



Iatreia

ISSN: 0121-0793

revistaiatreia@udea.edu.co

Universidad de Antioquia

Colombia

Buelvas Jiménez, Neudo; Suárez Useche, Raibel Janis
Regulación del inflamasoma NLRP3: bioquímica y más allá de ella
Iatreia, vol. 28, núm. 2, abril-junio, 2015, pp. 170-180
Universidad de Antioquia
Medellín, Colombia

Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=180538791007>

- Cómo citar el artículo
- Número completo
- Más información del artículo
- Página de la revista en redalyc.org

redalyc.org

Sistema de Información Científica

Red de Revistas Científicas de América Latina, el Caribe, España y Portugal

Proyecto académico sin fines de lucro, desarrollado bajo la iniciativa de acceso abierto

Regulación del inflamasoma NLRP3: bioquímica y más allá de ella

Neudo Buelvas Jiménez¹, Raibel Janis Suárez Useche¹

RESUMEN

La inmunidad innata responde a la infección y al daño tisular activando una plataforma molecular denominada inflamasoma. En las investigaciones clínicas con humanos, se han descrito cuatro clases de inflasomas relacionados con procesos inflamatorios: NLRP1, NLRC4, NLRP3 y AIM-2. De ellos, NLRP3 es el mejor estudiado. Los inflasomas tienen como finalidad común el procesamiento y activación de la caspasa-1, enzima responsable de la maduración de pro-IL-1 β y pro-IL-18. El control génico y la regulación bioquímica de esta plataforma son fundamentales para evitar el desarrollo de enfermedades inmunológicas, metabólicas y neurológicas. Algunos de los mecanismos más importantes en la modulación de la actividad del inflamasoma son: los polimorfismos en los genes codificadores de las proteínas del inflamasoma, la ubiquitinación, la regulación redox, la concentración de ATP y la señalización paracrina mediante factores de transcripción e interleucinas. Existe, además, otro tipo de regulación que se ejerce por mecanismos epigenéticos como la metilación y la expresión de micro-ARN. En conjunto, estos mecanismos son indispensables para la expresión coordinada y el funcionamiento correcto de estas plataformas moleculares ante un determinado patógeno o daño celular. Las investigaciones sobre los diversos componentes de los inflasomas y su inhibición controlada están esclareciendo aspectos que permitirán controlar enfermedades asociadas con estos complejos moleculares.

PALABRAS CLAVE

Caspasa-1; Epigenética; Inflamasoma; NLRP3; Regulación

SUMMARY

Regulation of NLRP3 inflammasome: Biochemistry and beyond

Innate immunity responds to infectious agents and tissue injury with a multiproteic molecular platform named inflammasome. A large number of investigations have described four

¹ Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas, Centro de Investigaciones Biomédicas, Laboratorio de Inmunobiología, Profesional Asociado a la Investigación, Venezuela. Correspondencia: Neudo Buelvas Jiménez; nbuelvas@ivic.gob.ve

Recibido: mayo 14 de 2014

Aceptado: julio 24 de 2014

Cómo citar: Buelvas Jiménez N, Suárez Useche RJ. Regulación del inflamasoma NLRP3: bioquímica y más allá de ella. *Iatreia*. 2015 Abr-Jun;28(2):170-180. DOI 10.17533/udea.iatreia.v28n2a07.

inflammasome types related to inflammatory processes in humans: NLRP1, NLRC4, NLRP3 y AIM-2. NLRP3 is a key sensor molecule in the inflammasome activity that is directed to the activation of caspase-1, the enzyme responsible for the transformation of pro-IL-1 β and pro-IL-18 to their mature active forms. Genetic control and biochemical regulation of this platform are necessary for the prevention of immunologic, metabolic and neurological diseases. Polymorphisms of the genes that codify for the proteins of the inflammasome, ubiquitination, redox regulation, ATP concentration and signaling via transcription factor and interleukins are key players in the modulation of inflammasome activity. In addition, regulation is also accomplished by epigenetic mechanisms such as methylation and the expression of microRNAs. All these mechanisms are indispensable for the coordinated expression and normal functioning of these platforms in response to a pathogenic agent or cellular damage. Investigation on the various inflammasome components and their controlled inhibition are clarifying aspects that should permit to control disease conditions related to these molecular complexes.

KEY WORDS

Caspase-1; Epigenetic; Inflammasome; NLRP3; Regulation

RESUMO

Regulação do inflamassoma NLRP3: bioquímica e além dela

A imunidade inata responde à infecção e ao dano teciduais ativando uma plataforma molecular denominada inflamassoma. Nas investigações clínicas com humanos, descreveram-se quatro classes de inflamassomas relacionados com processos inflamatórios: NLRP1, NLRC4, NLRP3 e AIM-2. Deles, NLRP3 é o melhor estudado. Os inflamassomas têm como finalidade comum o processamento e ativação da caspase-1, enzima responsável da maturação de pró-IL-1 β e pró-IL-18. O controle genético e a regulação bioquímica desta plataforma são fundamentais para evitar o desenvolvimento de doenças imunológicas, metabólicas e neurológicas. Alguns dos mecanismos mais importantes na modulação da atividade do inflamassoma são: os polimorfismos nos genes

codificadores das proteínas do inflamassoma, a ubiquitinação a regulação redox, a concentração de ATP e a sinalização parácrino mediante fatores de transcrição e interleucinas. Existe, ademais, outro tipo de regulação que se exerce por mecanismos epigenéticos como a metilação e a expressão de micro-RNA. Em conjunto, estes mecanismos são indispensáveis para a expressão coordenada e o funcionamento correto destas plataformas moleculares ante um determinado patogênico ou dano celular. As investigações sobre os diversos componentes dos inflamassomas e sua inibição controlada estão esclarecendo aspectos que permitirão controlar doenças associadas com estes complexos moleculares.

