

**“Efecto de la activación de la señalización del
IFN- γ sobre los niveles de ISG15 en
células de microglía”**

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL TITULO DE LICENCIADA EN:

CIENCIAS GENÓMICAS

PRESENTA:

BRIANDA ABIGAIL BECERRIL SANDOVAL

DIRECTORA DE TESIS:

**DRA. ANGELES CONCEPCIÓN TECALCO
CRUZ**

CDMX, Febrero 2026

SISTEMA BIBLIOTECARIO DE INFORMACIÓN Y DOCUMENTACIÓN



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE LA CIUDAD DE MÉXICO COORDINACIÓN ACADÉMICA

RESTRICCIONES DE USO PARA LAS TESIS DIGITALES

DERECHOS RESERVADOS[©]

La presente obra y cada uno de sus elementos está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor; por la Ley de la Universidad Autónoma de la Ciudad de México, así como lo dispuesto por el Estatuto General Orgánico de la Universidad Autónoma de la Ciudad de México; del mismo modo por lo establecido en el Acuerdo por el cual se aprueba la Norma mediante la que se Modifican, Adicionan y Derogan Diversas Disposiciones del Estatuto Orgánico de la Universidad de la Ciudad de México, aprobado por el Consejo de Gobierno el 29 de enero de 2002, con el objeto de definir las atribuciones de las diferentes unidades que forman la estructura de la Universidad Autónoma de la Ciudad de México como organismo público autónomo y lo establecido en el Reglamento de Titulación de la Universidad Autónoma de la Ciudad de México.

Por lo que el uso de su contenido, así como cada una de las partes que lo integran y que están bajo la tutela de la Ley Federal de Derecho de Autor, obliga a quien haga uso de la presente obra a considerar que solo lo realizará si es para fines educativos, académicos, de investigación o informativos y se compromete a citar esta fuente, así como a su autor ó autores. Por lo tanto, queda prohibida su reproducción total o parcial y cualquier uso diferente a los ya mencionados, los cuales serán reclamados por el titular de los derechos y sancionados conforme a la legislación aplicable.

DERECHOS Y COLABORACIONES.

Este proyecto se llevó a cabo en el cubículo de la Dra. Angeles C. Tecalco Cruz del área de Ciencias Genómicas del Plantel del Valle y en el laboratorio 224N de la Dra. Marina Macías Silva del Instituto de Fisiología Celular (IFC)-UNAM. Fue apoyado por CCyT-UACM (UACM-CCYT-2025-CON-11).

LECTORES.

Dra. María Elizbeth Álvarez Sánchez

Dra. Lilia López Cánovas

Dr. Máximo Berto Martínez Benitez

AGRADECIMIENTOS ACADÉMICOS.

El presente trabajo se desarrolló bajo la dirección de la **Dra. Angeles C. Tecalco Cruz**, del Posgrado en Ciencias Genómicas de la Universidad Autónoma de la Ciudad de México (UACM). Este trabajo es parte de los proyectos de investigación del Colegio de Ciencias y Tecnología de la UACM, referencia **UACM-CCYT-2025-CON-11**.

Se agradece el apoyo técnico de:

- **Josué Orlando Ramírez Jarquín** (Instituto de Fisiología Celular - UNAM)
- **Marcela Sosa-Garrocho** (Instituto de Fisiología Celular - UNAM)
- **Nora Gabriela Velasco Loyden** (Instituto de Fisiología Celular - UNAM)

Se reconoce también el apoyo de las maestras en Ciencias Genómicas: Eva G. Palacios Sereno y Karen Medina Abreu, en la realización de este trabajo.

Se reconocen las valiosas observaciones y correcciones del jurado asignado conformado por:

PRESIDENTE	Dra. María Elizbeth Álvarez Sánchez
VOCAL	Dra. Lilia López Cánovas
SECRETARIO	Dra. Angeles C. Tecalco Cruz

AGRADECIMIENTOS PERSONALES.

Es más que evidente que esto se lo debo enormemente, a la Dra. Ángeles Tecalco, por todos los años de paciencia, prudencia y tolerancia, para con mi persona, por no rendirse jamás con mi trabajo y persistir que tengo que dar todo por el todo y llegar a la meta que me propuse.

Y agradezco infinitamente a todos los maestros y académicos que se han cruzado en mi vida, porque sin ellos, jamás hubiera llegado hasta aquí, Dios los bendiga ahora y siempre.

Pasaron muchos años y vi distante poderles escribir a las siguientes personas, pero por ellos, soy lo que soy.

A mi querido padre, que a pesar de la distancia y de tantas cosas que nos pasaron, sabe que lo amo con todo mi corazón, que de él he heredado ese carácter de bondad y de respeto, y que siempre va estar para mí. Gracias papá, por seguirme viendo como una niña.

A mi madre, por enseñarme a valirme por mí misma, a formar un camino y que puedo llegar muy lejos, agradezco todos nuestros buenos momentos, y por enseñarme a volar.

A mi hermano, que ha sido un cómplice, que sabe que lo apoyare en lo necesario y con lo que está en mis manos, que ojalá en mi encuentro un ejemplo de perseverancia; jamás olvides que tu hermana esta para ti siempre.

A mi familia paterna y materna, por darme un lugar en su hogar, por darme un lugar en su mesa, por darme risas, y momentos que me hicieron reflexionar todo lo que nos ofrece la vida, por tolerar mi carácter y mi modo de ser, gracias a cada uno de ustedes por ser mi familia.

A Fernando, por ser esa persona especial en mi vida, por estar presente desde que inicie con este trabajo y al fin concluirlo. Por ser un gran compañero en este camino, por apoyarme en cada momento , darme felicidad y complicidad.

Gracias a todos los amigos y personas que he conocido, porque sin ellos la vida y los momentos, no tendrían color, ni locura, donde quiera que estén, mil gracias.

También a esas personas, que ya no están, les agradezco los años que compartieron a mi lado, por verme crecer, por ver algún potencial en mí, donde quiera que se encuentren, gracias.

