

CONFERENCIA

La revolución de las células gliales: la microglía ¿Qué hace esta célula inmunitaria singular en el cerebro?*

The Glial Cell Revolution: Microglia. What Does this Singular Immune Cell Work in the Brain?

Carmen Guaza Rodríguez

Académica Correspondiente de la Sección de Ciencias Experimentales de la Real Academia de Doctores de España

cgjb@cajal.csic.es

RESUMEN

La microglía descubierta por Pío del Río-Hortega se reconoció como una población celular en el Sistema Nervioso Central (SNC) hace más de un siglo. Este tipo de célula glial es de origen inmunitario y no sólo actúa como un “macrófago residente del SNC” sino que desempeña múltiples funciones fisiológicas esenciales tanto durante el neurodesarrollo como en el cerebro adulto. El diálogo cruzado entre la microglía y el resto de los componentes celulares del SNC es crucial para el mantenimiento de la homeostasis del organismo en la salud y en la enfermedad.

PALABRAS CLAVE: Microglía, cerebro, medula espinal, sistema inmune

ABSTRACT

Microglial cells discovered by Pío del Río-Hortega were recognized as a cell population in the Central Nervous System (CNS) more than a century ago. This type of immune-derived glial cell not only acts as a “CNS-resident macrophage” but perform multiple essential physiological functions during neurodevelopment as well as in the adult brain. The cross-talk between microglia and the rest of the cellular components of the CNS is critical for the maintenance of homeostasis across health and disease.

KEYWORDS: Microglia, brain, spinal cord, immune system

* Sesión académica de la RADE celebrada el 06-10-2022.

1.- PÍNCELADAS HISTÓRICAS

La palabra “glía”, de origen griego cuyo significado es unión o pegamento, se introdujo en la comunidad científica a mediados del siglo XIX por Rudolf Virchow, polifacético médico patólogo alemán, en base a la observación de unas células distintas a las neuronas en las paredes de los ventrículos cerebrales en procesos inflamatorios. Virchow postuló que se trataba de tejido conjuntivo y lo definió como “el pegamento nervioso” que mantenía unidas a las neuronas. Escribió uno de los libros más famosos de su época: “Patología Celular” (1858) que tuvo una gran repercusión ya que presentaba una teoría general de la enfermedad. La glía- la microglía, la astrogliá y la oligodendroglía- tiene un papel altamente relevante en la Neurociencia del siglo XXI; así, dedicamos una extraordinaria atención a las células gliales puesto que su significado ha cambiado radicalmente a lo largo de las últimas décadas. Hoy día no se puede comprender la fisiología del SNC sin su relación con la glía que constituye más de la mitad del cerebro humano.

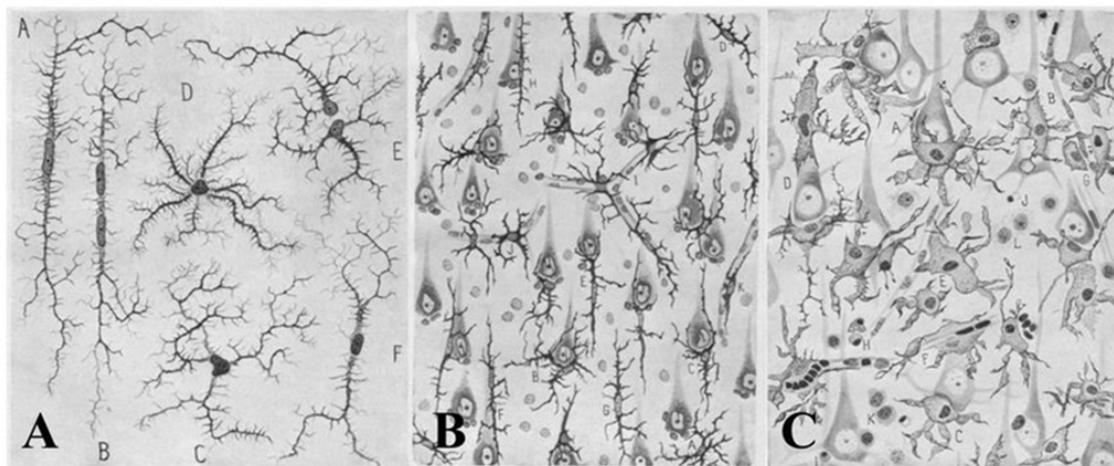
A finales del siglo XIX y principios del siglo XX, Don Santiago Ramón y Cajal impulsó una gran actividad científica de relevancia Internacional en España que propició la creación del Instituto Cajal en 1920 por Alfonso XIII, siendo construido en el Cerro de San Blas junto al Observatorio Astronómico Nacional. El nuevo Instituto era la continuación del Laboratorio de Investigaciones Biológicas creado en 1900 donde Cajal estuvo investigando más de 20 años y en donde se formaron sus discípulos más conocidos que formaron parte de la famosa Escuela de Histólogos Españoles. La figura de Cajal revolucionó el mundo científico de la época estableciendo que las neuronas y sus conexiones eran la base de la función cerebral, lo que se conoció como la "doctrina de las neuronas". Tras alcanzar un extraordinario prestigio Internacional, Cajal fue galardonado con el Premio Nobel de Medicina en 1906 junto con Camilo Golgi defensor de la teoría reticular que consideraba el cerebro como una red continua, teoría errónea que no se mantuvo a lo largo del tiempo.