PALAVRAS CHAVES

Caspase-1; Epigenética; Inflamassoma; NLRP3; Regulação

GENERALIDADES DEL INFLAMASOMA

A lo largo de la evolución, los organismos vertebrados han desarrollado mecanismos de protección para hacer frente a los agentes infecciosos y a las señales endógenas de peligro, mediante la participación de un sofisticado sistema inmune constituido por macrófagos, células dendríticas (DC), monocitos, neutrófilos, células epiteliales y diversas células del sistema inmune: el sistema de inmunidad innata (1). Los receptores de la inmunidad innata existen unidos a las membranas celulares y solubles en el citoplasma, y son los encargados de monitorizar el espacio extracelular y los compartimientos subcelulares para activar el inflamassoma como sistema de defensa de respuesta inmediata al daño celular.

Es característico de la inmunidad innata el complejo supramolecular constituido por tres proteínas, a saber: NLRP3 (NALP3, criopirina), la proteína tipo punto asociada con la apoptosis y con un dominio de reclutamiento y activación de caspasa (ASC) y la caspasa-1. Este complejo, que tiene varias formas y está dirigido a la activación de la caspasa-1, fue descrito por Martinon y colaboradores con el nombre de inflamassoma (2). Estos complejos macromoleculares detectan diversos estímulos inductores de inflamación agrupados como patrones moleculares asociados a

patógenos (PAMP, por la sigla en inglés de *pathogen associated molecular patterns*) y patrones moleculares asociados al peligro (DAMP, por la sigla en inglés de *damage associated molecular patterns*), característicos de un proceso inflamatorio (3). Hasta ahora solo se ha estudiado de manera exhaustiva la activación de los inflamasomas en células mieloides, cuyas funciones principales son la maduración y secreción regulada de las citocinas proinflamatorias IL-1 β , IL-18 e IL-33 (4).

Los objetivos centrales de esta revisión son discutir y actualizar los mecanismos implicados en la regulación de la activación del inflamasoma NLRP3 mediante procesos bioquímicos, genéticos y epigenéticos, y la implicación de estos en la aparición de ciertas enfermedades inmunológicas e inflamatorias.

Hasta el presente se han identificado 23 genes en humanos y 34 en ratones que codifican para los receptores NLR (receptores con dominio de oligomerización de unión a nucleótidos) (1). Los NLR son una familia de proteínas que contienen un dominio de unión de nucleótidos y un dominio repetido rico en leucina (que incluye: NALP, NOD, PYPAF Y CATERPILLER) (5). El ensamblaje del inflamasoma es mediado por la interacción de los dominios de las proteínas pertenecientes a la superfamilia de muerte, compuesta por subfamilias que contienen el dominio de muerte (DD), el dominio efector de muerte, el dominio de reclutamiento de caspasa (CARD) y el dominio pirina (PYD). Tras la activación se oligomerizan a través de su dominio de unión a nucleótido y reclutan la proteína ASC, que está compuesta por un dominio PYD en el N-terminal y un dominio CARD en el C-terminal y juega un papel crítico en el ensamblaje del inflamasoma NLRP3. ASC es reclutada por el oligómero NLRP mediante interacción homotípica PYD, mientras que la interacción homotípica CARD entre ASC y procaspasa-1 ocurre después y se ha sugerido que una vez estimulada ASC se autoasocia a través de sus dominios PYD y CARD para ensamblar el inflamasoma (6,7). El agrupamiento de moléculas de procaspasa-1 permite el autoprocésamiento y la formación del tetrámero p20/p10 correspondiente a la caspasa-1 activa, la cual se encarga de procesar las formas inmaduras de las interleucinas proinflamatorias IL-1 β e IL-18 (8).

En las investigaciones clínicas con humanos se han descrito cuatro clases de inflamasomas relacionados con procesos inflamatorios; tres de ellos contienen proteínas de la familia NLR (NLRP1, NLRC4 y NLRP3), mientras que el cuarto corresponde a AIM-2 (inflamasoma ausente en melanoma 2) que pertenece a la familia de proteínas PYHIN, que contienen un dominio pirina y un dominio HIN-200 (8,9).

El complejo proteico NLRP1 fue el primer inflamasoma descrito en macrófagos murinos infectados y es activado luego de su procesamiento proteolítico por la toxina de *Bacillus anthracis* (10,11). La proteína NLRP1 posee un dominio PYD en su extremo amino terminal y repeticiones ricas en leucina (LRR) en su extremo carboxilo terminal, además del dominio NACHT con actividad ATPasa en el centro de la molécula responsable de la oligomerización de la proteína NLRP1. Además, al inflamasoma NLRP1 de humanos se le ha descrito un dominio FIIND (con función por definir); a pesar de ello, el inflamasoma NLRP1 ha demostrado ser capaz de reclutar distintas caspasas inflamatorias principalmente caspasa-5 y caspasa-1 (12). Un mecanismo alternativo de activación del inflamasoma NLRP1 es la inhibición de la actividad cinasa de las enzimas AKT y la proteína-cinasa activada por mitógeno p38 mediada por la toxina antrácica, lo cual desencadena la apertura del canal responsable del flujo de adenosín-trifosfato (ATP) y la activación de la señalización por la vía del receptor purinérgico P2X7 y P2X4 (13-15).

El inflamasoma NLRC4 es un receptor citoplasmático también llamado IPAF (factor de activación de proteasa convertidor de interleucina), que se expresa en macrófagos e interactúa directamente con la procaspasa-1 por interacciones homotípicas a través de su dominio CARD, dirigiendo así el procesamiento y la maduración de la caspasa-1. Este inflamasoma cumple una función importante en la inmunidad innata contra las proteínas bacterianas flagelina y el sistema de secreción conservado tipo varilla PrgJ (16). No se ha podido demostrar la interacción directa de NLRC4 con flagelina y PrgJ, pero Lightfield y colaboradores en 2011 (17) y Half y colaboradores en 2012 (7) confirmaron que para la activación de este inflamasoma se requiere la presencia de una segunda proteína NLR denominada NAIP5 (ejemplo: en respuesta a *Legionella pneumophila*), de la cual se cree que heterooligomeriza con NLRC4.