Y no olvidar mencionar jamás, a ese ser que siempre me ha escuchado, me ha guiado y me ha dado luz en todo el camino de mi vida, por creer cada segundo en mí sin juzgarme, ni cuestionarme, por recordarme que soy humana, y que lo que guardo en mi corazón es valioso. Gracias Dios.

CONTENIDO.

RESUMEN.	1
INTRODUCCIÓN.	2
I. EL SISTEMA NERVIOSO CENTRAL (SNC).	2
1.1 Partes del <i>encéfalo</i>	2
1.2 La <i>médula espinal</i>	5
1.3 Camino ascendente hacia el <i>cerebro</i>	7
II. EL SISTEMA NERVIOSO PERIFÉRICO (SNP).	8
III. LAS CÉLULAS DEL SISTEMA NERVIOSO.	9
3. LAS NEURONAS.	9
3.1 <i>Morfología de las neuronas</i>	10
3.2 <i>Clasificación estructural y funcional de las neuronas</i>	11
IV. LA NEUROGLÍA.	12
4.1 <i>Cronología de los primeros indicios de la neuroglía</i>	13
4.2 <i>Tipos de neuroglía</i>	13
4.3 <i>Funciones principales de la neuroglía</i>	16
4.4 <i>Neuroglía y enfermedad</i>	17
V. GENERALIDADES DE LA MICROGLÍA.	18
5.1 <i>M1 y M2, los fenotipos funcionales de la microglía</i>	19
V.I Microglía M1 (<i>activación clásica, reposo, apagado, neurotóxica, proinflamatoria</i>).	22
V.II Microglía M2 (<i>activación alternativa, activada, encendida, neuro protectora, antiinflamatoria</i>).	23
5.2 <i>Subconjuntos funcionales de microglía</i>	25
5.3 <i>Panorama histórico de la microglía</i>	26
VI. FUNCIONES DE LA MICROGLÍA.	27
6.1 <i>Fagocitosis (eliminación de desechos)</i>	27
6.2 <i>Mantenimiento de la homeostasis</i>	27
6.3 <i>Inflamación y reparación de daños</i>	28
6.4 <i>Presentación de antígenos</i>	28
6.5 <i>Destrucción de células (citotoxicidad)</i>	28
VII. CORRELACIONES CLÍNICAS, ENFERMEDADES Y TRASTORNOS NEURODEGENERATIVOS CON LA MICRO- GLÍA.	29
7.1 <i>Trastornos neurodegenerativos</i>	32
7.2 <i>La activación persistente de la microglía en estos trastornos puede reflejar una respuesta inmune innata a la acumulación de proteínas mal plegadas, degeneración neuronal, o ambos</i>	33

ANTECEDENTES.	34
1. DESCRIPCIÓN GENERAL DEL IFN- γ	34
1.1 <i>Vía de señalización del IFN-γ</i>	35
1.2 <i>Mecanismo de señalización</i>	35
1.3 <i>Genes estimulados por IFN-γ</i>	39
2. LA PROTEÍNA ISG15 Y LA MODIFICACIÓN POSTRADUCCIONAL DE ISGILACIÓN.	40
2.1 <i>Proceso de ISGilación</i>	41
2.2 <i>Recorrido histórico de ISG15</i>	42
2.3 <i>ISG15 libre y la ISGilación, un arma de doble filo</i>	43
3. IFN- γ , ISG15 y LA microglía.	47
III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.	51
IV. HIPÓTESIS.	51
V. OBJETIVO GENERAL.	51
VI. OBJETIVOS PARTICULARES.	51
VII. ESTRATEGIA EXPERIMENTAL.	52
1. CULTIVO/LÍNEA CELULAR HMC3.	53
2. FRACCIONAMIENTO CELULAR.	54
3. WESTERN BLOT (IMMUNOBLOTTING).	55
4. INMUNOFUORESCENCIA.	56
5. ANÁLISIS DE VIABILIDAD MEDIANTE COLORANTES FLUORESCENTES	57
6. ANÁLISIS <i>In Silico</i> "The Human Protein Atlas"	57
VIII. RESULTADOS.	59
IX. DISCUSIÓN.	71
X. CONCLUSIÓN.	73
XI. PERSPECTIVAS.	74
XII. REFERENCIAS.	75

INDICE DE FIGURAS.

Figura 1. Sistema Nervioso Central (SNC).	2
Figura 2. El sistema límbico.	3
Figura 3. El cerebro.	3
Figura 4. Los hemisferios cerebrales.	4
Figura 5. Anatomía de la médula espinal.	5
Figura 6. Segmentos de la médula espinal.	6
Figura 7. Materia blanca y materia gris del cerebro.	6
Figura 8. El Sistema Nervioso Periférico (SNP).	8
Figura 9. Estructura de una neurona.	9
Figura 10. Morfología de la neurona.	10
Figura 11. Tipos de neuronas de acuerdo con su estructura y su función.	11
Figura 12. La diversidad de células del SNC.	12
Figura 13. Tipos de células gliales que se encuentran en el SNC y SNP.	15
Figura 14. La microglía en el cerebro.	20
Figura 15. M1 y M2, los fenotipos principales de la microglía.	21
Figura 16. La fisiología de los fenotipos M1 y M2 de la microglía.	24
Figura 17. Funciones de la microglía en el Sistema Nervioso Central (SNC).	29
Figura 18. La microglía es el centro de algunas enfermedades neurodegenerativas.	32
Figura 19. Cascada de señalización del IFN- γ	38
Figura 20. Estructura de ISG15.	40
Figura 21. Cascada de conjugación de ISG15.	42
Figura 22. Funciones de ISG15 libre y conjugado.	46
Figura 23. Células HMC3.	53
Figura 24. Distribución de la proteína ISG15 en regiones cerebrales.	59
Figura 25. Cortes transversales del cerebro nos permiten una mejor identificación de ISG15.	60
Figura 26. Visualización lateral y cortes transversales del cerebro de ratón.	62
Figura 27. Resultados de la expresión de ISG15 en células de HMC3.	64
Figura 28. Resultados del análisis de la morfología de la microglía por estimulación de IFN- γ	66
Figura 29. Resultados del ensayo de vida o muerte.	67
Figura 30. Western Blot de la presencia de ISG15 en células gliales a partir de la estimulación por IFN- γ	68
Figura 31. Resultados de la inflorescencia en células HMC3 y la expresión de ISG15 libre, a partir de la estimulación por IFN- γ	69

ÍNDICE DE TABLAS.