2.- ¿CÓMO SE LLEGÓ AL DESCUBRIMIENTO DE LA MICROGLÍA?

Una serie de acontecimientos condujeron al descubrimiento de la microglía. En relación con la investigación sobre la glía, Cajal se interesó especialmente en los astrocitos, en parte, inspirado por Nicolás Achúcarro, médico histólogo nacido en Bilbao que contribuyó a la definición de la neuroglia con el desarrollo de técnicas histológicas innovadoras que a su vez fueron mejoradas por Cajal como el método de la sublimación del cloruro de oro que permitió obtener imágenes detalladas de alta calidad de los astrocitos. Sin embargo, el resto de las células del parénquima cerebral aparecían mal teñidas y sin procesos por lo que Cajal las denominó “células apolares” o “tercer elemento” distintas a los astrocitos y a las

neuronas. La aparición en escena de Pío del Río-Hortega estimulado por la genialidad creativa de Cajal condujo a la identificación de la microglía. Río-Hortega un joven médico Vallisoletano se trasladó a Madrid en 1912 incorporándose al laboratorio de Achúcarro. La investigación sistemática de Río-Hortega le llevó a desarrollar el método de tinción del carbonato de plata amoniacal con el que descubrió que las llamadas “células apolares” consistían en realidad en dos tipos de células diferentes, que denominó microglía y glía interfascicular, que más tarde renombraría como oligodendrocitos.

En 1919 su serie de cuatro artículos seminales: El 'Tercer Elemento' de los Centros Nerviosos, publicados en el Boletín de la Sociedad Española de Biología, la revista científica editada por Cajal, revolucionaría la investigación en el SNC. En la Figura 1 se ilustran algunos de los dibujos de microglía realizados por Río-Hortega. A) Morfología de la microglía en un cerebro humano sano; B) Morfología de la microglía de un paciente con meningitis aguda; C) Morfología de la microglía en la corteza cerebral de un conejo en una zona cercana a una herida tras 48 h de evolución.



Río-Hortega postuló que los progenitores de la microglía migran al cerebro durante una etapa de desarrollo muy temprano siendo un auténtico visionario en su época. De hecho, la demostración inequívoca del origen de la microglía tuvo lugar en 2010 por Florent Ginhoux del Mount Sinai School of Medicine, New York. Estudios de rastreo de linaje *in vivo* demostraron que la microglía deriva de progenitores eritro-mieloides primitivos, que son originarias del saco vitelino extraembrionario, que se desarrollan de manera independiente de los factores de transcripción clásicos en los monocitos y que migran al cerebro a través del sistema vascular del embrión. En contraposición, las neuronas, los astrocitos y los oligodendrocitos derivan de progenitores neuroectodérmicos dentro del SNC. Hay que destacar que los macrófagos en el espacio perivascular, la duramadre y el plexo coroideo, adyacentes al parénquima cerebral los llamados “macrófagos asociados al borde” presentan patrones de expresión génica que los distinguen de las microglías.