AIM2 es un receptor citosólico perteneciente a la familia de proteínas PYHIN, ya mencionada, que reconoce el ADN de doble banda derivado de virus y bacterias patógenas en el citoplasma de macrófagos infectados (18). El mecanismo de activación es la oligomerización de AIM2 con ASC para así permitir el agrupamiento de la procaspasa-1 y su activación para producir la maduración de las prointerleucinas proinflamatorias (19).

Hasta ahora el inflamasoma más estudiado ha sido NLRP3, un complejo macromolecular de ≈ 700 kDa de peso molecular que se ensambla en respuesta a distintos PAMP, incluyendo el lipopolisacárido (LPS), el peptidoglicano, el ADN bacteriano, el ARN de virus y hongos, y DAMP tales como cristales de urato monosódico, pirofosfato de calcio y colesterol, hialuronato e inclusive glucosa (15).

ACTIVACIÓN DEL INFLAMASOMA NLRP3

No está completamente claro el mecanismo preciso de activación del inflamasoma NLRP3, pero varios estudios experimentales han permitido demostrar que lo pueden activar diversas señales (20). Con base en estos hallazgos, se han descrito distintos mecanismos para su activación: a) variación en las concentraciones intracelulares y extracelulares de K^+ (13); b) mediante el reconocimiento de un incremento en la concentración de ATP extracelular por los receptores P2X7 y P2X4 purinérgico (21,22); c) con la generación de especies ROS derivadas de la mitocondria (23); y d) mediante la desestabilización fago-lisosomal que lo activa por medio de moléculas como cristales de urato monosódico, asbestos y sílica (24,25). A pesar de las diversas composiciones moleculares de los activadores, So y Busso (26) han descrito una enzima que participa como mediador en los distintos mecanismos de activación de los inflamasomas, la proteína-cinasa activada por ARN (PKR) también conocida como EIF2AK2.

REGULACIÓN DEL INFLAMASOMA NLRP3

Regulación bioquímica

La activación del inflamasoma NLRP3 debe ser un proceso regulado que permita la respuesta oportuna

ante la presencia de un patógeno, sin constituir un peligro para el hospedador, y hasta ahora se ha demostrado que la activación de la plataforma proteica puede ser regulada en múltiples niveles mediante interacciones bioquímicas (figura 1).

Uno de estos mecanismos de regulación es el interferón- γ (IFN- γ) derivado de las células T, que disminuye la activación del inflamasoma NLRP3 a través de la óxido nítrico sintasa inducible (iNOS), debido a que el óxido nítrico (NO) induce la nitrosilación del NLRP3 (12), la cual es una modificación química de los residuos de cisteína (S-nitrosocisteínas) de la región LRR de la proteína NLRP3 e impide que el complejo se oligomeric. Esta situación la evidenciaron Mishra y colaboradores (27) en macrófagos infectados por *Mycobacterium tuberculosis* en presencia de IFN- γ de linfocitos, a cuyo medio agregaron ascorbato (agente reductor) y determinaron que se suprimió la nitrosilación de los grupos tiol (-SH).

Además, los interferones tipo I reprimen el corte de las prointerleucinas inflamatorias a sus formas activas por acción de los inflamasomas NLRP1 y NLRP3 (12) y disminuyen la concentración de proIL-1 β intracelular debido a que inducen la producción de la citocina antiinflamatoria IL-10 en un proceso dependiente del factor de transcripción STAT-1 (*signal transducer and activator of transcription 1*), y posteriormente la IL-10 inhibe la síntesis de proIL-1 β a través de la vía de señalización STAT-3 (1). Asimismo, se ha demostrado que el IFN- β bloquea la activación del inflamasoma NLRP3 en presencia de lipopolisacárido, en un proceso independiente de la señalización proximal del receptor y de la traducción de factores de señalización, lo que sugiere que ocurren otros eventos de integración de señales posteriores a las cascadas de señalización (28).

Otro nivel de regulación lo describieron Oh y colaboradores (29) para las células mesenquimatosas y estromales que secretan la proteína antiapoptótica STC-1 (estaniocalcina-1), que secuestra las especies reactivas de oxígeno e impide la activación del inflamasoma NLRP3 por parte de los macrófagos (29); asimismo, la proteína TRIM30, que está implicada en la tolerancia a las endotoxinas, atenúa la respuesta del inflamasoma NLRP3 debido a que disminuye la producción de ROS (30).