Tabla 1. Características de materia blanca y materia gris.	7
Tabla 2. Las primeras investigaciones de la neuroglia.	13
Tabla 3. Cronología de la investigación de la microglía.	26
Tabla 4. Cronología de la investigación sobre ISG15.	42

ÍNDICE DE GRAFICAS.

Gráfica 1. Expresión de ISG15 en regiones cerebrales.	60
Gráfica 2. Consenso de datos en 13 regiones cerebrales con respecto a ISG15.	61
Gráfica 3. Expresión del genotipo respecto al tejido cerebral.	61
Gráfica 4. Análisis de la capacidad de la expresión génica por FANTOM5.	61
Gráfica 5. Conjunto de datos de ratón HPA.	62
Gráfica 6. El ISH del cerebro del ratón Allen.	62
Gráfica 7. Monocitos y microglía en el humano.	70
Gráfica 8. Comparación de la expresión de ISG15, a partir de RNA-seq entre el conjunto de células gliales y de SNC.	71
Gráfica 9. Respuesta de la microglía a la lesión isquémica transitoria.	72

ABREVIATURAS.

ADN: Ácido desoxirribonucleico

APC: Células presentadoras de antígenos

ARN: Ácido ribonucleico

ARNm: ARN mensajero

AT: Ataxia Telangiectasia

ATP: Trifosfato de adenosina

BDNF: Factor neurotrófico derivado del cerebro

BHE: Barrera hematoencefálica

CCL2: Ligando 2 de quimiocina con motivo CC

COVID-19: Coronavirus 2019

CSF-1 Factor estimulante de colonias de macrófagos

DAMP: Patrones moleculares asociados a daño

EA: Enfermedad de Alzheimer

EH: Enfermedad de Huntington

ELA: Esclerosis lateral amiotrófica

EP: Enfermedad de Parkinson

FGF: Factor de crecimiento de fibroblastos

GAF: Factor activado por Gamma

GAS: Sitio activado por Gamma

GDNF: Factor neurotrófico derivado de células gliales

GTEX: Expresión Genotipo-Tisular

HMC3: Clon 3 de microglia humana

Hsp60: Proteína de choque térmico de 60 kda

IFNGR: Receptor de IFN- γ

IFN- β : Interferon Beta

IFN- γ : Interferón Gamma

IGF-1: Factor de crecimiento similar a la insulina tipo 1

IL: Interleucina

IMS: Espacio intermembrana mitocondrial

iNOS: Óxido nítrico sintasa inducible

ISG: Gen estimulado por interferón

ISG15: Gen de 15 kda estimulado por interferón

JAK: (1 y 2) del Ingles Janus Kinasa

KDa: Kilo Daltones

KO: *Knockout*

Krpm:Kilorevoluciones por minuto

LCR: Líquido Cefalorraquídeo

LFA-1: Antígeno 1 asociado a la función leucocitaria

LMP2: Proteína de membrana latente 2

Log2: Logaritmo en base 2

LPS: Lipopolisacáridos

MHC II: Complejo mayor de histocompatibilidad clase II

MSA: Atrofia multisistémica

MSMD: Susceptibilidad mendeliana a la enfermedad micobacteriana

MX-1: Proteína de resistencia a Myxovirus-1

NADPH: Nicotinamida adenina dinucleótido fosfato reducido

NF-ATp: Factor nuclear de células T activadas

NF-kB Factor nuclear kappa B

NGF: Factor de crecimiento derivado de nervios

NO: Óxido nítrico

NX:Expresión Normalizada

P2Y12: Inhibidores de receptor plaquetario

PAMP: Patrones moleculares asociados a patógenos

PBMC: Células mononucleares de sangre periférica

PBS: Tampon de Fosfato Salino

PFA: Paraformaldehído

pTPM: Transcripciones codificantes de proteínas por millón

PVDF: Fluoruro de polivinilideno

RAGE: Receptor de productos finales de glicación avanzada

RIPA Radioinmunoprecipitación

ROS: Especies reactivas de oxígeno

SARS-cov-2: Síndrome Respiratorio Agudo Grave Coronavirus 2

SDS: Lauril sulfato sódico o dodecil sulfato sódico

shRNA: ARN de horquilla corta

siRNA: ARN pequeño de interferencia

SNA: Sistema Nervioso Autónomo

SNC: Sistema Nervioso Central

SNP: Sistema Nervioso Periferico

SNS: Sistema Nerviso Somático

STAT: (1 y 2) del Ingles Signal Transducer and Activator of Transcription

SV40: Virus 40 vacuolado del simio o virus simio 40

TCE: Traumatismo craneoencefálico

TGF- β : Factor de crecimiento transformante beta

Th: Linfocitos T helper

TLR: Receptores tipo Toll

TLTF: Factor desencadenante de linfocitos tripanosoma

TMM: Media Recortada de valores M

TNF- α : Factor de necrosis tumoral alfa

TPM: Transcripciones por millón

TREM2: Receptor desencadenante expresado en células mieloides 2

UCRP: Proteína reactiva cruzada de ubiquitina

RESUMEN.

