliminación de modificaciones postraduccionales en las histonas. Esto podría sugerir la existencia de cambios altamente dinámicos en la estructura tridimensional de la cromatina durante la astrogliosis que pueden verse reflejados en su actividad génica y su estado funcional (Lieberman-Aiden et al., 2009). Tres de los epifactores más sobreexpresados en los astrocitos en gliosis son NPAS2, PGC1 α y CTCF, mientras que de los más subreexpresados destacan HJURP, CENP-A y TTK. NPAS2 es un factor transcripcional que regula el ritmo circadiano a través del reclutamiento de HATs y HDACs, alterando así las marcas epigenéticas y facilitando cambios dinámicos en la expresión génica circadiana. Además NPAS2 es capaz de detectar metabolitos clave, como el NAD⁺ asociándose con procesos metabólicos que le permiten regular la actividad de proteínas como las sirtuinas. Por lo tanto, NPAS2 es vital en el establecimiento del vínculo entre el metabolismo, reloj circadiano y la regulación epigenética (Becker-Krail et al., 2022; Huang et al., 2023).

CTCF es un regulador clave de la organización tridimensional del genoma ya que actúa como una proteína de andamiaje para la creación de los dominios topológicamente asociados (TADs) así como la formación de loops cromosómicos dentro de los cuales hay una regulación mucho más refinada de la expresión génica, y dependiendo de su ubicación en el genoma y las proteínas asociadas, CTCF puede tanto silenciar como activar genes (Del Moral-Morales et al., 2023). Algunos autores proponen a la pérdida de los niveles de CTCF durante la senescencia inducida por

oncogenes como la responsable de otros cambios transcripcionales durante la senescencia (Hirose et al., 2012), sin embargo, en el modelo de senescencia inducida por PA no se observan cambios significativos en la expresión de Ctcf.

HJURP y CENP-A son dos proteínas que juntas son clave en la formación y mantenimiento del centrómero, un componente esencial para la segregación cromosómica durante la división celular (Mahlke & Nechemia-Arbely, 2020). Una pérdida de CENP-A da lugar a la pérdida del centrómero y los cinetocoros, así como una segregación defectuosa de los cromosomas, aneuploidías e incluso muerte celular (Flores Servin et al., 2023). TTK también es una proteína esencial para la correcta segregación de los cromosomas durante la mitosis. A través de su actividad de cinasa fosforila sustratos esenciales para la formación y el mantenimiento del huso mitótico; esto asegura la correcta duplicación del centrosoma (Longo et al., 2023).

Como se mencionó anteriormente, los astrocitos en gliosis son capaces de adoptar un amplio espectro de cambios que son específicos del contexto en el que se esté desarrollando (Moulson et al., 2021; Sofroniew, 2020). La disminución de HJURP, CENPA y TTK podría reflejar una transición de los astrocitos en gliosis hacia un estado más especializado, en el que el enfoque celular cambia de la proliferación a la secreción de factores proinflamatorios y/o a asumir roles más especializados como células reparadoras o barreras físicas. El aumento de CTCF y NPAS2 podría estar contribuyendo, entonces, a la expresión de genes que promuevan y faciliten esta transición.

Si consideramos el establecimiento de la senescencia o la gliosis como una decisión sobre el destino celular que los astrocitos deben tomar en respuesta a algún estímulo, también debemos tener en cuenta que este destino celular se establece a través de cambios en el paisaje epigenético y la activación de programas transcripcionales específicos que involucran a una gran cantidad de epifactores y genes (Cariaga-Martínez et al., 2018; Pujadas & Feinberg, 2012). Parece ser que durante la gliosis inducida por PA en astrocitos primarios está sucediendo una regulación dinámica de este destino celular a través de la actividad de diversos epifactores que participan en diferentes procesos epigenéticos.

Durante la senescencia inducida por PA en astrocitos primarios parece ocurrir algo muy diferente. Se observa una pobre expresión de epifactores, pero grandes cambios tanto en la cantidad como en la organización de las marcas asociadas con cambios en el estado de la cromatina. Estos cambios pueden ocasionar una reorganización no controlada de la estructura tridimensional del genoma a diferentes escalas y, por lo tanto, una actividad transcripcional aberrante (X. Zhang et al., 2021).

En los últimos años han surgido nuevas teorías sobre las razones del envejecimiento, una de ellas está relacionada con la pérdida de la información epigenética debido a la acumulación de daño en el ADN (Y. R. Lu et al., 2023). Esta pérdida ocasiona a su vez, una pérdida en la identidad celular llamada “exdiferenciación celular”, debido a que la adquisición de una identidad celular requiere cambios coordinados en la expresión génica de una manera controlada espacial y temporalmente (Aboelnour & Bonev, 2021). Además esta pérdida de la información epigenética que da lugar a una pérdida en la identidad celular, se ha relacionado con el establecimiento de la

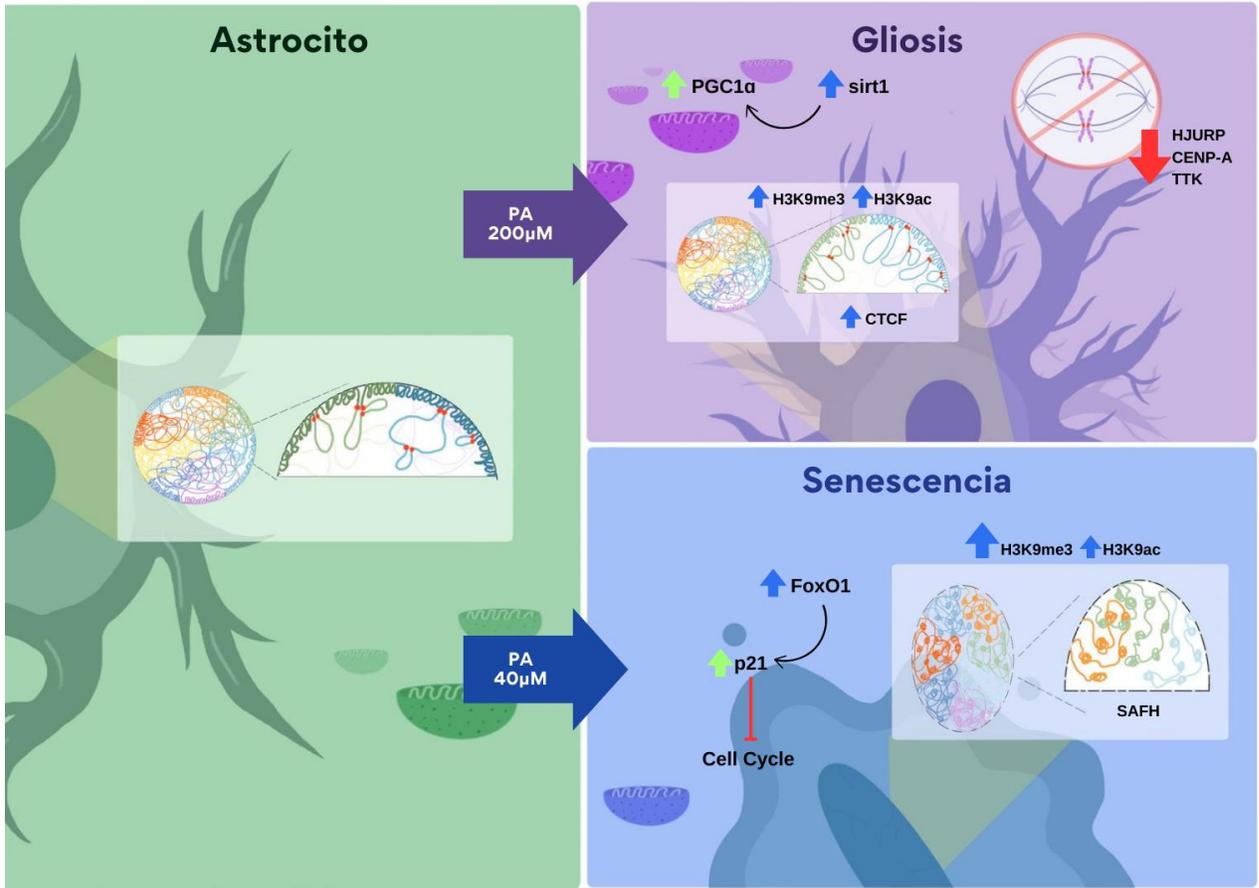
senescencia celular (Y. R. Lu et al., 2023; J.-H. Yang et al., 2023; Zhang et al., 2021), lo que refuerza el papel de la senescencia celular en el decaimiento funcional que ocurre durante el envejecimiento.