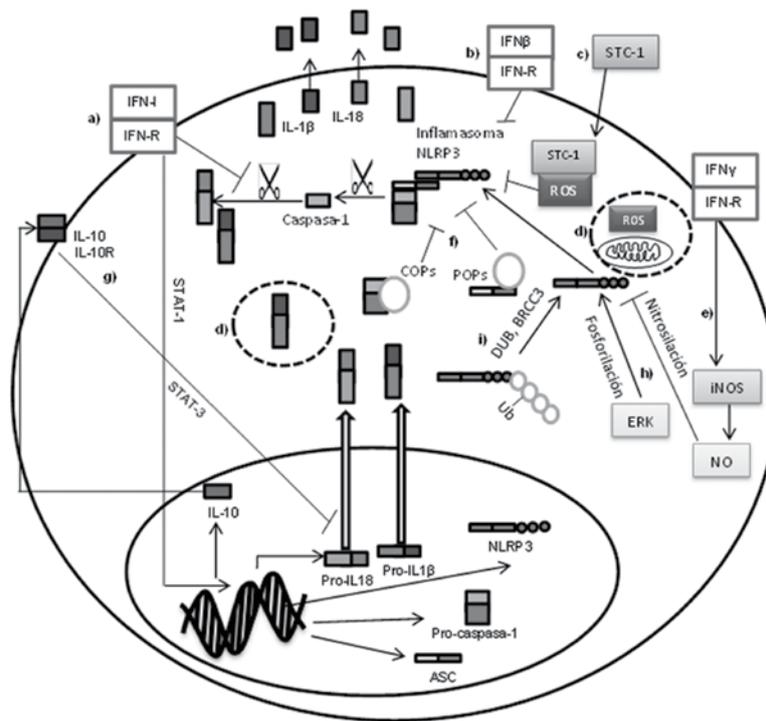


Figura 1. Mecanismos de regulación bioquímica del inflamasoma NLRP3. a) IFN- β reprimen el procesamiento de proIL-1 β y proIL-18 a sus formas activas; b) IFN- β -IFNR bloquea la activación del inflamasoma NLRP3; c) ROS activa NLRP3, pero la inhibición de ROS por STC-1 impide su activación; d) La autofagia de proteínas envejecidas y organelas (mitocondrias dañadas) es una forma de evitar el ensamblaje y la activación del inflamasoma NLRP3; e) El IFN- γ inhibe la activación de NLRP3 por la producción de NO mediado por la enzima iNOS, que induce su nitrosilación; f) Las proteínas COP y POP secuestran procaspasa-1 y ASC respectivamente e impiden el ensamblaje del inflamasoma; g) IL-10 inhibe la transcripción de NLRP3 y citocinas proinflamatorias mediada por la activación de los factores de transcripción STAT-3 y STAT-1; h) La fosforilación de NLRP3 mediada por la vía de señalización que conduce a la cinasa ERK permite la activación de NLRP3; i) Mientras que la deubiquitinación de NLRP3 por DUB y BRCC3 provoca su activación

Otra manera de regular la activación del inflamasoma es mediante las proteínas COP y POP (que solo contienen los dominios CARD o PYD, respectivamente) que inhiben tanto la procaspasa-1 como la ASC (12).

La fosforilación mediada por ERK-1 sobre NLRP3 constituye otra forma de regulación por ser un paso crítico en el ensamblaje del inflamasoma y para la consiguiente maduración de las interleucinas proinflamatorias en presencia de ATP (31). Además de NLRP3, la proteína adaptadora ASC también requiere ser fosforilada por Syk y Jnk para activar el inflamasoma; tal fosforilación ocurre en el residuo Tyr144 ubicado en el dominio CARD y es necesaria para la

formación de agregados proteicos de ASC, indispensables para la formación del complejo con NLRP3 y la posterior asociación a procaspasa-1 (32).

La ubiquitinación del inflamasoma NLRP3 bloquea su activación, lo cual se demostró al utilizar la enzima deubiquitinadora DUB tanto en células humanas como de ratón estimuladas con LPS (33); de igual manera, Py y colaboradores (34) describieron la enzima deubiquitinasa BRCC3 como un regulador crítico de la actividad de NLRP3 debido a que promueve la deubiquitinación de NLRP3 como parte de un complejo con la enzima BRISC y permite su activación.

Por otra parte la autofagia, un proceso citoprotector mediado por lisosomas, es una respuesta celular por inanición que puede eliminar organelas y proteínas dañadas por los autofagosomas para la posterior degradación por lisosomas. En el caso del inflammasoma NLRP3, la autofagia inhibe su activación mediante la degradación de las mitocondrias dañadas que liberan ROS o por la autofagia de pro IL-1 β (1).

Varios autores han explicado la relación entre la autofagia del complejo inflammasoma-mitocondria y la regulación de su activación, mediante la intervención de las proteínas de la autofagia, específicamente ATG16L1 y su posterior degradación a través de receptores selectivos como p62 (35), ya que la proteína adaptadora p62 reconoce las proteínas ubiquitinadas y la proteína LC3, y se forma un complejo que activa la autofagia mediante la intervención de la proteína Ra1B; la autofagia del complejo produce disminución en la secreción de la IL-1 β (36). Aunque la autofagia también juega un papel en la biogénesis y la secreción de la citocina proinflamatoria IL-1 β (35), por una vía de secreción no convencional que se lleva a cabo mediante la participación de las proteínas de ensamblaje del aparato de Golgi GRASP, la proteína ATG5 y la proteína Rab8a; este proceso ocurre con el fin de entregar la IL-1 β circulante a las organelas en el citoplasma (37).

REGULACIÓN GENÉTICA

El gen *NLRP3*, localizado en el cromosoma 1q44, está conformado por nueve exones; este gen codifica para la proteína criopirina de 1.034 aa (38), y su expresión está altamente regulada y la afectan procesos inflamatorios y factores ambientales. Si bien existe correlación entre las sustituciones de nucleótidos específicos en el gen *NLRP3*, que se asocian a enfermedades hereditarias autoinflamatorias denominadas síndromes periódicos asociados a criopirina (CAPS), la mayoría resulta de las mutaciones del exón 3 que producen sobreexpresión del inflammasoma en ausencia de estímulo (39,40); sin embargo, algunas mutaciones se han asociado a diversos fenotipos en diferentes pacientes sugiriendo una influencia adicional, sea génica o ambiental; además, muchos pacientes con fenotipos de criopirinopatías clásicas no presentan mutaciones detectables en las regiones codificantes del gen *NLRP3*, sino variantes en la secuencia del promotor (39);

además, se han descrito varias enfermedades asociadas a polimorfismo sencillo de nucleótidos (SNP) en los intrones, las regiones intergénicas y no génicas del genoma por lo que se debe considerar la existencia de este mecanismo con el fenotipo de enfermedades como las de Crohn y Huntington, la artritis reumatoide y la diabetes tipo II, entre otras (41).