El interferón gamma (IFN- γ) es una citocina crucial para la homeostasis. La vía de señalización del IFN- γ se basa en la activación del sistema JAK/STAT, particularmente JAK1/2 y STAT1. La unión de IFN- γ a su complejo receptor resulta en la fosforilación y dimerización de STAT1, para su posterior enriquecimiento dentro del núcleo y unión a regiones regulatorias para modular la expresión de genes blanco del IFN- γ . ISG15 (Gen de 15 KDa estimulado por interferón) codifica una proteína similar a la ubiquitina, y su conjugación covalente a proteínas sustrato se denomina ISGilación, un proceso análogo a la ubiquitinación. Aunque en cáncer de mama y glioblastoma, el IFN- γ incrementa la expresión de ISG15, no se ha evidenciado este efecto en otros tipos celulares, entre ellos la microglía. La microglía es central en la homeostasis cerebral, pero su activación desregulada puede contribuir a neuropatologías.

En este trabajo, evaluamos los niveles de ISG15 en líneas celulares derivadas de microglía y tumores gliales, y su modulación por IFN- γ . Así mismo, analizamos la distribución subcelular en células de microglía y el efecto del IFN- γ sobre su localización, morfología y viabilidad celular. Además, analizamos la expresión de ISG15 en microglía obtenida de un modelo de isquemia murino en comparación con una condición no isquémica. Los resultados sugieren que IFN- γ induce la expresión de ISG15 en células de microglía. Se observó que IFN- γ no afecta la viabilidad de este tipo de células, pero sí induce cambios morfológicos que sugieren su activación. La detección de ISG15 se incrementa en el citoplasma en respuesta al IFN- γ . Interesantemente, la expresión de ISG15 se incrementa y parece estar asociada con un fenotipo isquémico. Por lo tanto, un eje de regulación de IFN- γ /ISG15 podría ser crítico en la activación de microglía y neuropatologías como la isquemia.

INTRODUCCIÓN.

I. EL SISTEMA NERVIOSO CENTRAL (SNC).

El SNC, es un conjunto de nervios y masas del cual presiden las funciones de todas las partes del organismo, formado por dos estructuras que se conectan entre sí: el encéfalo y la médula espinal. Ambos están recubiertos por tres capas de meninges que los protegen, y se encuentran resguardados dentro de estructuras óseas: el encéfalo en el cráneo y la médula espinal en la columna vertebral (Figura 1). El encéfalo incluye el cerebro, las estructuras subcorticales, el tronco encefálico y el cerebelo. Por su parte, la médula espinal se prolonga hacia abajo desde el tronco encefálico y recorre el conducto vertebral (Torres A., 2023).

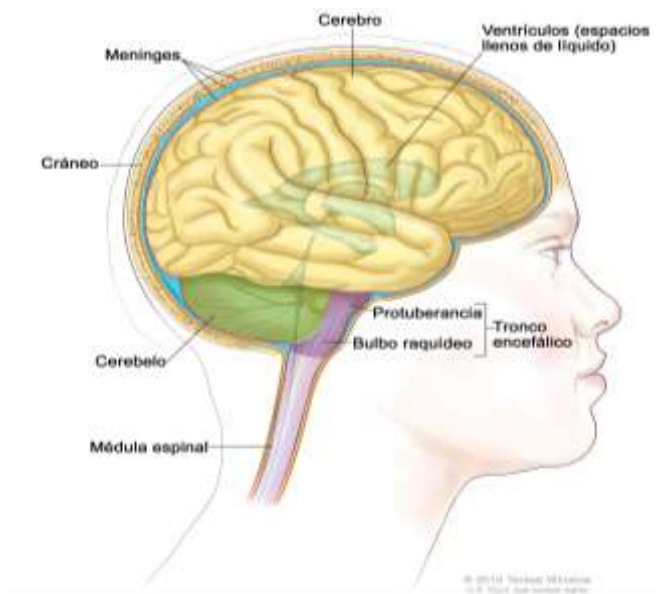


Figura 1. Sistema Nervioso Central (SNC): compuesto por el encéfalo y la médula espinal; esta encargada de la relación con el exterior y el control de las funciones corporales, estando protegido por estructuras óseas y membranas. (Tomado de NCI-NIH).

1.1 Partes del encéfalo.

A. El sistema límbico: es un conjunto de estructuras cerebrales complejas e interconectadas, situadas alrededor del tálamo y por debajo de la corteza cerebral. Su principal función es regular las emociones y el comportamiento. Incluye componentes fundamentales para la vida afectiva, que colaboran con otras áreas del cerebro en el procesamiento de la memoria, los pensamientos y las motivaciones. Entre estas estructuras se encuentran el hipotálamo, el hipocampo, la amígdala y otras cuatro regiones relacionadas (Figura 2) (Pérez E., 2017).

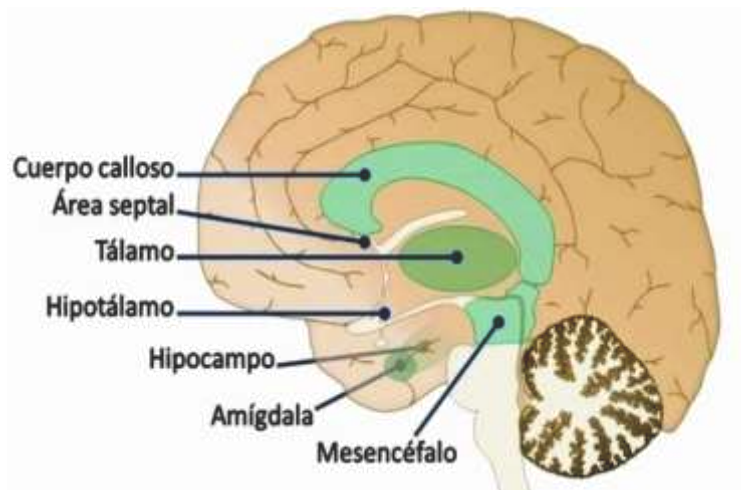


Figura 2. El sistema límbico: conjunto de estructuras cerebrales que juega un papel crucial en la regulación de las emociones, la memoria y el comportamiento. (Tomado de “El sistema límbico y las áreas relacionadas”, Pérez E. 2017).