En el modelo experimental de senescencia inducida por PA, los astrocitos podrían estar llevando a cabo procesos de “exdiferenciación” como consecuencia de una pérdida en su paisaje epigenético. Esta propuesta y la realizada respecto a nuestro modelo de gliosis inducida por PA, considera los cambios en la expresión génica de los epifactores como determinantes, sin embargo, es importante tener en cuenta que la expresión diferencial no es determinante en cuanto de control epigenético se trata. Es necesario, entre otras cosas, evaluar la ubicación de algunos epifactores y marcas epigenéticas específicas para evaluar de manera certera qué regiones genómicas se encuentran reguladas por estos.

12. Conclusión

Los astrocitos senescentes presentan una reorganización más evidente en comparación con los astrocitos en gliosis, sin embargo, los astrocitos en gliosis muestran una regulación más dinámica de epifactores asociados con la remodelación de la cromatina y el metabolismo. Estas diferencias sugieren que el estado de la cromatina puede ser un determinante clave en la función y comportamiento de los astrocitos bajo condiciones fisiológicas y patológicas.

13. Resumen gráfico



14. Bibliografía

- Abouelnour, E., & Bonev, B. (2021). Decoding the organization, dynamics, and function of the 4D genome. *Developmental Cell*, 56(11), 1562-1573. <https://doi.org/10.1016/j.devcel.2021.04.023>
- Acosta-Rodríguez, V., Rijo-Ferreira, F., Izumo, M., Xu, P., Wight-Carter, M., Green, C. B., & Takahashi, J. S. (2022). Circadian alignment of early onset caloric restriction promotes longevity in male C57BL/6J mice. *Science (New York, N.Y.)*, 376(6598), 1192-1202. <https://doi.org/10.1126/science.abk0297>
- Adams, K. L., & Gallo, V. (2018). The diversity and disparity of the glial scar. *Nature Neuroscience*, 21(1), 9-15. <https://doi.org/10.1038/s41593-017-0033-9>
- Alarcón-Aguilar, A., Luna-López, A., Ventura-Gallegos, J. L., Lazzarini, R., Galván-Arzate, S., González-Puertos, V. Y., Morán, J., Santamaría, A., & Königsberg, M. (2014). Primary cultured astrocytes from old rats are capable to activate the Nrf2 response against MPP+ toxicity after tBHQ pretreatment. *Neurobiology of Aging*, 35(8), 1901-1912. <https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2014.01.143>
- Albert, M. S., DeKosky, S. T., Dickson, D., Dubois, B., Feldman, H. H., Fox, N. C., Gamst, A., Holtzman, D. M., Jagust, W. J., Petersen, R. C., Snyder, P. J., Carrillo, M. C., Thies, B., & Phelps, C. H. (2011). The diagnosis of mild cognitive impairment due to Alzheimer's disease: Recommendations from the National Institute on Aging-Alzheimer's Association workgroups on diagnostic guidelines for Alzheimer's disease. *Alzheimer's & Dementia*, 7(3), 270-279. <https://doi.org/10.1016/j.jalz.2011.03.008>
- Allis, C. D., & Jenuwein, T. (2016). The molecular hallmarks of epigenetic control. *Nature Reviews Genetics*, 17(8), 487-500. <https://doi.org/10.1038/nrg.2016.59>
- Armenta-Castro, E., Reyes-Vallejo, T., Máximo-Sánchez, D., Herrera-Camacho, I., López-López, G., Reyes-Carmona, S., Conde-Rodríguez, I., Ramírez-Díaz, I., Aguilar-Lemarroy, A., Jave-Suárez, L. F., Milflores-Flores, L., Santos-Lopez, G., Reyes-Leyva, J., & Vallejo-Ruiz, V. (2020). Histone H3K9 and H3K14 acetylation at the promoter of the LGALS9 gene is associated with mRNA levels in cervical cancer cells. *FEBS Open Bio*, 10(11), 2305-2315. <https://doi.org/10.1002/2211-5463.12973>
- Bae, J.-H., Jeong, H.-J., Kim, H., Leem, Y.-E., Ryu, D., Park, S. C., Lee, Y.-I., Cho, S. C., & Kang, J.-S. (2020). ZNF746/PARIS overexpression induces cellular senescence through FoxO1/p21 axis activation in myoblasts. *Cell Death & Disease*, 11(5), 359. <https://doi.org/10.1038/s41419-020-2552-7>
- Bannister, A. J., & Kouzarides, T. (2011). Regulation of chromatin by histone modifications. *Cell Research*, 21(3), 381-395. <https://doi.org/10.1038/cr.2011.22>
- Barnes-Vélez, J. A., Aksoy Yasar, F. B., & Hu, J. (2023). Myelin lipid metabolism and its role in myelination and myelin maintenance. *The Innovation*, 4(1), 100360. <https://doi.org/10.1016/j.xinn.2022.100360>
- Becker-Krail, D. D., Parekh, P. K., Ketchesin, K. D., Yamaguchi, S., Yoshino, J., Hildebrand, M. A., Dunham, B., Ganapathiraju, M. K., Logan, R. W., & McClung, C. A. (2022). Circadian transcription factor NPAS2 and the NAD⁺-dependent deacetylase SIRT1 interact in the mouse nucleus accumbens and regulate reward. *European Journal of Neuroscience*, 55(3), 675-693. <https://doi.org/10.1111/ejn.15596>
- Bélanger, M., Allaman, I., & Magistretti, P. J. (2011). Brain Energy Metabolism: Focus on Astrocyte-Neuron Metabolic Cooperation. *Cell Metabolism*, 14(6), 724-738. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2011.08.016>
- Bhattacharya, S., Lou, X., Hwang, P., Rajashankar, K. R., Wang, X., Gustafsson, J.-Å., Fletterick, R. J., Jacobson, R. H., & Webb, P. (2014). Structural and functional insight into TAF1-TAF7, a subcomplex of transcription factor II D. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 111(25), 9103-9108. <https://doi.org/10.1073/pnas.1408293111>
- Bird, A. (2007). Perceptions of epigenetics. *Nature*, 447(7143), 396-398. <https://doi.org/10.1038/nature05913>
- Blattler, A., Yao, L., Wang, Y., Ye, Z., Jin, V. X., & Farnham, P. J. (2013). ZBTB33 binds unmethylated regions of the genome associated with actively expressed genes. *Epigenetics & Chromatin*, 6(1), 13. <https://doi.org/10.1186/1756-8935-6-13>
- Brunet, A., Sweeney, L. B., Sturgill, J. F., Chua, K. F., Greer, P. L., Lin, Y., Tran, H., Ross, S. E., Mostoslavsky, R., Cohen, H. Y., Hu, L. S., Cheng, H.-L., Jedrychowski, M. P., Gygi, S. P., Sinclair, D. A., Alt, F. W., & Greenberg, M. E. (2004). Stress-Dependent Regulation of FOXO Transcription Factors by the SIRT1 Deacetylase. *Science*, 303(5666), 2011-2015. <https://doi.org/10.1126/science.1094637>
- Cariaga-Martínez, A. E., Gutiérrez, K. J., & Alelú-Paz, R. (2018). The Vast Complexity of the Epigenetic Landscape during Neurodevelopment: An Open Frame to Understanding Brain Function. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(5), 1333. <https://doi.org/10.3390/ijms19051333>
- Chandra, T., Kirschner, K., Thuret, J.-Y., Pope, B. D., Ryba, T., Newman, S., Ahmed, K., Samarajiwa, S. A., Salama, R., Carroll, T., Stark, R., Janky, R., Narita, M., Xue, L., Chicas, A., Núñez, S., Janknecht, R., Hayashi-Takanaka, Y., Wilson, M. D., ... Narita, M. (2012). Independence of Repressive Histone Marks and Chromatin Compaction during Senescent Heterochromatin Layer Formation. *Molecular Cell*, 47(2), 203-214. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2012.06.010>
- Chen, C., Zhou, M., Ge, Y., & Wang, X. (2020). SIRT1 and aging related signaling pathways. *Mechanisms of Ageing and Development*, 187, 111215. <https://doi.org/10.1016/j.mad.2020.111215>