Otra manera de modificar o regular la expresión de los genes del inflammasoma es el corte y empalme alternativo (*alternative splicing*) del pre-ARN mensajero (pre-ARNm) como lo reportaron Bryan y colaboradores (42) para la proteína ASC, cuyo pre-ARNm sufre este tipo de modificación postranscripcional y resulta en la traducción de diferentes isoformas de la proteína, que pueden promover, inhibir o no afectar la activación del inflammasoma. Asimismo, este mecanismo se ha descrito para el gen *CASP1* que consta de 10 exones y codifica para la proteína caspasa-1 lo cual puede resultar en seis isoformas que pueden tener diferentes funciones en la célula como parte del inflammasoma (43). Otra manera de controlar la expresión de NLRP3 podría ser la corta vida media de su ARNm (44).

REGULACIÓN EPIGENÉTICA

Si bien muchas enfermedades relacionadas con el inflammasoma NLRP3 se han asociado a la presencia de mutaciones puntuales en el gen *NLRP3* y su promotor o en la regulación, que afectan su expresión, existen otros mecanismos que pueden silenciar o activar un gen sin que exista mutación en la secuencia del ADN como es el caso de las modificaciones epigenéticas.

Una forma de regulación epigenética es mediante los miARN, que son ARN endógenos no codificantes, cuya longitud está entre 20 y 23 nt y cumplen funciones reguladoras por el apareamiento con regiones 3' sin traducir (3' UTR) del ARNm de proteínas (45), y se ha demostrado que los miARN interactúan principalmente con aquellos genes que cumplen funciones reguladoras en múltiples procesos celulares (46).

Con respecto al inflammasoma NLRP3, Glinsky y colaboradores (41) concluyeron que un gran número de miARN tienen alta probabilidad de unirse a ARNm codificante para proteínas de los componentes del inflammasoma denominadas NLRP1, NLRP3 y NLRP4,

y se asocian al menos con cuatro enfermedades relacionadas con el inflamasoma debido a que manifiestan complementariedad u homología de secuencias en puntos de polimorfismo. Asimismo, los miARN denominados miR-BART15 del virus de Epstein Barr y miR-223 se han definido como reguladores postranscripcionales de la expresión de NLRP3 en macrófagos por su complementariedad a un sitio conservado UTR en la región 3' de *NLRP3* (47).

Otro miARN que puede controlar el inflamasoma es miR-135b mediante la regulación de la expresión del receptor IL-1R así como de la caspasa-1 e IL-1 β en ratones expuestos a humo de cigarrillo (48).

Por otra parte, se han descrito diversos miARN como reguladores de otras proteínas que se relacionan de manera directa con la inflamación antes de la activación del inflamasoma, como es el caso de miR-133a-1, que fue reportado como regulador del gen que codifica para la proteína integral de membrana UCP2; por su interacción, esta proteína funciona como regulador negativo del inflamasoma mediante su acción reguladora en la síntesis de ATP y la producción de ROS (20). Ceppi y colaboradores (49), por su parte, demostraron que el miR-146 también puede regular la formación del inflamasoma por interacción con los ARN que codifican para las moléculas adaptadoras TRAF e IRAK; por su parte, miR-155 marca directamente a TAB2 que es una proteína adaptadora de la cascada TLR/IL-1 en células dendríticas activadas por LPS.

Otro mecanismo epigenético es el silenciamiento transcripcional debido a la metilación del ADN; ocurre por el reclutamiento de represores transcripcionales en la unión metil-CpG y por interferencia de la unión de los activadores al ADN, lo cual resulta en un estado de condensación de la cromatina y en el silenciamiento de la expresión génica; las regiones ricas en CpG (islas CpG) se localizan principalmente en los promotores génicos (50,51). La modificación en los patrones de metilación se ha asociado a la aparición de varias enfermedades como las cardíacas

congénitas (52), las autoinmunes (53) e incluso se ha vinculado a la aparición de diabetes tipo II (54).

Con respecto al inflamasoma, se ha demostrado que la metilación de CpG en la región HS2 del intrón 1 del gen ASC bloquea la unión del factor transcripcional GABP y regula la expresión del gen (55), mientras que Stimson y Vertino (56) concluyeron que en el gen ASC existen múltiples islas CpG, que coinciden con sitios hipersensibles para la ADNasa I; además, dicha metilación implica cambios en la conformación de estas regiones que incluyen la hipoacetilación de histonas, la remodelación de los sitios para la enzima ADNasa I y el consiguiente silenciamiento génico (56). Por otra parte, se ha sugerido que el gen de la caspasa-1 puede ser silenciado por metilación del ADN (57).

Existen otros mecanismos epigenéticos que pueden regular la transcripción de los genes como la acetilación y la metilación de las histonas. En las enfermedades inflamatorias crónicas NF- κ B media la acetilación incrementada de las histonas en la región promotora de los genes inflamatorios y se ha demostrado que la hiperacetilación de la histona H4 en los residuos lisina 8 (K8) y K12 es mediada por IL-1 β (58).

Al igual que la metilación, la acetilación de las histonas modifica la organización de la cromatina en el genoma de los eucariotas y por tanto puede activar o inactivar regiones génicas. Para el caso del inflamasoma, se ha determinado que el dominio flanqueante 5' de la región CpG del gen ASC está caracterizado por la metilación K4 de la histona H3 la cual puede interactuar con proteínas para evitar la metilación de las islas CpG; además, este sitio flanqueante contiene una densa acetilación en el residuo K16 de H4 (46). Otro ejemplo de metilación de histonas lo reportaron Wesels y colaboradores (53) quienes demostraron que la estructura de la cromatina donde se ubica el promotor del gen *IL-1 β* puede metilarse de acuerdo con la maduración de la célula y permitir o no la expresión del gen (figura 2).