B. Cerebro: Es un órgano complejo que regula todo lo que haces, como tus sentidos, emociones, pensamientos, recuerdos, movimientos y comportamiento (Figura 3). Incluso controla procesos inconscientes, como la respiración, la temperatura corporal y la frecuencia cardíaca. Está compuesto por un sistema que funciona enviando y recibiendo información entre las células nerviosas, llamadas “*neuronas*”. Luego, traduce esta información a un lenguaje que tu cuerpo puede entender, para que puedas funcionar correctamente (Nava Segura J., 2017).

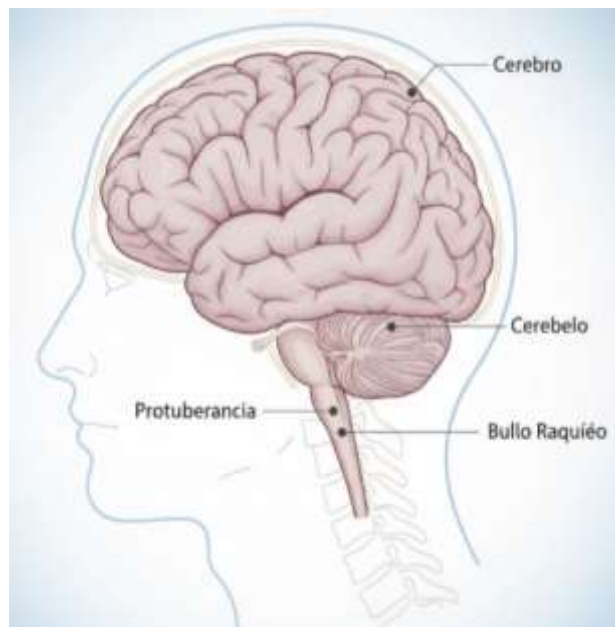


Figura 3. El cerebro: es la parte del sistema nervioso central que está contenido en el cráneo y se compone de cerebro, cerebelo, protuberancia y bulbo raquídeo.

De manera general se divide en dos hemisferios (Figura 4):

1. **El hemisferio izquierdo del cerebro:** El lado izquierdo del cerebro controla al lado derecho del cuerpo. Se encarga principalmente de controlar los movimientos y sensaciones del lado derecho del cuerpo. Las personas que tienden a usar más este hemisferio suelen mostrar facilidad en áreas como las matemáticas, la lógica y las ciencias, y un enfoque más estructurado en su forma de aprender y resolver problemas (Nava Segura J., 2017).
2. **El hemisferio derecho del cerebro:** El lado derecho del cerebro controla el lado izquierdo del cuerpo y está relacionado con funciones más intuitivas, creativas y emocionales (Figura 4). En Este hemisferio predominan actividades visuales, artísticas y musicales, así como en la comprensión emocional y el pensamiento holístico. (Nava Segura J., 2017).



Figura 4. Los hemisferios cerebrales: son las dos mitades, en las que se divide el cerebro humano. Cada hemisferio tiene funciones específicas y trabajan de manera interconectada para llevar a cabo una amplia gama de funciones cognitivas, motoras y sensoriales. (Tomado de “Estructuras que componen el Sistema Nervioso”, 2016).

C. Cerebelo: Esta estructura se encuentra ubicada en la parte posterior e inferior del cerebro, el cerebelo ha sido tradicionalmente reconocido por su papel en el control del equilibrio, la postura y la coordinación de los movimientos musculares.

Participa activamente en procesos cognitivos como la planificación, la atención y la toma de decisiones, conocidos como funciones ejecutivas. Además, contribuye a la regulación del tiempo y la sincronización de las respuestas emocionales (Hirsch L., 2022).

D. Bulbo raquídeo: Es la parte más inferior del tronco encefálico. Regula las actividades autónomas relacionadas con las funciones cardíacas, respiratorias, reflejas y vasomotoras. El bulbo raquídeo recibe irrigación de las arterias cerebelosas inferiores y la arteria espinal anterior (Hirsch L., 2022).

1.2 La médula espinal.

Es una estructura fundamental del sistema nervioso central (SNC), situada dentro del conducto vertebral, el cual está conformado por las porciones posteriores y los cuerpos vertebrales de las vértebras cervicales, torácicas, lumbares, sacras y coccígeas (Figura 5). Anatómicamente, la médula espinal actúa como un eje de comunicación bidireccional entre el encéfalo y las estructuras periféricas del cuerpo, permitiendo la transmisión de impulsos nerviosos motores, sensitivos y autónomos. Además, es el centro integrador de numerosos reflejos espinales, los cuales no requieren la intervención cortical para su ejecución (Serrano C, 2023).

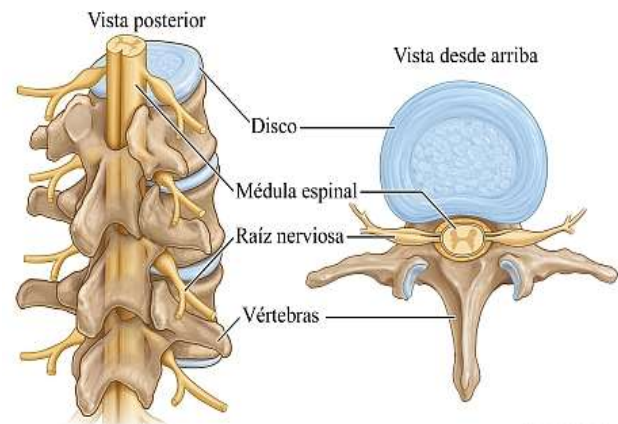


Figura 5. Anatomía de la medula espinal
(Tomado de Healthwise, 2016).

La médula espinal se organiza en segmentos bien definidos: cervical, torácico, lumbar, sacro y coccígeo. A partir de estos segmentos emergen 31 pares de nervios espinales a través de los forámenes intervertebrales (Figura 6) : 8 cervicales, 12 torácicos, 5 lumbares, 5 sacros y 1 coccígeo (Serrano C, 2023).