- Cheung, A. M.-Y., Wang, D., Liu, K., Hope, T., Murray, M., Ginty, F., Nofech-Mozes, S., Martel, A. L., & Yaffe, M. J. (2021). Quantitative single-cell analysis of immunofluorescence protein multiplex images illustrates biomarker spatial heterogeneity within breast cancer subtypes. *Breast Cancer Research*, 23(1), 114. <https://doi.org/10.1186/s13058-021-01475-y>
- Chisholm, N. C., Henderson, M. L., Selvamani, A., Park, M. J., Dindot, S., Miranda, R. C., & Sohrabji, F. (2015). Histone methylation patterns in astrocytes are influenced by age following ischemia. *Epigenetics*, 10(2), 142-152. <https://doi.org/10.1080/15592294.2014.1001219>
- Choi, S.-H., Koh, D.-I., Cho, S.-Y., Kim, M.-K., Kim, K.-S., & Hur, M.-W. (2019). Temporal and differential regulation of KAISO-controlled transcription by phosphorylated and acetylated p53 highlights a crucial regulatory role of apoptosis. *The Journal of Biological Chemistry*, 294(35), 12957-12974. <https://doi.org/10.1074/jbc.RA119.008100>
- d'Adda Di Fagagna, F. (2008). Living on a break: Cellular senescence as a DNA-damage response. *Nature Reviews Cancer*, 8(7), 512-522. <https://doi.org/10.1038/nrc2440>
- Dalvi, P. S., Chalmers, J. A., Luo, V., Han, D.-Y., Wellhauser, L., Liu, Y., Tran, D. Q., Castel, J., Luquet, S., Wheeler, M. B., & Belsham, D. D. (2017). High fat induces acute and chronic inflammation in the hypothalamus: Effect of high-fat diet, palmitate and TNF- α on appetite-regulating NPY neurons. *International Journal of Obesity*, 41(1), 149-158. <https://doi.org/10.1038/ijo.2016.183>
- De Paula, G. C., Brunetta, H. S., Engel, D. F., Gaspar, J. M., Velloso, L. A., Engblom, D., De Oliveira, J., & De Bem, A. F. (2021). Hippocampal Function Is Impaired by a Short-Term High-Fat Diet in Mice: Increased Blood–Brain Barrier Permeability and Neuroinflammation as Triggering Events. *Frontiers in Neuroscience*, 15, 734158. <https://doi.org/10.3389/fnins.2021.734158>
- Del Moral-Morales, A., Salgado-Albarrán, M., Sánchez-Pérez, Y., Wenke, N. K., Baumbach, J., & Soto-Reyes, E. (2023). CTCF and Its Multi-Partner Network for Chromatin Regulation. *Cells*, 12(10), 1357. <https://doi.org/10.3390/cells12101357>
- Di Micco, R., Sulli, G., Dobрева, M., Lontos, M., Botrugno, O. A., Gargiulo, G., Dal Zuffo, R., Matti, V., d'Ario, G., Montani, E., Mercurio, C., Hahn, W. C., Gorgoulis, V., Minucci, S., & d'Adda Di Fagagna, F. (2011). Interplay between oncogene-induced DNA damage response and heterochromatin in senescence and cancer. *Nature Cell Biology*, 13(3), 292-302. <https://doi.org/10.1038/ncb2170>
- Diep, C., Charles, N., Blake Gilks, C., Kalloger, S., Argenta, P., & Lange, C. A. (2013). Progesterone receptors induce FOXO1-dependent senescence in ovarian cancer cells. *Cell Cycle*, 12(9), 1433-1449. <https://doi.org/10.4161/cc.24550>
- Dringen, R. (2000). Metabolism and functions of glutathione in brain. *Progress in Neurobiology*, 62(6), 649-671. [https://doi.org/10.1016/S0301-0082\(99\)00060-X](https://doi.org/10.1016/S0301-0082(99)00060-X)
- Dröge, W. (2002). Free Radicals in the Physiological Control of Cell Function. *Physiological Reviews*, 82(1), 47-95. <https://doi.org/10.1152/physrev.00018.2001>
- Escartin, C., Galea, E., Lakatos, A., O'Callaghan, J. P., Petzold, G. C., Serrano-Pozo, A., Steinhäuser, C., Volterra, A., Carmignoto, G., Agarwal, A., Allen, N. J., Araque, A., Barbeito, L., Barzilai, A., Bergles, D. E., Bonvento, G., Butt, A. M., Chen, W.-T., Cohen-Salmon, M., ... Verkhratsky, A. (2021). Reactive astrocyte nomenclature, definitions, and future directions. *Nature Neuroscience*, 24(3), 312-325. <https://doi.org/10.1038/s41593-020-00783-4>
- Fang, E. F., Scheibye-Knudsen, M., Brace, L. E., Kassahun, H., SenGupta, T., Nilsen, H., Mitchell, J. R., Croteau, D. L., & Bohr, V. A. (2014). Defective Mitophagy in XPA via PARP1 Hyperactivation and NAD⁺/SIRT1 Reduction. *Cell*, 157(4), 882-896. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2014.03.026>
- Fang, E. F., Scheibye-Knudsen, M., Chua, K. F., Mattson, M. P., Croteau, D. L., & Bohr, V. A. (2016). *Nuclear DNA damage signalling to mitochondria in ageing*. <https://doi.org/10.1038/nrm.2016.14>
- Fang, J., Chen, W., Hou, P., Liu, Z., Zuo, M., Liu, S., Feng, C., Han, Y., Li, P., Shi, Y., & Shao, C. (2023). NAD⁺ metabolism-based immunoregulation and therapeutic potential. *Cell & Bioscience*, 13(1), 81. <https://doi.org/10.1186/s13578-023-01031-5>
- Faulkner, J. R., Herrmann, J. E., Woo, M. J., Tansey, K. E., Doan, N. B., & Sofroniew, M. V. (2004). Reactive Astrocytes Protect Tissue and Preserve Function after Spinal Cord Injury. *The Journal of Neuroscience*, 24(9), 2143-2155. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3547-03.2004>
- Feige, J. N., Lagouge, M., Canto, C., Strehle, A., Houten, S. M., Milne, J. C., Lambert, P. D., Matakis, C., Elliott, P. J., & Auwerx, J. (2008). Specific SIRT1 Activation Mimics Low Energy Levels and Protects against Diet-Induced Metabolic Disorders by Enhancing Fat Oxidation. *Cell Metabolism*, 8(5), 347-358. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2008.08.017>
- Ferrer, I. (2017). Diversity of astroglial responses across human neurodegenerative disorders and brain aging. *Brain Pathology*, 27(5), 645-674. <https://doi.org/10.1111/bpa.12538>
- Flores Servin, J. C., Brown, R. R., & Straight, A. F. (2023). Repression of CENP-A assembly in metaphase requires HJURP phosphorylation and inhibition by M18BP1. *Journal of Cell Biology*, 222(6), e202110124. <https://doi.org/10.1083/jcb.202110124>
- Fortuny, A., Chansard, A., Caron, P., Chevallier, O., Leroy, O., Renaud, O., & Polo, S. E. (2021). Imaging the response to DNA damage in heterochromatin domains reveals core principles of heterochromatin maintenance. *Nature Communications*, 12(1), 2428. <https://doi.org/10.1038/s41467-021-22575-5>
- French, B. T., & Straight, A. F. (2013). Swapping CENP-A at the centromere. *Nature Cell Biology*, 15(9), 1028-1030. <https://doi.org/10.1038/ncb2833>