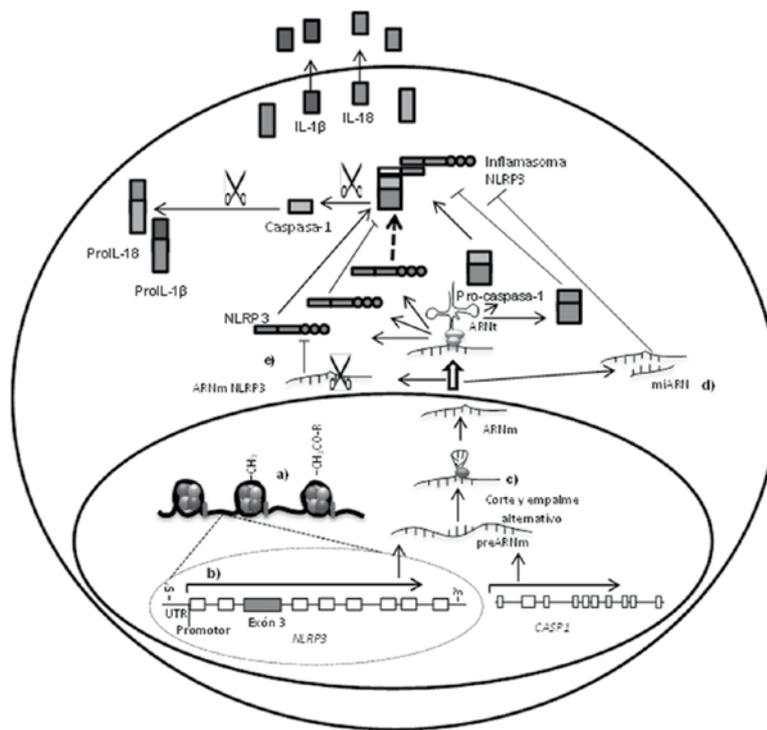


Figura 2. Mecanismos reguladores genéticos y epigenéticos del inflammasoma NLRP3. a) La adición de grupos metilo (CH₃-) y acetilo (CH₃COR) a las histonas modifica el patrón de expresión de los genes proinflamatorios; b) Modificaciones nucleotídicas SNP en el promotor afectan la expresión de NLRP3; c) El corte y empalme alternativo de los genes NLRP3 y CASP1 generan isoformas defectuosas o activas de manera constitutiva, originando la aparición de trastornos inmunes y metabólicos, entre otros; d) miARN no codificantes se unen a regiones diana de los ARNm para inhibir la traducción y expresión de los genes del inflammasoma NLRP3 y citocinas; e) La corta vida del ARNm de NLRP3 puede ser un mecanismo de regulación en la expresión del inflammasoma

Un análisis profundo de los mecanismos de activación y regulación de los inflammasomas permitirá en un futuro cercano el desarrollo de tratamientos que logren modular la inflamación crónica y limitar las vías alternas de activación del inflammasoma que llevan a la aparición de las diversas enfermedades discutidas en esta revisión, así como la utilización de terapias génicas que permitan detener e incluso revertir la evolución de estas enfermedades para ofrecer mejor calidad de vida a los pacientes.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Chen S, Sun B. Negative regulation of NLRP3 inflammasome signaling. *Protein Cell*. 2013 Apr;4(4):251–8.
2. Martinon F, Burns K, Tschopp J. The inflammasome: a molecular platform triggering activation of inflammatory caspases and processing of proIL-beta. *Mol Cell*. 2002 Aug;10(2):417–26.
3. Strowig T, Henao-Mejia J, Elinav E, Flavell R. Inflammasomes in health and disease. *Nature*. 2012 Jan;481(7381):278–86.
4. Hong S, Hwang I, Lee YS, Park S, Lee WK, Fernandes T, et al. Restoration of ASC expression sensitizes colorectal cancer cells to genotoxic stress-induced caspase-independent cell death. *Cancer Lett*. 2013 May; 331(2): 183-191.
5. Ting JP-Y, Kastner DL, Hoffman HM. CATERPILLERs, pyrin and hereditary immunological disorders. *Nat Rev Immunol*. 2006 Mar;6(3):183–95.