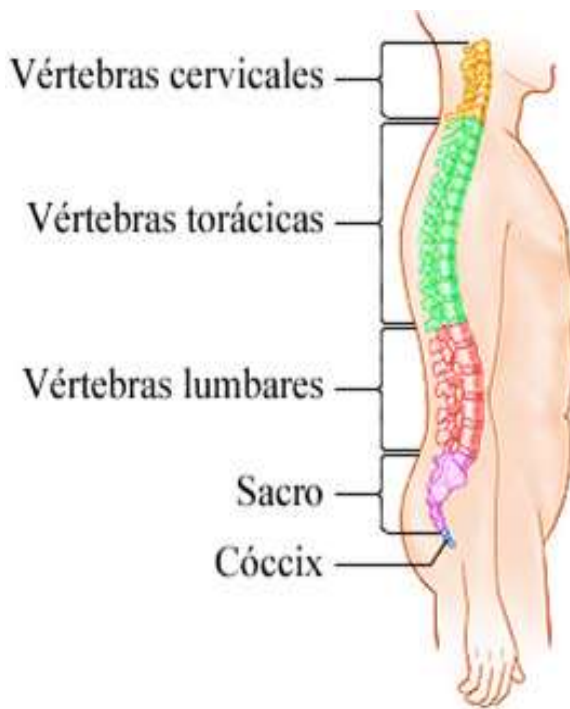


Figura 6. Segmentos de la médula espinal (Tomado de Healthwise, 2016). La médula espinal, es una estructura larga y cilíndrica que se encuentra dentro de la columna vertebral y es parte del sistema nervioso central. (Tomado de Healthwise, 2016).

Al igual que el resto del sistema nervioso central, la médula espinal está conformada por dos tipos fundamentales de tejido nervioso. La materia gris se localiza centralmente y está compuesta predominantemente por somas neuronales, interneuronas y células gliales, lo que le confiere su color característico. En contraste, la materia blanca rodea a la materia gris y está constituida principalmente por axones mielinizados, organizados en haces o tractos, que permiten la conducción rápida de impulsos nerviosos a lo largo de distintas regiones del sistema nervioso (Figura 7), (Serrano C, 2023).

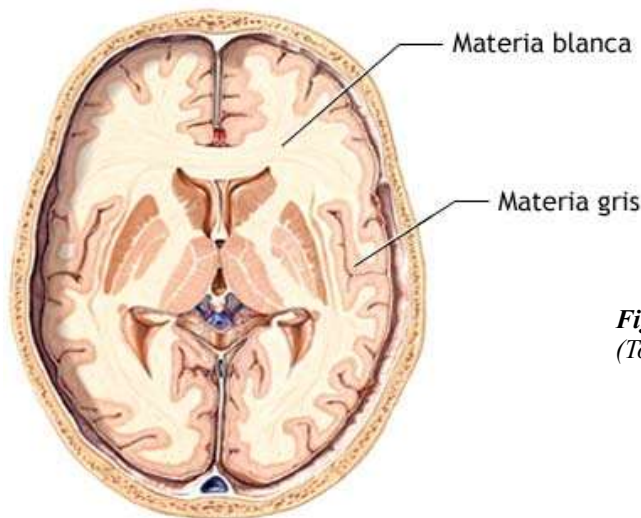


Figura 7. Materia blanca y materia gris del cerebro, (Tomado y modificado de Medline Plus, 2024).

Tabla 1. Características de Materia blanca y materia gris, (Tomado y modificado de Khan Academy, 2024).

Características.	Materia gris	Materia blanca
<i>Componentes</i>	Cuerpos celulares neuronales y dendritas.	Axones mielinizados y amielínicos.
<i>Color</i>	Colorada por los cuerpos celulares neuronales.	Colorada por la mielina, una cubierta protectora de los axones.
<i>Ubicación</i>	En la superficie del cerebro (cortical).	En los tejidos más profundos del cerebro (subcorticales).
<i>Función</i>	Procesamiento de la información.	Conexión entre áreas de materia gris y entre la materia gris y el resto del cuerpo.

1.3 Camino ascendente hacia el cerebro.

Las vías ascendentes, también denominadas vías aferentes somatosensoriales, comprenden los trayectos neuronales responsables de conducir información sensitiva desde la periferia corporal hacia los centros superiores del sistema nervioso central, particularmente el encéfalo. Estas vías resultan esenciales para la percepción consciente del entorno y para la integración de estímulos táctiles, nociceptivos, térmicos y propioceptivos. El procesamiento sensorial inicia con las neuronas de primer orden, cuyos cuerpos celulares se encuentran en los ganglios espinales dorsales. Estas neuronas reciben estímulos provenientes de receptores cutáneos y propioceptores musculares o articulares, y proyectan sus axones hacia la médula espinal, donde establecen sinapsis con neuronas de segundo orden ubicadas en la asta dorsal (Thau L, Reddy V, Singh P., 2022).

Las neuronas de segundo orden transmiten la información hacia estructuras superiores como el tálamo o, en algunos casos, directamente al cerebelo, dependiendo de la modalidad sensitiva implicada. Finalmente, las neuronas de tercer orden, localizadas en el tálamo, proyectan hacia la corteza somatosensorial primaria del lóbulo parietal, donde la información sensitiva es interpretada de manera consciente. Entre las modalidades sensoriales que viajan a través de estas vías se encuentran el tacto fino y grueso, la presión, el dolor, la temperatura, así como la propiocepción consciente del cuerpo en el espacio (Thau L, Reddy V, Singh P., 2022).