- Freund, A., Laberge, R.-M., Demaria, M., & Campisi, J. (2012). Lamin B1 loss is a senescence-associated biomarker. *Molecular Biology of the Cell*, 23(11), 2066-2075. <https://doi.org/10.1091/mbc.e11-10-0884>
- Fry, J. L., Al Sayah, L., Weisbrod, R. M., Van Roy, I., Weng, X., Cohen, R. A., Bachschmid, M. M., & Seta, F. (2016). Vascular Smooth Muscle Sirtuin-1 Protects Against Diet-Induced Aortic Stiffness. *Hypertension*, 68(3), 775-784. <https://doi.org/10.1161/HYPERTENSIONAHA.116.07622>
- Fudenberg, G., Imakaev, M., Lu, C., Goloborodko, A., Abdennur, N., & Mirny, L. A. (2016). Formation of Chromosomal Domains by Loop Extrusion. *Cell Reports*, 15(9), 2038-2049. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2016.04.085>
- Fuggle, N. R., Laskou, F., Harvey, N. C., & Dennison, E. M. (2022). A review of epigenetics and its association with ageing of muscle and bone. *Maturitas*, 165, 12-17. <https://doi.org/10.1016/j.maturitas.2022.06.014>
- Futscher, B. W. (2013). Epigenetic Changes During Cell Transformation. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 754, 179. https://doi.org/10.1007/978-1-4419-9967-2_9
- García-Matas, S., Gutierrez-Cuesta, J., Coto-Montes, A., Rubio-Acero, R., Díez-Vives, C., Camins, A., Pallàs, M., Sanfeliu, C., & Cristófol, R. (2008). Dysfunction of astrocytes in senescence-accelerated mice SAMP8 reduces their neuroprotective capacity. *Aging Cell*, 7(5), 630-640. <https://doi.org/10.1111/j.1474-9726.2008.00410.x>
- Gorgoulis, V., Adams, P. D., Alimonti, A., Bennett, D. C., Bischof, O., Bishop, C., Campisi, J., Collado, M., Evangelou, K., Ferbeyre, G., Gil, J., Hara, E., Krizhanovsky, V., Jurk, D., Maier, A. B., Narita, M., Niedernhofer, L., Passos, J. F., Robbins, P. D., ... Demaria, M. (2019). Cellular Senescence: Defining a Path Forward. *Cell*, 179(4), 813-827. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2019.10.005>
- Gupta, S., Knight, A. G., Gupta, S., Keller, J. N., & Bruce-Keller, A. J. (2012). Saturated long-chain fatty acids activate inflammatory signaling in astrocytes. *Journal of Neurochemistry*, 120(6), 1060-1071. <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2012.07660.x>
- Halassa, M. M., Fellin, T., Takano, H., Dong, J.-H., & Haydon, P. G. (2007). Synaptic Islands Defined by the Territory of a Single Astrocyte. *Journal of Neuroscience*, 27(24), 6473-6477. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1419-07.2007>
- Harris, J. J., Jolivet, R., & Attwell, D. (2012). Synaptic Energy Use and Supply. *Neuron*, 75(5), 762-777. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2012.08.019>
- Hayakawa, T., Iwai, M., Aoki, S., Takimoto, K., Maruyama, M., Maruyama, W., & Motoyama, N. (2015). SIRT1 Suppresses the Senescence-Associated Secretory Phenotype through Epigenetic Gene Regulation. *PLoS ONE*, 10(1), e0116480. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0116480>
- Herranz, N., & Gil, J. (2018). Mechanisms and functions of cellular senescence. *Journal of Clinical Investigation*, 128(4), 1238-1246. <https://doi.org/10.1172/JCI95148>
- Hirosue, A., Ishihara, K., Tokunaga, K., Watanabe, T., Saitoh, N., Nakamoto, M., Chandra, T., Narita, M., Shinohara, M., & Nakao, M. (2012). Quantitative assessment of higher-order chromatin structure of the *INK4/ARF* locus in human senescent cells. *Aging Cell*, 11(3), 553-556. <https://doi.org/10.1111/j.1474-9726.2012.00809.x>
- Hodawadekar, S. C., & Marmorstein, R. (2007). Chemistry of acetyl transfer by histone modifying enzymes: Structure, mechanism and implications for effector design. *Oncogene*, 26(37), 5528-5540. <https://doi.org/10.1038/sj.onc.1210619>
- Hou, Y., Dan, X., Babbar, M., Wei, Y., Hasselbalch, S. G., Croteau, D. L., & Bohr, V. A. (2019). Ageing as a risk factor for neurodegenerative disease. *Nature Reviews Neurology*, 15(10), 565-581. <https://doi.org/10.1038/s41582-019-0244-7>
- Huang, H.-T., Tsai, S.-F., Wu, H.-T., Huang, H.-Y., Hsieh, H.-H., Kuo, Y.-M., Chen, P.-S., Yang, C.-S., & Tzeng, S.-F. (2019). Chronic exposure to high fat diet triggers myelin disruption and interleukin-33 upregulation in hypothalamus. *BMC Neuroscience*, 20, 33. <https://doi.org/10.1186/s12868-019-0516-6>
- Huang, Y., Xiao, L., Daba, M. Y., Xu, D., Wang, Y., Li, L., Li, Q., Liu, B., Qin, W., Zhang, H., & Yuan, X. (2023). Characterization of molecular subtypes based on chromatin regulators and identification of the role of NPAS2 in lung adenocarcinoma. *Clinical Epigenetics*, 15(1), 72. <https://doi.org/10.1186/s13148-023-01486-w>
- Iside, C., Scafuro, M., Nebbioso, A., & Altucci, L. (2020). SIRT1 Activation by Natural Phytochemicals: An Overview. *Frontiers in Pharmacology*, 11, 1225. <https://doi.org/10.3389/fphar.2020.01225>
- Ivakhnitskaia, E., Lin, R. W., Hamada, K., & Chang, C. (2018). Timing of neuronal plasticity in development and aging. *WIREs Developmental Biology*, 7(2), e305. <https://doi.org/10.1002/wdev.305>
- Ivanov, A., Pawlikowski, J., Manoharan, I., Van Tuyn, J., Nelson, D. M., Rai, T. S., Shah, P. P., Hewitt, G., Korolchuk, V. I., Passos, J. F., Wu, H., Berger, S. L., & Adams, P. D. (2013). Lysosome-mediated processing of chromatin in senescence. *Journal of Cell Biology*, 202(1), 129-143. <https://doi.org/10.1083/jcb.201212110>
- Jeong, B., Park, J. W., Kim, J. G., & Lee, B. J. (2019). FOXO1 functions in the regulation of nicotinamide phosphoribosyltransferase (Nampt) expression. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 511(2), 398-403. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2019.02.069>
- Jin, Q., Yu, L.-R., Wang, L., Zhang, Z., Kasper, L. H., Lee, J.-E., Wang, C., Brindle, P. K., Dent, S. Y. R., & Ge, K. (2011). Distinct roles of GCN5/PCAF-mediated H3K9ac and CBP/p300-mediated H3K18/27ac in nuclear receptor transactivation. *The EMBO Journal*, 30(2), 249. <https://doi.org/10.1038/emboj.2010.318>