3.- LA EVOLUCIÓN EN EL CONOCIMIENTO DE LA MICROGLÍA EN EL CENTENARIO DE SU DESCUBRIMIENTO

Los hitos que han marcado el avance sobre el conocimiento de la microglía van de la mano de los avances tecnológicos y de las herramientas disponibles a lo largo del tiempo desde la evolución de los métodos de tinción, a los análisis de imagen *in vivo* y los estudios a nivel unicelular. En la Neurociencia actual es importante la transversalidad y la capacidad de integración del conocimiento para facilitar su avance. Desde el descubrimiento de la microglía en 1919 hasta el año 2019, estas células tan versátiles han mostrado un devenir espectacular. En los primeros años se consolidaron los hallazgos de Río-Hortega reconociéndose a nivel Internacional como indiscutibles gracias particularmente a las aportaciones del neurocirujano Wilder Penfield, y de Metz & Spatz que denominaron a la microglía: “las células de Hortega” en una publicación Alemana. El origen de la microglía en el cerebro humano fue analizado por primera vez en 1939 por John Kershman del Instituto Neurológico de Montreal, quien observó la infiltración de microglía durante el desarrollo humano embrionario. La investigación sobre la microglía disminuyó hasta la década de los 60. Así, en 1968, Georg W. Kreutzberg del Instituto de Neurobiología Max Plank descubrió el crucial papel de la microglía en la eliminación de sinapsis. Otros logros históricos incluyeron la identificación histoquímica de la microglía por la actividad ATPasa en 1974 por Ibrahim y cols., o el desarrollo de cultivos de células de microglía en 1986 por Giulian & Baker. Fundamental fue el establecimiento de las propiedades electrofisiológicas de la microglía en 1990 por Helmut Kettenmann, así como la creación de líneas celulares inmortalizadas en 1992. La activación de la microglía por ATP demostrada en 1993 sugería la presencia de receptores purinérgicos en este tipo celular. Durante la década de 1990, la llamada década del cerebro, se establecieron los componentes moleculares del Sistema Endocannabinoide y en el año 2000 se demostró que la microglía presentaba un sistema endógeno cannabinoide activo en relación con la neuroinflamación. La visualización de la microglía *in vivo* en respuesta a ATP extracelular mediante el microscopio de dos fotones en 2005 por Dimitrios Davalos y cols., corroboró la rápida respuesta de la microglía frente a la agresión. La demostración del origen de la microglía en 2010, junto con el hallazgo de los exclusivos factores de transcripción implicados en la generación de la microglía por M. Prinz consolidó la percepción de la microglía como una célula inmunitaria intrínseca del SNC. La importancia del eje intestino-cerebro en la maduración de la microglía y el descubrimiento de que el microbioma influye en la microglía prenatal y adulta de manera dependiente del sexo publicado en la prestigiosa revista Cell en 2018 por Thion y cols., supuso un avance extraordinario rompiendo barreras estanco entre el SNC y la periferia influyendo en la fisiología integrativa del organismo. En el mismo año en que se cumplía el centenario, se constataba la heterogeneidad espacial y temporal de la microglía gracias a los análisis a nivel de resolución unicelular por Matsuda y cols., que fueron publicados en Nature.

4.- MICROGLÍA EN LA REGULACIÓN NEUROINMUNE

En la regulación neuroinmune la microglía juega un papel esencial para el mantenimiento de la homeostasis del organismo. Aun así, es conveniente recordar que costó bastante tiempo que la comunidad científica reconociese la integración de la inmunidad periférica y central. En la primera mitad del siglo XX, se pensaba que el cerebro mantenía una desconexión con nuestro Sistema Inmunitario. Con el paso de los años, el concepto de privilegio inmune del cerebro ha sido revisitado y moldeado conforme surgían nuevas evidencias al respecto. Pues bien, en la última década se ha demostrado la existencia de un sistema linfático cerebral, denominado sistema glinfático, una vía de limpieza de desechos del SNC. La existencia de la barrera hematoencefálica estructura microvascular compleja, formada por -células endoteliales, pericitos, lámina basal abluminal, astrocitos perivasculares y microglía- restringe el paso de sustancias del torrente sanguíneo al cerebro, si bien, algunas estructuras del SNC que incluyen los órganos circunventriculares, la neurohipófisis, la glándula pineal, algunas zonas del hipotálamo, el área postrema, el órgano vasculoso de la lámina terminal y el órgano subfornical no son tan restrictivas en su labor de barrera. La importancia de la regulación neuroinmune para el mantenimiento de un estado saludable y para hacer frente a cualquier tipo de agresión está ampliamente aceptada en la actualidad. En este contexto, las células microgliales, que constituyen del 5 al 12% de las células del SNC dependiendo de la región considerada, son las principales células neuroinmunes ya que desempeñan tres roles clave: una función de vigilancia como sensores con un continuo movimiento escaneando su entorno; una función de limpieza, eliminando restos o desechos, para promover el bienestar neuronal y una función de defensa frente a patógenos y cualquier tipo de daño como buenas células inmunes que son.