II. EL SISTEMA NERVIOSO PERIFÉRICO (SNP).

Está formado por todos los nervios craneales y espinales, así como por los ganglios asociados, los cuales se originan a partir del encéfalo y la médula espinal. Su principal función es establecer una vía de comunicación bidireccional entre el sistema nervioso central (SNC) y los órganos, tejidos y receptores periféricos (Figura 8). Desde el punto de vista funcional y estructural, el SNP se divide en dos componentes principales (Clínica Universidad de Navarra, 2023):

1. **El Sistema Nervioso Somático (SNS):** es responsable de transmitir información sensorial desde los receptores periféricos hacia el SNC. Este sistema permite la percepción consciente del entorno y posibilita la ejecución de movimientos voluntarios.
2. **El Sistema Nervioso Autónomo (SNA):** regula funciones corporales involuntarias, tales como la frecuencia cardíaca, la respiración, la digestión y el diámetro pupilar. A su vez, se subdivide en dos ramas: el sistema nervioso simpático y el sistema nervioso parasimpático.

La funcionalidad del SNP es esencial para la supervivencia y el bienestar del organismo. Debido a su capacidad para transmitir señales entre el SNC y el resto del cuerpo, participa en múltiples procesos: desde la percepción de estímulos externos hasta la regulación de funciones viscerales. En conjunto, sus acciones aseguran una adaptación eficiente del organismo a su entorno (Clínica Universidad de Navarra, 2023).

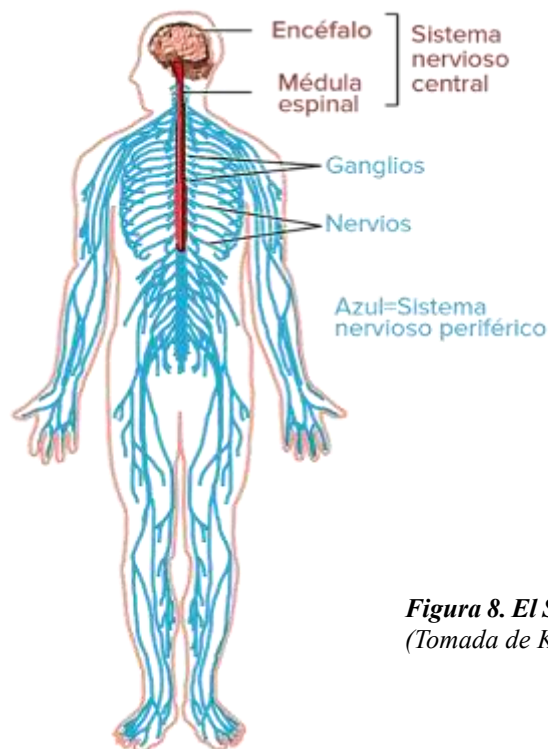


Figura 8. El Sistema Nervioso Periférico (SNP):
(Tomada de Khan Academy, 2020).

III. LAS CÉLULAS DEL SISTEMA NERVIOSO.

3. LAS NEURONAS.

Son células especializadas que conforman la unidad funcional del sistema nervioso central y periférico. Su principal función es la transmisión de señales eléctricas y químicas para permitir la comunicación entre distintas regiones del cuerpo y el sistema nervioso central, que son células especializadas que constituyen la unidad estructural y funcional básica del sistema nervioso, tanto central como periférico (Figura 9), (Woodruff A., 2024).

Desde el punto de vista morfológico, las neuronas presentan dos tipos principales de prolongaciones: dendritas y axones. Las dendritas, que suelen ser cortas y ramificadas, están especializadas en la recepción de señales provenientes de otras neuronas. En contraste, el axón es una prolongación única y generalmente más larga, encargada de transmitir impulsos nerviosos desde el cuerpo celular (soma) hacia otras células, ya sean neuronas o células efectoras, como las fibras musculares (Woodruff A.,2024).

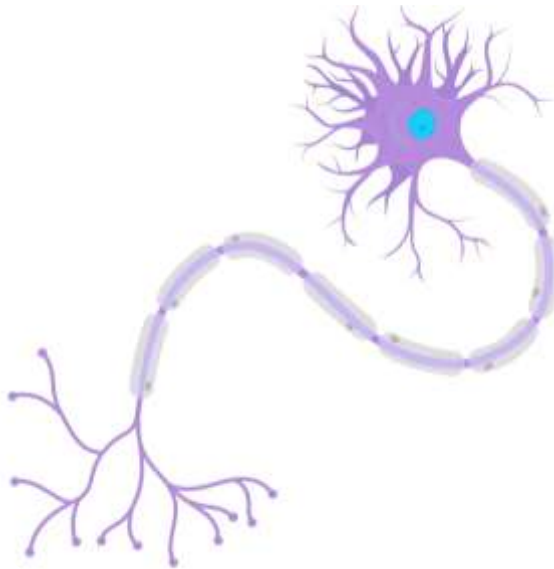


Figura 9. Estructura de una neurona: Tipo de célula que recibe y envía mensajes entre el cuerpo y el encéfalo. Los mensajes se envían por medio de una corriente eléctrica débil. También se llama célula nerviosa, neurocito y neurón. (Tomada de “The Conversation-UK”, 2020).

La comunicación entre neuronas no ocurre de manera aislada, sino a través de redes o circuitos neuronales, formados por grupos de neuronas interconectadas. Esta interconexión ocurre mediante estructuras altamente especializadas denominadas sinapsis, que permiten la transmisión de señales eléctricas o químicas entre las membranas celulares de las neuronas.

Algunas neuronas están especializadas en establecer sinapsis con células musculares, formando lo que se conoce como uniones neuromusculares o placas motoras. Estas estructuras son esenciales para la activación de los músculos esqueléticos y, por tanto, para la ejecución del movimiento voluntario (Mayo Clinic, 2024).

3.1 Morfología de las neuronas.

Las neuronas presentan una morfología altamente especializada y variable, siendo consideradas las células más complejas del organismo. Su estructura general se divide en tres regiones principales: soma, dendritas y axón (Figura 10).

El soma, o cuerpo celular, actúa como el centro metabólico de la neurona. Alberga los organelos esenciales para la síntesis de proteínas y otras funciones vitales, como el retículo endoplasmático rugoso (encargado de la producción proteica) y el núcleo, que contiene el ADN y regula la actividad genética de la célula (Megías M, Molist P, Pombal MA., 2023).