- Jin, S., Kim, K. K., Park, B. S., Kim, D. H., Jeong, B., Kang, D., Lee, T. H., Park, J. W., Kim, J. G., & Lee, B. J. (2020). Function of astrocyte MyD88 in high-fat-diet-induced hypothalamic inflammation. *Journal of Neuroinflammation*, *17*, 195. <https://doi.org/10.1186/s12974-020-01846-w>
- Johnson, W. L., Yewdell, W. T., Bell, J. C., McNulty, S. M., Duda, Z., O'Neill, R. J., Sullivan, B. A., & Straight, A. F. (2017). RNA-dependent stabilization of SUV39H1 at constitutive heterochromatin. *eLife*, *6*, e25299. <https://doi.org/10.7554/eLife.25299>
- Joosten, S. C., Smits, K. M., Aarts, M. J., Melotte, V., Koch, A., Tjan-Heijnen, V. C., & Van Engeland, M. (2018). Epigenetics in renal cell cancer: Mechanisms and clinical applications. *Nature Reviews Urology*, *15*(7), 430-451. <https://doi.org/10.1038/s41585-018-0023-z>
- Kalinin, S., Polak, P. E., Lin, S. X., Braun, D., Guizzetti, M., Zhang, X., Rubinstein, I., & Feinstein, D. L. (2013). Dimethyl fumarate regulates histone deacetylase expression in astrocytes. *Journal of Neuroimmunology*, *263*(1-2), 13-19. <https://doi.org/10.1016/j.jneuroim.2013.07.007>
- Klemm, S. L., Shipony, Z., & Greenleaf, W. J. (2019). Chromatin accessibility and the regulatory epigenome. *Nature Reviews Genetics*, *20*(4), 207-220. <https://doi.org/10.1038/s41576-018-0089-8>
- Kloet, S. L., Whiting, J. L., Gafken, P., Ranish, J., & Wang, E. H. (2012). Phosphorylation-Dependent Regulation of Cyclin D1 and Cyclin A Gene Transcription by TFIID Subunits TAF1 and TAF7. *Molecular and Cellular Biology*, *32*(16), 3358-3369. <https://doi.org/10.1128/MCB.00416-12>
- Kosar, M., Bartkova, J., Hubackova, S., Hodny, Z., Lukas, J., & Bartek, J. (2011). Senescence-associated heterochromatin foci are dispensable for cellular senescence, occur in a cell type- and insult-dependent manner and follow expression of p16^{ink4a}. *Cell Cycle*, *10*(3), 457-468. <https://doi.org/10.4161/cc.10.3.14707>
- Kouzarides, T. (2007). Chromatin Modifications and Their Function. *Cell*, *128*(4), 693-705. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2007.02.005>
- Kumar, S., Gonzalez, E. A., Rameshwar, P., & Etchegaray, J.-P. (2020). Non-Coding RNAs as Mediators of Epigenetic Changes in Malignancies. *Cancers*, *12*(12), 3657. <https://doi.org/10.3390/cancers12123657>
- Kurz, D. J., Decary, S., Hong, Y., & Erusalimsky, J. D. (2000). Senescence-associated β -galactosidase reflects an increase in lysosomal mass during replicative ageing of human endothelial cells. *Journal of Cell Science*, *113*(20), 3613-3622. <https://doi.org/10.1242/jcs.113.20.3613>
- Lan, F., & Shi, Y. (2009). Epigenetic regulation: Methylation of histone and non-histone proteins. *Science in China Series C: Life Sciences*, *52*(4), Article 4. <https://doi.org/10.1007/s11427-009-0054-z>
- Lazic, A., Balint, V., Stanisavljevic Ninkovic, D., Peric, M., & Stevanovic, M. (2022). Reactive and Senescent Astroglial Phenotypes as Hallmarks of Brain Pathologies. *International Journal of Molecular Sciences*, *23*(9), 4995. <https://doi.org/10.3390/ijms23094995>
- Lee, K. H., Cha, M., & Lee, B. H. (2021). Crosstalk between Neuron and Glial Cells in Oxidative Injury and Neuroprotection. *International Journal of Molecular Sciences*, *22*(24), 13315. <https://doi.org/10.3390/ijms222413315>
- Leung, A., Trac, C., Du, J., Natarajan, R., & Schones, D. E. (2016). Persistent Chromatin Modifications Induced by High Fat Diet*. *Journal of Biological Chemistry*, *291*(20), 10446-10455. <https://doi.org/10.1074/jbc.M115.711028>
- Lieberman-Aiden, E., Van Berkum, N. L., Williams, L., Imakaev, M., Ragoczy, T., Telling, A., Amit, I., Lajoie, B. R., Sabo, P. J., Dorschner, M. O., Sandstrom, R., Bernstein, B., Bender, M. A., Groudine, M., Gnirke, A., Stamatoyannopoulos, J., Mirny, L. A., Lander, E. S., & Dekker, J. (2009). Comprehensive Mapping of Long-Range Interactions Reveals Folding Principles of the Human Genome. *Science*, *326*(5950), 289-293. <https://doi.org/10.1126/science.1181369>
- Lieu, C. V., Loganathan, N., & Belsham, D. D. (2021). Mechanisms Driving Palmitate-Mediated Neuronal Dysregulation in the Hypothalamus. *Cells*, *10*(11), 3120. <https://doi.org/10.3390/cells10113120>
- Lin, S., Shen, H., Li, J.-L., Tang, S., Gu, Y., Chen, Z., Hu, C., Rice, J. C., Lu, J., & Wu, L. (2013). Proteomic and Functional Analyses Reveal the Role of Chromatin Reader SFMBT1 in Regulating Epigenetic Silencing and the Myogenic Gene Program. *The Journal of Biological Chemistry*, *288*(9), 6238-6247. <https://doi.org/10.1074/jbc.M112.429605>
- Liu, M., Yue, L., Luo, Y., Lu, J., Wu, G., Sheng, S., Shi, Y., & Dong, Z. (2022). SUMOylation of SIRT1 activating PGC-1 α /PPAR α pathway mediates the protective effect of LncRNA-MHRT in cardiac hypertrophy. *European Journal of Pharmacology*, *930*, 175155. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2022.175155>
- Longo, L. V. G., Hughes, T., McNeil-Laidley, B., Cottini, F., Hilinski, G., Merritt, E., & Jr. Benson, D. M. (2023). TTK/MPS1 inhibitor OSU-13 targets the mitotic checkpoint and is a potential therapeutic strategy for myeloma. *Haematologica*, *109*(2), 578-590. <https://doi.org/10.3324/haematol.2023.282838>
- Lopez-Fabuel, I., Le Douce, J., Logan, A., James, A. M., Bonvento, G., Murphy, M. P., Almeida, A., & Bolaños, J. P. (2016). Complex I assembly into supercomplexes determines differential mitochondrial ROS production in neurons and astrocytes. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *113*(46), 13063-13068. <https://doi.org/10.1073/pnas.1613701113>
- López-Teros, M., Alarcón-Aguilar, A., López-Diazguerrero, N. E., Luna-López, A., & Königsberg, M. (2022a). Contribution of senescent and reactive astrocytes on central nervous system inflammaging. *Biogerontology*, *23*(1), 21-33. <https://doi.org/10.1007/s10522-022-09952-3>