6. Vajjhala PR, Mirams RE, Hill JM. Multiple binding sites on the pyrin domain of ASC protein allow self-association and interaction with NLRP3 protein. *J Biol Chem*. 2012 Dec;287(50):41732–43.
7. Halff EF, Diebold CA, Versteeg M, Schouten A, Brondijk THC, Huizinga EG. Formation and structure of a NAIP5-NLRC4 inflammasome induced by direct interactions with conserved N- and C-terminal regions of flagellin. *J Biol Chem*. 2012 Nov;287(46):38460–72.
8. Schroder K, Tschopp J. The inflammasomes. *Cell*. 2010 Mar;140(6):821–32.
9. Gross O, Thomas CJ, Guarda G, Tschopp J. The inflammasome: an integrated view. *Immunol Rev*. 2011 Sep;243(1):136–51.
10. Hsu L-C, Ali SR, McGillivray S, Tseng P-H, Mariathasan S, Humke EW, et al. A NOD2-NALP1 complex mediates caspase-1-dependent IL-1 β secretion in response to *Bacillus anthracis* infection and muramyl dipeptide. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2008 Jun;105(22):7803–8.
11. Wickliffe KE, Leppla SH, Moayeri M. Anthrax lethal toxin-induced inflammasome formation and caspase-1 activation are late events dependent on ion fluxes and the proteasome. *Cell Microbiol*. 2008 Feb;10(2):332–43.
12. Latz E, Xiao TS, Stutz A. Activation and regulation of the inflammasomes. *Nat Rev Immunol*. 2013 Jun;13(6):397–411.
13. Silverman WR, de Rivero Vaccari JP, Locovei S, Qiu F, Carlsson SK, Scemes E, et al. The pannexin 1 channel activates the inflammasome in neurons and astrocytes. *J Biol Chem*. 2009 Jul;284(27):18143–51.
14. Mankan AK, Kubarenko A, Hornung V. Immunology in clinic review series; focus on autoinflammatory diseases: inflammasomes: mechanisms of activation. *Clin Exp Immunol*. 2012 Mar;167(3):369–81.
15. Turner CM, Arulkumaran N, Singer M, Unwin RJ, Tam FWK. Is the inflammasome a potential therapeutic target in renal disease? *BMC Nephrol*. 2014 Jan;15:21.
16. Zhao Y, Yang J, Shi J, Gong Y-N, Lu Q, Xu H, et al. The NLRC4 inflammasome receptors for bacterial flagellin and type III secretion apparatus. *Nature*. 2011 Sep;477(7366):596–600.
17. Lightfield KL, Persson J, Trinidad NJ, Brubaker SW, Kofoed EM, Sauer J-D, et al. Differential requirements for NAIP5 in activation of the NLRC4 inflammasome. *Infect Immun*. 2011 Apr;79(4):1606–14.
18. Saiga H, Kitada S, Shimada Y, Kamiyama N, Okuyama M, Makino M, et al. Critical role of AIM2 in *Mycobacterium tuberculosis* infection. *Int Immunol*. 2012 Oct;24(10):637–44.
19. Hornung V, Ablasser A, Charrel-Dennis M, Bauernfeind F, Horvath G, Caffrey DR, et al. AIM2 recognizes cytosolic dsDNA and forms a caspase-1-activating inflammasome with ASC. *Nature*. 2009 Mar;458(7237):514–8.
20. Bandyopadhyay S, Lane T, Venugopal R, Parthasarathy PT, Cho Y, Galam L, et al. MicroRNA-133a-1 regulates inflammasome activation through uncoupling protein-2. *Biochem Biophys Res Commun*. 2013 Sep;439(3):407–12.
21. Kahlenberg JM, Dubyak GR. Mechanisms of caspase-1 activation by P2X7 receptor-mediated K⁺ release. *Am J Physiol Cell Physiol*. 2004 May;286(5):C1100–8.
22. Khakh BS, North RA. P2X receptors as cell-surface ATP sensors in health and disease. *Nature*. 2006 Aug;442(7102):527–32.
23. Shio MT, Tiemi Shio M, Eisenbarth SC, Savaria M, Vinet AF, Bellemare M-J, et al. Malarial hemozoin activates the NLRP3 inflammasome through Lyn and Syk kinases. *PLoS Pathog*. 2009 Aug;5(8):e1000559.
24. Halle A, Hornung V, Petzold GC, Stewart CR, Monks BG, Reinheckel T, et al. The NALP3 inflammasome is involved in the innate immune response to amyloid- β . *Nat Immunol*. 2008 Aug;9(8):857–65.
25. Hornung V, Bauernfeind F, Halle A, Samstad EO, Kono H, Rock KL, et al. Silica crystals and aluminum salts activate the NALP3 inflammasome through phagosomal destabilization. *Nat Immunol*. 2008 Aug;9(8):847–56.
26. So A, Busso N. The concept of the inflammasome and its rheumatologic implications. *Joint Bone Spine*. 2014;81(5):381–464.
27. Mishra BB, Rathinam VAK, Martens GW, Martinot AJ, Kornfeld H, Fitzgerald KA, et al. Nitric oxide controls the immunopathology of tuberculosis by inhibiting NLRP3 inflammasome-dependent processing of IL-1 β . *Nat Immunol*. 2013 Jan;14(1):52–60.
28. Guarda G, Braun M, Staehli F, Tardivel A, Mattmann C, Förster I, et al. Type I interferon inhibits