Actualmente, la comunidad científica considera a la fagocitosis como una herramienta celular esencial tanto en la fisiología normal como en situaciones patológicas. Pues bien, las células microgliales tienen esta capacidad en relación con la poda o eliminación sináptica no solo durante el neurodesarrollo, también en la formación de circuitos neuronales funcionales, y en la plasticidad sináptica asociada al aprendizaje. Mediante los patrones de auto-reconocimiento y los receptores de reconocimiento de patrones se va a determinar la tolerancia a lo propio con la señal de “no me comas”. Entre lo no propio están los patógenos o bien lo propio alterado, como restos celulares, células infectadas, células apoptóticas, o señales de daño celular que envían a la microglía la señal de “cómeme”. De manera, que son diversos los estudios que han refrendado la existencia de una fagocitosis dirigida a diferentes dianas marcada por señales bien definidas.

5.- OTRAS FUNCIONES DE LA MICROGLÍA

Cuando pensamos en la trayectoria que ha seguido la microglía a lo largo de los años somos conscientes de que la biología de este tipo celular contempla el desempeño de múltiples funciones en el marco de su interacción con todos los componentes celulares del SNC: neuronas, astrocitos, oligodendrocitos, progenitores de oligodendrocitos (OPCs), células endoteliales y células madre. A través de este dialogo cruzado, la microglía modula la neurogénesis, la mielinización -oligodendrogénesis- y la neovascularización en un entorno muy cambiante. Este tipo de interacciones impulsan las funciones inmunitarias y no inmunitarias de la microglía y coordinan la transición de estados homeostáticos a estados celulares relacionados con las enfermedades del SNC. A pesar de la visión tradicional de que la microglía es fundamentalmente nociva en las enfermedades neurodegenerativas, contribuye a mantener la homeostasis tisular y protege nuestro cerebro en diversas condiciones patológicas lo que apoya la dualidad funcional de esta célula glial.

Las distintas funciones de la microglía corresponden a modificaciones en la expresión génica de marcadores selectivos. Sobre la base de perfiles de expresión génica y estudios funcionales se propone una definición funcional y molecular de la microglía que correlaciona la expresión génica y la función. En la vigilancia, sus finos procesos dinámicos y en constante movimiento, escanean el área que rodea su cuerpo celular y migran rápidamente hacia la zona de peligro o lesión. Distintos perfiles moleculares se dan asimismo en la neuroinflamación, en los procesos reparativos, así como en el mantenimiento de la homeostasis tisular con la síntesis de proteínas de matriz extracelular.

Mucho se han debatido en la literatura científica los fenotipos de la microglía y su importancia en las enfermedades neurodegenerativas. El fenotipo M1 (inflamatorio) y M2 (reparador) descrito en los macrófagos contribuyó a encender el debate sobre la existencia o no del mismo modelo en la microglía. Actualmente, el consenso alcanzado por la comunidad científica es que los cambios dinámicos en la microglía ocurren como un continuum. La microglía vigilante (M0) muestra una morfología ramificada mientras que la microglía en neuroinflamación (M1) clásicamente activada por diversas situaciones patológicas muestra morfología ameboidea y puede ser inducida por señales proinflamatorias como interferones y lipopolisacáridos bacterianos liberando una plétora de quimiocinas y citocinas proinflamatorias. En la reparación, la microglía alternativa (M2a, M2b y M2c) puede ser inducida por diferentes señales como citocinas antiinflamatorias, inmunocomplejos o glucocorticoides. Estos fenotipos alternativos muestran morfologías ramificadas complejas y diferentes marcadores que están implicados en funciones antiinflamatorias y en la eliminación de desechos.

Siguiendo el modelo de los puntos de control existentes en las células de nuestro sistema inmunitario, también existe un control neural de la actividad inmune en las células microgliales. De esta manera la microglía está sometida a una regulación mediante moléculas implicadas en diversos mecanismos de control que incluyen las vías del receptor TREM-2, CX3cr1-fractalkina y CD200-CD200R, entre otros. Dicha regulación es ejercida por células intrínsecas del SNC, mayormente neuronas, con el objetivo de evitar respuestas exageradas de la microglía, nocivas al mantenerse en el tiempo. La desregulación de cualquiera de estos mecanismos reguladores da como resultado un desequilibrio que inicia o propaga la neurodegeneración.