- López-Teros, M., Alarcón-Aguilar, A., López-Diazguerrero, N. E., Luna-López, A., & Königsberg, M. (2022b). Contribution of senescent and reactive astrocytes on central nervous system inflammaging. *Biogerontology*, 23(1), 21-33. <https://doi.org/10.1007/s10522-022-09952-3>
- Lu, J., Huang, J., Zhao, S., Xu, W., Chen, Y., Li, Y., Wang, Z., Dong, Y., You, R., Cao, J., & Dong, Y. (2021). FOXO1 Is a Critical Switch Molecule for Autophagy and Apoptosis of Sow Endometrial Epithelial Cells Caused by Oxidative Stress. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2021(1), 1172273. <https://doi.org/10.1155/2021/1172273>
- Lu, Y. R., Tian, X., & Sinclair, D. A. (2023). The Information Theory of Aging. *Nature Aging*, 3(12), 1486-1499. <https://doi.org/10.1038/s43587-023-00527-6>
- Mahlke, M. A., & Nechemia-Arbely, Y. (2020). Guarding the Genome: CENP-A-Chromatin in Health and Cancer. *Genes*, 11(7), 810. <https://doi.org/10.3390/genes11070810>
- Marakulina, D., Vorontsov, I. E., Kulakovskiy, I. V., Lennartsson, A., Drabløs, F., & Medvedeva, Y. A. (2022). EpiFactors 2022: Expansion and enhancement of a curated database of human epigenetic factors and complexes. *Nucleic Acids Research*, 51(D1), D564-D570. <https://doi.org/10.1093/nar/gkac989>
- Martire, S., & Banaszynski, L. A. (2020). The roles of histone variants in fine-tuning chromatin organization and function. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 21(9), 522-541. <https://doi.org/10.1038/s41580-020-0262-8>
- Matias, I., Diniz, L. P., Damico, I. V., Araujo, A. P. B., Neves, L. da S., Vargas, G., Leite, R. E. P., Suemoto, C. K., Nitrini, R., Jacob-Filho, W., Grinberg, L. T., Hol, E. M., Middeldorp, J., & Gomes, F. C. A. (2022). Loss of lamin-B1 and defective nuclear morphology are hallmarks of astrocyte senescence in vitro and in the aging human hippocampus. *Aging Cell*, 21(1), e13521. <https://doi.org/10.1111/acel.13521>
- Miura, H., & Hiratani, I. (2022). Cell cycle dynamics and developmental dynamics of the 3D genome: Toward linking the two timescales. *Current Opinion in Genetics & Development*, 73, 101898. <https://doi.org/10.1016/j.gde.2021.101898>
- Moulson, A. J., Squair, J. W., Franklin, R. J. M., Tetzlaff, W., & Assinck, P. (2021). Diversity of Reactive Astroglia in CNS Pathology: Heterogeneity or Plasticity? *Frontiers in Cellular Neuroscience*, 15, 703810. <https://doi.org/10.3389/fncel.2021.703810>
- Murphy, M. P. (2009). How mitochondria produce reactive oxygen species. *Biochemical Journal*, 417(1), 1-13. <https://doi.org/10.1042/BJ20081386>
- Myer, D. J. (2006). Essential protective roles of reactive astrocytes in traumatic brain injury. *Brain*, 129(10), 2761-2772. <https://doi.org/10.1093/brain/awl165>
- Narita, M., Nuñez, S., Heard, E., Narita, M., Lin, A. W., Hearn, S. A., Spector, D. L., Hannon, G. J., & Lowe, S. W. (2003a). Rb-Mediated Heterochromatin Formation and Silencing of E2F Target Genes during Cellular Senescence. *Cell*, 113(6), 703-716. [https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(03\)00401-X](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(03)00401-X)
- Narita, M., Nuñez, S., Heard, E., Narita, M., Lin, A. W., Hearn, S. A., Spector, D. L., Hannon, G. J., & Lowe, S. W. (2003b). Rb-Mediated Heterochromatin Formation and Silencing of E2F Target Genes during Cellular Senescence. *Cell*, 113(6), 703-716. [https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(03\)00401-X](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(03)00401-X)
- Navarro-Mabarak, C., Mitre-Aguilar, I. B., Camacho-Carranza, R., Arias, C., Zentella-Dehesa, A., & Espinosa-Aguirre, J. J. (2019). Role of NF-κB in cytochrome P450 epoxigenases down-regulation during an inflammatory process in astrocytes. *Neurochemistry International*, 129, 104499. <https://doi.org/10.1016/j.neuint.2019.104499>
- Nelson, D. L., Cox, M. M., & Lehninger, A. L. (2017). *Lehninger principles of biochemistry* (Seventh edition). W.H. Freeman.
- Nemoto, S., Fergusson, M. M., & Finkel, T. (2005). SIRT1 Functionally Interacts with the Metabolic Regulator and Transcriptional Coactivator PGC-1α. *Journal of Biological Chemistry*, 280(16), 16456-16460. <https://doi.org/10.1074/jbc.M501485200>
- Nguyen, J. C. D., Killcross, A. S., & Jenkins, T. A. (2014). Obesity and cognitive decline: Role of inflammation and vascular changes. *Frontiers in Neuroscience*, 8. <https://doi.org/10.3389/fnins.2014.00375>
- Nimmerjahn, A., Kirchhoff, F., & Helmchen, F. (2005). Resting Microglial Cells Are Highly Dynamic Surveillants of Brain Parenchyma in Vivo. *Science*, 308(5726), 1314-1318. <https://doi.org/10.1126/science.1110647>
- Oberdoerffer, P., & Sinclair, D. A. (2007). The role of nuclear architecture in genomic instability and ageing. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 8(9), 692-702. <https://doi.org/10.1038/nrm2238>
- Ogrodnik, M., Zhu, Y., Langhi, L. G. P., Tchkonja, T., Krüger, P., Fielder, E., Vettorelli, S., Ruswhandi, R. A., Giorgadze, N., Pirtskhalava, T., Podgorni, O., Enikolopov, G., Johnson, K. O., Xu, M., Inman, C., Palmer, A. K., Schafer, M., Weigl, M., Ikeno, Y., ... Jurk, D. (2019). Obesity-Induced Cellular Senescence Drives Anxiety and Impairs Neurogenesis. *Cell Metabolism*, 29(5), 1061-1077.e8. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2018.12.008>
- Ota, H., Akishita, M., Eto, M., Iijima, K., Kaneki, M., & Ouchi, Y. (2007). Sirt1 modulates premature senescence-like phenotype in human endothelial cells. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*, 43(5), 571-579. <https://doi.org/10.1016/j.yjmcc.2007.08.008>
- Palmer, A. K., Gustafson, B., Kirkland, J. L., & Smith, U. (2019). Cellular senescence: At the nexus between ageing and diabetes. *Diabetologia*, 62(10), 1835-1841. <https://doi.org/10.1007/s00125-019-4934-x>
- Palmer, A. L., & Ousman, S. S. (2018). Astrocytes and Aging. *Frontiers in Aging Neuroscience*, 10, 337. <https://doi.org/10.3389/fnagi.2018.00337>
- Passos, J. F., Nelson, G., Wang, C., Richter, T., Simillion, C., Proctor, C. J., Miwa, S., Olijslagers, S., Hallinan, J., Wipat, A., Saretzki, G., Rudolph, K. L., Kirkwood, T. B. L., & Von Zglinicki, T. (2010). Feedback between p21 and reactive oxygen