- interleukin-1 production and inflammasome activation. *Immunity*. 2011 Feb;34(2):213–23.
29. Oh JY, Ko JH, Lee HJ, Yu JM, Choi H, Kim MK, et al. Mesenchymal stem/stromal cells inhibit the NLRP3 inflammasome by decreasing mitochondrial reactive oxygen species. *Stem Cells*. 2014 Jun;32(6):1553–63.
 30. Hu Y, Mao K, Zeng Y, Chen S, Tao Z, Yang C, et al. Tripartite-motif protein 30 negatively regulates NLRP3 inflammasome activation by modulating reactive oxygen species production. *J Immunol*. 2010 Dec;185(12):7699–705.
 31. Ghonime MG, Shamaa OR, Das S, Eldomany RA, Fernandes-Alnemri T, Alnemri ES, et al. Inflammasome priming by lipopolysaccharide is dependent upon ERK signaling and proteasome function. *J Immunol*. 2014 Apr;192(8):3881–8.
 32. Hara H, Tsuchiya K, Kawamura I, Fang R, Hernandez-Cuellar E, Shen Y, et al. Phosphorylation of the adaptor ASC acts as a molecular switch that controls the formation of speck-like aggregates and inflammasome activity. *Nat Immunol*. 2013 Dec;14(12):1247–55.
 33. Juliana C, Fernandes-Alnemri T, Kang S, Farias A, Qin F, Alnemri ES. Non-transcriptional priming and deubiquitination regulate NLRP3 inflammasome activation. *J Biol Chem*. 2012 Oct;287(43):36617–22.
 34. Py BF, Kim M-S, Vakifahmetoglu-Norberg H, Yuan J. Deubiquitination of NLRP3 by BRCC3 critically regulates inflammasome activity. *Mol Cell*. 2013 Jan;49(2):331–8.
 35. Yuk J-M, Jo E-K. Crosstalk between autophagy and inflammasomes. *Mol Cells*. 2013 Nov;36(5):393–9.
 36. Shi C-S, Shenderov K, Huang N-N, Kabat J, Abu-Asab M, Fitzgerald KA, et al. Activation of autophagy by inflammatory signals limits IL-1 β production by targeting ubiquitinated inflammasomes for destruction. *Nat Immunol*. 2012 Mar;13(3):255–63.
 37. Dupont N, Jiang S, Pilli M, Ornatowski W, Bhattacharya D, Deretic V. Autophagy-based unconventional secretory pathway for extracellular delivery of IL-1 β . *EMBO J*. 2011 Nov;30(23):4701–11.
 38. Aróstegui JJ. [Pathophysiological mechanisms underlying cryopyrin-associated periodic syndromes: genetic and molecular basis and the inflammasome]. *Med Clin (Barc)*. 2011 Jan;136 Suppl:22–8.
 39. Anderson JP, Mueller JL, Misaghi A, Anderson S, Sivagnanam M, Kolodner RD, et al. Initial description of the human NLRP3 promoter. *Genes Immun*. 2008 Dec;9(8):721–6.
 40. Conforti-Andreoni C, Ricciardi-Castagnoli P, Mortellaro A. The inflammasomes in health and disease: from genetics to molecular mechanisms of autoinflammation and beyond. *Cell Mol Immunol*. 2011 Mar;8(2):135–45.
 41. Glinsky G V. SNP-guided microRNA maps (MirMaps) of 16 common human disorders identify a clinically accessible therapy reversing transcriptional aberrations of nuclear import and inflammasome pathways. *Cell Cycle*. 2008 Nov;7(22):3564–76.
 42. Bryan NB, Dorfleutner A, Kramer SJ, Yun C, Rojanasakul Y, Stehlik C. Differential splicing of the apoptosis-associated speck like protein containing a caspase recruitment domain (ASC) regulates inflammasomes. *J Inflamm (Lond)*. 2010 Jan;7:23–35.
 43. Feng Q, Li P, Leung PCK, Auersperg N. Caspase-1zeta, a new splice variant of the caspase-1 gene. *Genomics*. 2004 Sep;84(3):587–91.
 44. Bauernfeind F, Rieger A, Schildberg FA, Knolle PA, Schmid-Burgk JL, Hornung V. NLRP3 inflammasome activity is negatively controlled by miR-223. *J Immunol*. 2012 Oct;189(8):4175–81.
 45. Bartel DP. MicroRNAs: target recognition and regulatory functions. *Cell*. 2009 Jan;136(2):215–33.
 46. Ghorai A, Ghosh U. miRNA gene counts in chromosomes vary widely in a species and biogenesis of miRNA largely depends on transcription or post-transcriptional processing of coding genes. *Front Genet*. 2014 Jan;5:100.
 47. Haneklaus M, Gerlic M, Kurowska-Stolarska M, Rainey A-A, Pich D, McInnes IB, et al. Cutting edge: miR-223 and EBV miR-BART15 regulate the NLRP3 inflammasome and IL-1 β production. *J Immunol*. 2012 Oct;189(8):3795–9.
 48. Halappanavar S, Nikota J, Wu D, Williams A, Yauk CL, Stampfli M. IL-1 receptor regulates microRNA-135b expression in a negative feedback mechanism during cigarette smoke-induced inflammation. *J Immunol*. 2013 Apr;190(7):3679–86.
 49. Ceppi M, Pereira PM, Dunand-Sauthier I, Barras E, Reith W, Santos MA, et al. MicroRNA-155 modulates the interleukin-1 signaling pathway in activated human monocyte-derived dendritic cells. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2009 Feb;106(8):2735–40.

50. Hardy TM, Tollefsbol TO. Epigenetic diet: impact on the epigenome and cancer. *Epigenomics*. 2011 Aug;3(4):503–18.
51. Salminen A, Kauppinen A, Hiltunen M, Kaarniranta K. Epigenetic regulation of ASC/TMS1 expression: potential role in apoptosis and inflammasome function. *Cell Mol Life Sci*. 2014 May;71(10):1855–64.
52. Chowdhury S, Erickson SW, MacLeod SL, Cleves MA, Hu P, Karim MA, et al. Maternal genome-wide DNA methylation patterns and congenital heart defects. *PLoS One*. 2011 Jan;6(1):e16506.
53. Strickland FM, Richardson BC. Epigenetics in human autoimmunity. *Epigenetics in autoimmunity - DNA methylation in systemic lupus erythematosus and beyond*. Autoimmunity. 2008 May;41(4):278–86.
54. Raciti GA, Nigro C, Longo M, Parrillo L, Miele C, Formisano P, et al. Personalized medicine and type 2 diabetes: lesson from epigenetics. *Epigenomics*. 2014 Apr;6(2):229–38.
55. Lucas ME, Crider KS, Powell DR, Kapoor-Vazirani P, Vertino PM. Methylation-sensitive regulation of TMS1/ASC by the Ets factor, GA-binding protein-alpha. *J Biol Chem*. 2009 May;284(22):14698–709.
56. Stimson KM, Vertino PM. Methylation-mediated silencing of TMS1/ASC is accompanied by histone hypoacetylation and CpG island-localized changes in chromatin architecture. *J Biol Chem*. 2002 Feb;277(7):4951–8.
57. Ueki T, Takeuchi T, Nishimatsu H, Kajiwara T, Moriyama N, Narita Y, et al. Silencing of the caspase-1 gene occurs in murine and human renal cancer cells and causes solid tumor growth in vivo. *Int J Cancer*. 2001 Mar;91(5):673–9.
58. Wessels I, Fleischer D, Rink L, Uciechowski P. Changes in chromatin structure and methylation of the human interleukin-1beta gene during monopoiesis. *Immunology*. 2010 Jul;130(3):410–7.