6.- RENOVACIÓN DE LA MICROGLÍA

A diferencia de los otros macrófagos, la población adulta de microglía no se renueva a partir de progenitores circulantes de la médula ósea. Por el contrario, la microglía se renueva a partir de la proliferación local de células residentes, mediante acoplamiento de apoptosis y mitosis. La tasa de renovación de la población microglial nos muestra que es longeva y renueva su población tres veces durante los dos años de vida de un ratón. No parece ser que exista una contribución aparente de los monocitos periféricos. En los seres humanos, el recambio es igualmente bajo, con células que viven varias décadas lo que sugiere que esa microglía puede tener un recuerdo de eventos pasados impreso en su epigenoma. Este mecanismo para mantener la población basado en la auto-división puede estar involucrado en la aparición de subpoblaciones de microglías dependientes del espacio y del tiempo así como de subpoblaciones específicas para una determinada enfermedad mediante la transmisión de información a las células hijas en forma de modificación epigenética.

7.- HETEROGENEIDAD MICROGLIAL

En base en su perfil transcripcional a nivel unicelular se han identificado diferentes subpoblaciones de microglía en diferentes regiones del cerebro, y en diferentes estados del desarrollo por el grupo de Marcos Prinz de la Universidad de Friburgo. Existen células de microglía con alta actividad transcripcional en determinados momentos del desarrollo embrionario, que disminuye gradualmente a lo largo del mismo, lo que da como resultado una heterogeneidad limitada de la microglía durante la edad adulta. Por el contrario, la diversidad de la microglía aumenta durante el envejecimiento, aunque se desconoce por el momento su diversidad en regiones específicas del cerebro envejecido. Por otro lado, se observa una mayor heterogeneidad regional en tiempos posnatales tempranos, especialmente en regiones de sustancia blanca como el cerebelo o el cuerpo caloso. Durante la enfermedad, la microglía puede cambiar una vez más sus tasas transcripcionales y dar

lugar a sub-estados más heterogéneos de una manera dependiente del contexto. Utilizando el análisis transcriptómico de una sola célula, se postula que la microglía pasa por tres etapas temporales de desarrollo que progresan en sincronía con el desarrollo del cerebro y que se encuentran bajo circuitos reguladores distintos incluido el microbioma.

8.- EPÍLOGO

Al evocar el itinerario recorrido por la microglía rememoramos aquellos dibujos de los primeros pioneros. Verdaderamente, emociona contemplar la situación actual, plena de innovación y con nuevos retos a alcanzar. Cada día conocemos nuevas facetas sobre la función de la microglía, si bien, debemos aprovechar el nuevo conocimiento para prevenir y mejorar el curso de las enfermedades del SNC. Continuemos el camino emprendido hace ya más 100 años.

BIBLIOGRAFÍA RECOMENDADA

1. SIERRA A, PAOLICELLI RC, KETENMANN H (2019). Cien Años de Microglía: Milestones in a Century of Microglial Research. *Trends Neurosci* 42(11), 778-792.
2. PAOLICELLI RC, SIERRA A, STEVENS B, TREMBLAY ME, AGUZZI A, AJAMI B, et al., (2022). Microglia states and Nomenclature: A field at its crossroads. *Neuron* 110 (21) 3458-3483.
3. MECHA M, CARRILLO-SALINAS FJ, FELIÚ A, MESTRE L, GUAZA C (2016). Microglia activation states and cannabinoid system: Therapeutic Implications. *Pharmacol Ther* 166, 40-55.
4. MECHA M, YANGUAS-CASÁS N, FELIÚ A, MESTRE L, CARRILLO-SALINAS FJ, RIECKEN K, GOMEZ-NICOLA D, GUAZA C (2020). Involvement of Wnt 7 in the role of microglia in neural stem cell oligodendrogenesis. *J Neuroinflammation* 17 (1) 88.
5. MASUDA T, SANKOWSKI R, STASZEWSKI O, BÖTTCHER C, AMANN L, SAGAR SCHEIWE C, et al., (2019). Spatial and temporal heterogeneity of mouse and human microglia at single cell resolution. *Nature* 566 (7744), 388-392.
6. BORST K, DUMAS AA, PRINZ M. (2021). Microglia: Immune and non immune functions. *Immunity* 54 (10) 2194-2208.
7. THION MS, LOW D, SILVIN A, CHEN J, GRISEL P, SCHULTE-SCHREPPING J et al., (2018) Microbiome influences Prenatal and adult microglia in a sex specific manner. *Cell* 172 (3) 500-516.
8. LÓPEZ-ATALAYA JP, ASKEW KE, SIERRA A, GOMEZ-NICOLA D, (2018). Development and maintenance of the brain's immune toolkit: Microglia and non-parenchymal brain macrophages. *Dev. Neurobiol.* 78, 561-579. t