- production is necessary for cell senescence. *Molecular Systems Biology*, 6(1), 347. <https://doi.org/10.1038/msb.2010.5>
- Pfluger, P. T., Herranz, D., Velasco-Miguel, S., Serrano, M., & Tschöp, M. H. (2008). Sirt1 protects against high-fat diet-induced metabolic damage. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 105(28), 9793-9798. <https://doi.org/10.1073/pnas.0802917105>
- Pfrieger, F. W., & Barres, B. A. (1997). Synaptic Efficacy Enhanced by Glial Cells in Vitro. *Science*, 277(5332), 1684-1687. <https://doi.org/10.1126/science.277.5332.1684>
- Pozner, A., Terooatea, T. W., & Buck-Koehntop, B. A. (2016). Cell-specific Kaiso (ZBTB33) Regulation of Cell Cycle through Cyclin D1 and Cyclin E1. *The Journal of Biological Chemistry*, 291(47), 24538-24550. <https://doi.org/10.1074/jbc.M116.746370>
- Pujadas, E., & Feinberg, A. (2012). Regulated Noise in the Epigenetic Landscape of Development and Disease. *Cell*, 148(6), 1123-1131. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2012.02.045>
- Rhinn, M., Ritschka, B., & Keyes, W. M. (2019). Cellular senescence in development, regeneration and disease. *Development*, 146(20), dev151837. <https://doi.org/10.1242/dev.151837>
- Rodgers, J. T., Lerin, C., Haas, W., Gygi, S. P., Spiegelman, B. M., & Puigserver, P. (2005). Nutrient control of glucose homeostasis through a complex of PGC-1 α and SIRT1. *Nature*, 434(7029), 113-118. <https://doi.org/10.1038/nature03354>
- Rosenbaum, J. L., Melhorn, S. J., Schoen, S., Webb, M. F., De Leon, M. R. B., Humphreys, M., Utzschneider, K. M., & Schur, E. A. (2022). Evidence That Hypothalamic Gliosis Is Related to Impaired Glucose Homeostasis in Adults With Obesity. *Diabetes Care*, 45(2), 416-424. <https://doi.org/10.2337/dc21-1535>
- Ryniawec, J. M., & Rogers, G. C. (2021). Centrosome instability: When good centrosomes go bad. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 78(21-22), 6775-6795. <https://doi.org/10.1007/s00018-021-03928-1>
- Salas-Venegas, V., Santín-Márquez, R., Ramírez-Carreto, R. J., Rodríguez-Cortés, Y. M., Cano-Martínez, A., Luna-López, A., Chavarría, A., Konigsberg, M., & López-Díazguerrero, N. E. (2023a). Chronic consumption of a hypercaloric diet increases neuroinflammation and brain senescence, promoting cognitive decline in middle-aged female Wistar rats. *Frontiers in Aging Neuroscience*, 15, 1162747. <https://doi.org/10.3389/fnagi.2023.1162747>
- Salas-Venegas, V., Santín-Márquez, R., Ramírez-Carreto, R. J., Rodríguez-Cortés, Y. M., Cano-Martínez, A., Luna-López, A., Chavarría, A., Konigsberg, M., & López-Díazguerrero, N. E. (2023b). Chronic consumption of a hypercaloric diet increases neuroinflammation and brain senescence, promoting cognitive decline in middle-aged female Wistar rats. *Frontiers in Aging Neuroscience*, 15. <https://doi.org/10.3389/fnagi.2023.1162747>
- Salminen, A., Ojala, J., Kaamiranta, K., Haapasalo, A., Hiltunen, M., & Soininen, H. (2011). Astrocytes in the aging brain express characteristics of senescence-associated secretory phenotype: Astrocyte senescence in aging brain. *European Journal of Neuroscience*, 34(1), 3-11. <https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2011.07738.x>
- Santos, A. L., Sinha, S., & Lindner, A. B. (2018). The Good, the Bad, and the Ugly of ROS: New Insights on Aging and Aging-Related Diseases from Eukaryotic and Prokaryotic Model Organisms. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2018, 1941285. <https://doi.org/10.1155/2018/1941285>
- Sasaki, T., Maier, B., Bartke, A., & Scoble, H. (2006). Progressive loss of SIRT1 with cell cycle withdrawal. *Aging Cell*, 5(5), 413-422. <https://doi.org/10.1111/j.1474-9726.2006.00235.x>
- Schönfeld, P., & Reiser, G. (2013). Why does Brain Metabolism not Favor Burning of Fatty Acids to Provide Energy? - Reflections on Disadvantages of the Use of Free Fatty Acids as Fuel for Brain. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*, 33(10), 1493-1499. <https://doi.org/10.1038/jcbfm.2013.128>
- Schweizer, S., Meisel, A., & Märshenz, S. (2013). Epigenetic Mechanisms in Cerebral Ischemia. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*, 33(9), 1335-1346. <https://doi.org/10.1038/jcbfm.2013.93>
- Senner, C. E. (2011). The role of DNA methylation in mammalian development. *Reproductive BioMedicine Online*, 22(6), 529-535. <https://doi.org/10.1016/j.rbmo.2011.02.016>
- Shimi, T., Butin-Israeli, V., Adam, S. A., Hamanaka, R. B., Goldman, A. E., Lucas, C. A., Shumaker, D. K., Kosak, S. T., Chandel, N. S., & Goldman, R. D. (2011). The role of nuclear lamin B1 in cell proliferation and senescence. *Genes & Development*, 25(24), 2579-2593. <https://doi.org/10.1101/gad.179515.111>
- Sidler, C., Woycicki, R., Li, D., Wang, B., Kovalchuk, I., & Kovalchuk, O. (2014). A role for SUV39H1-mediated H3K9 trimethylation in the control of genome stability and senescence in WI38 human diploid lung fibroblasts. *Aging (Albany NY)*, 6(7), 545-563.
- Smolič, T., Tavčar, P., Horvat, A., Černe, U., Halužan Vasle, A., Tratnjek, L., Kreft, M. E., Scholz, N., Matis, M., Petan, T., Zorec, R., & Vardjan, N. (2021). Astrocytes in stress accumulate lipid droplets. *Glia*, 69(6), 1540-1562. <https://doi.org/10.1002/glia.23978>
- Sofroniew, M. V. (2009). Molecular dissection of reactive astrogliosis and glial scar formation. *Trends in Neurosciences*, 32(12), 638-647. <https://doi.org/10.1016/j.tins.2009.08.002>
- Sofroniew, M. V. (2020). Astrocyte reactivity: Subtypes, states and functions in CNS innate immunity. *Trends in immunology*, 41(9), 758-770. <https://doi.org/10.1016/j.it.2020.07.004>
- Sofroniew, M. V., & Vinters, H. V. (2010). Astrocytes: Biology and pathology. *Acta Neuropathologica*, 119(1), 7-35. <https://doi.org/10.1007/s00401-009-0619-8>

- Song, W., Wu, W., Zhao, Y., Xu, H., Chen, G., Jin, S., Chen, J., Xian, S., & Liang, J. (2023). Evidence from a meta-analysis and systematic review reveals the global prevalence of mild cognitive impairment. *Frontiers in Aging Neuroscience*, *15*, 1227112. <https://doi.org/10.3389/fnagi.2023.1227112>
- Sriram, K., Benkovic, S. A., Hebert, M. A., Miller, D. B., & O'Callaghan, J. P. (2004). Induction of gp130-related Cytokines and Activation of JAK2/STAT3 Pathway in Astrocytes Precedes Up-regulation of Glial Fibrillary Acidic Protein in the 1-Methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine Model of Neurodegeneration. *Journal of Biological Chemistry*, *279*(19), 19936-19947. <https://doi.org/10.1074/jbc.M309304200>
- St-Pierre, J., Drori, S., Uldry, M., Silvaggi, J. M., Rhee, J., Jäger, S., Handschin, C., Zheng, K., Lin, J., Yang, W., Simon, D. K., Bachoo, R., & Spiegelman, B. M. (2006). Suppression of Reactive Oxygen Species and Neurodegeneration by the PGC-1 Transcriptional Coactivators. *Cell*, *127*(2), 397-408. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2006.09.024>
- Su, X., Chu, Y., Kordower, J. H., Li, B., Cao, H., Huang, L., Nishida, M., Song, L., Wang, D., & Federoff, H. J. (2015). PGC-1 α Promoter Methylation in Parkinson's Disease. *PLOS ONE*, *10*(8), e0134087. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0134087>
- Takahashi, K., & Yamanaka, S. (2015). A developmental framework for induced pluripotency. *Development*, *142*(19), 3274-3285. <https://doi.org/10.1242/dev.114249>
- Ubhayasekera, S. J. K. A., Staaf, J., Forslund, A., Bergsten, P., & Bergquist, J. (2013). Free fatty acid determination in plasma by GC-MS after conversion to Weinreb amides. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, *405*(6), 1929-1935. <https://doi.org/10.1007/s00216-012-6658-3>
- Uniprot. (s. f.). *KAT2A - Histone acetyltransferase KAT2A - Homo sapiens (Human) | UniProtKB | UniProt*. Recuperado 21 de septiembre de 2024, de <https://www.uniprot.org/uniprotkb/Q92830/entry>
- Varela, L., Kim, J. G., Fernández-Tussy, P., Aryal, B., Liu, Z. W., Fernández-Hernando, C., & Horvath, T. L. (2021). Astrocytic lipid metabolism determines susceptibility to diet-induced obesity. *Science Advances*, *7*(50), eabj2814. <https://doi.org/10.1126/sciadv.abj2814>
- Vargas, M. R., & Johnson, J. A. (2009). The Nrf2–ARE cytoprotective pathway in astrocytes. *Expert Reviews in Molecular Medicine*, *11*, e17. <https://doi.org/10.1017/S1462399409001094>
- Verkhatsky, A., & Nedergaard, M. (2018). Physiology of Astroglia. *Physiological Reviews*, *98*(1), 239-389. <https://doi.org/10.1152/physrev.00042.2016>
- Villarreal, A., Vidos, C., Monteverde Busso, M., Cieri, M. B., & Ramos, A. J. (2021). Pathological Neuroinflammatory Conversion of Reactive Astrocytes Is Induced by Microglia and Involves Chromatin Remodeling. *Frontiers in Pharmacology*, *12*, 689346. <https://doi.org/10.3389/fphar.2021.689346>
- Wang, H., Han, M., & Qi, L. S. (2021). Engineering 3D genome organization. *Nature Reviews Genetics*, *22*(6), 343-360. <https://doi.org/10.1038/s41576-020-00325-5>
- Wang, S. W., Wang, M., Grossman, B. M., & Martin, R. J. (1994). Effects of dietary fat on food intake and brain uptake and oxidation of fatty acids. *Physiology & Behavior*, *56*(3), 517-522. [https://doi.org/10.1016/0031-9384\(94\)90295-x](https://doi.org/10.1016/0031-9384(94)90295-x)
- Wiley, C. D., & Campisi, J. (2016). From Ancient Pathways to Aging Cells—Connecting Metabolism and Cellular Senescence. *Cell Metabolism*, *23*(6), 1013-1021. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2016.05.010>
- Yang, J.-H., Hayano, M., Griffin, P. T., Amorim, J. A., Bonkowski, M. S., Apostolides, J. K., Salfati, E. L., Blanchette, M., Munding, E. M., Bhakta, M., Chew, Y. C., Guo, W., Yang, X., Maybury-Lewis, S., Tian, X., Ross, J. M., Coppotelli, G., Meer, M. V., Rogers-Hammond, R., ... Sinclair, D. A. (2023). Loss of epigenetic information as a cause of mammalian aging. *Cell*, *186*(2), 305-326.e27. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2022.12.027>
- Yang, Y., Hou, H., Haller, E. M., Nicosia, S. V., & Bai, W. (2005). Suppression of FOXO1 activity by FHL2 through SIRT1-mediated deacetylation. *The EMBO Journal*, *24*(5), 1021-1032. <https://doi.org/10.1038/sj.emboj.7600570>
- Zeng, C., Zhong, P., Zhao, Y., Kanchana, K., Zhang, Y., Khan, Z. A., Chakrabarti, S., Wu, L., Wang, J., & Liang, G. (2015). Curcumin protects hearts from FFA-induced injury by activating Nrf2 and inactivating NF- κ B both in vitro and in vivo. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*, *79*, 1-12. <https://doi.org/10.1016/j.yjmcc.2014.10.002>
- Zhang, J., Bonasio, R., Strino, F., Kluger, Y., Holloway, J. K., Modzelewski, A. J., Cohen, P. E., & Reinberg, D. (2013). SFMBT1 functions with LSD1 to regulate expression of canonical histone genes and chromatin-related factors. *Genes & Development*, *27*(7), 749-766. <https://doi.org/10.1101/gad.210963.112>
- Zhang, W., Feng, Y., Guo, Q., Guo, W., Xu, H., Li, X., Yi, F., Guan, Y., Geng, N., Wang, P., Cao, L., O'Rourke, B. P., Jo, J., Kwon, J., Wang, R., Song, X., Lee, I. H., & Cao, L. (2020). SIRT1 modulates cell cycle progression by regulating CHK2 acetylation–phosphorylation. *Cell Death & Differentiation*, *27*(2), 482-496. <https://doi.org/10.1038/s41418-019-0369-7>
- Zhang, X., Liu, X., Du, Z., Wei, L., Fang, H., Dong, Q., Niu, J., Li, Y., Gao, J., Zhang, M. Q., Xie, W., & Wang, X. (2021). The loss of heterochromatin is associated with multiscale three-dimensional genome reorganization and aberrant transcription during cellular senescence. *Genome Research*, *31*(7), 1121-1135. <https://doi.org/10.1101/gr.275235.121>
- Zhu, X., Chen, Z., Shen, W., Huang, G., Sedivy, J. M., Wang, H., & Ju, Z. (2021). Inflammation, epigenetics, and metabolism converge to cell senescence and ageing: The regulation and intervention. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, *6*(1), 245. <https://doi.org/10.1038/s41392-021-00>



Casa abierta al tiempo

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA

ACTA DE EXAMEN DE GRADO

No. 00259

Matrícula: 2223803050

Diferencias en el estado de la cromatina de astrocitos primarios de corteza de rata inducidos asenescencia o a gliosis con palmitato.

En la Ciudad de México, se presentaron a las 10:00 horas del día 2 del mes de octubre del año 2024 en la Unidad Iztapalapa de la Universidad Autónoma Metropolitana, los suscritos miembros del jurado:

- DRA. ADRIANA ALARCON AGUILAR
- DRA. CYNTHIA GABRIELA SAMANO SALAZAR
- DRA. VERONICA SALAS VENEGAS
- DR. ARMANDO LUNA LOPEZ



KARLA ESTEPHANIA AVILA GALICIA
ALUMNA

Bajo la Presidencia de la primera y con carácter de Secretario el último, se reunieron para proceder al Examen de Grado cuya denominación aparece al margen, para la obtención del grado de:

MAESTRA EN BIOLOGÍA EXPERIMENTAL
DE: KARLA ESTEPHANIA AVILA GALICIA

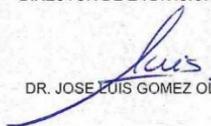
y de acuerdo con el artículo 78 fracción III del Reglamento de Estudios Superiores de la Universidad Autónoma Metropolitana, los miembros del jurado resolvieron:

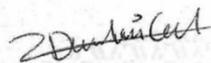
Aprobar

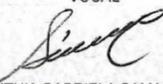
REVISÓ

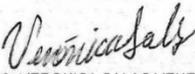
MTRA. ROSALVA FERRANO DE LA PAZ
DIRECTORA DE SISTEMAS ESCOLARES

Acto continuo, la presidenta del jurado comunicó a la interesada el resultado de la evaluación y, en caso aprobatorio, le fue tomada la protesta.

DIRECTOR DE LA DIVISIÓN DE CBS

DR. JOSÉ LUIS GÓMEZ OLIVARES

PRESIDENTA

DRA. ADRIANA ALARCON AGUILAR

VOCAL

DRA. CYNTHIA GABRIELA SAMANO SALAZAR

VOCAL

DRA. VERONICA SALAS VENEGAS

SECRETARIO

DR. ARMANDO LUNA LOPEZ