Las dendritas son extensiones ramificadas que se proyectan desde el soma y que, en ciertos tipos neuronales, pueden alcanzar una gran complejidad. Estas estructuras están especializadas en la recepción de señales sinápticas, y su dirección de conducción es centrípeta, es decir, llevan la información desde la periferia hacia el soma (Megías M, Molist P, Pombal MA., 2023).

El axón es una prolongación tubular de longitud variable, cuya función es transmitir el impulso nervioso desde el soma hacia otras neuronas o células efectoras. Presenta conducción centrífuga y, en neuronas de trayecto largo, suele estar recubierta por una vaina de mielina que facilita la conducción rápida del impulso. (Megías M, Molist P, Pombal MA., 2023).

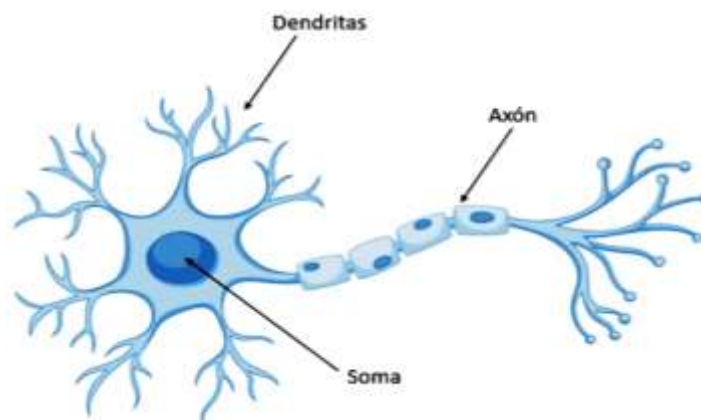


Figura 10. Morfología de la neurona: (Tomada de la publicación del Dr. Morales J.A., 2021).

3.2 Clasificación estructural y funcional de las neuronas.

Dependiendo de la estructura, así como de las funciones de la neurona, de su morfología y del número de prolongaciones que se extienden de estas, las neuronas se clasifican en (Cinthia Serrano, 2024).

1. **Unipolar-sensorial:** se caracteriza por presentar una única prolongación que emerge del soma, la cual luego se bifurca en una rama periférica y una rama central. Su función principal es captar estímulos del entorno externo e interno y conducir esta información hacia el sistema nervioso central para su procesamiento (Figura 11), (Serrano C., 2024).
2. **Bipolar-motora:** posee dos prolongaciones que emergen del cuerpo celular: una dendrita y un axón. Estas neuronas se localizan en estructuras sensoriales especializadas como la retina (capa de neuronas bipolares), el epitelio olfatorio y los ganglios vestibulares y cocleares del oído interno. Están involucradas en la transmisión de información sensorial específica, como la visión, el olfato y el equilibrio (Figura 11), (Serrano C., 2024).
3. **Multipolar-interneurona:** es el tipo de neurona más abundante en el sistema nervioso central. Se caracteriza por tener múltiples dendritas y un único axón. Participa en la integración y transmisión de señales dentro del SNC, actuando como puente entre neuronas sensoriales, interneuronas y motoras. Ejemplos representativos incluyen las neuronas motoras de la médula espinal, las neuronas piramidales de la corteza cerebral y las neuronas ganglionares viscerales (Figura 11), (Serrano C., 2024).

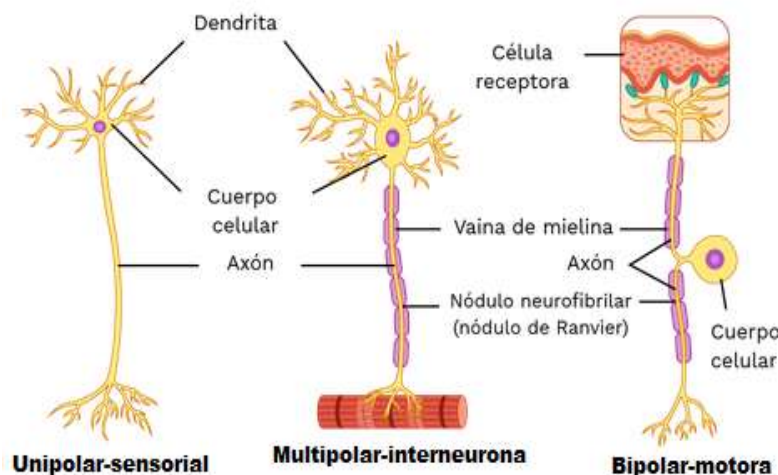


Figura 11. Tipos de neuronas de acuerdo a su estructura y su función: (Tomado y modificado de Labster.com., 2021).

IV. LA NEUROGLÍA.

El término “neuroglía” proviene del griego "neuro" (nervio) y "glía" (pegamento), lo que refleja su función inicialmente entendida como un soporte estructural para las neuronas. La neuroglía, o células gliales, constituye un grupo celular esencial dentro del sistema nervioso, cuya función principal es brindar soporte estructural, protección y sustento metabólico a las neuronas (Figura 12). Aunque no participan directamente en la conducción de impulsos eléctricos, ya que carecen de la capacidad para generar potenciales de acción debido a las propiedades de su membrana, su papel resulta crucial para el funcionamiento integral tanto del sistema nervioso central (SNC) como del periférico (SNP). Tradicionalmente se las ha considerado como células auxiliares, encargadas únicamente de mantener el ambiente neuronal (Pan S., 2024).

Sin embargo, investigaciones recientes han demostrado que durante el desarrollo del sistema nervioso, la neuroglía interviene en procesos clave como la proliferación, migración y diferenciación de precursores neuronales, así como en la sinaptogénesis y la mielinización. (F.W. Pfrieger., 2002). En el SNC adulto, las células gliales también son capaces de modular la actividad sináptica, regulando la intensidad de las respuestas postsinápticas y coordinando la comunicación entre redes neuronales, lo que evidencia su participación activa en el procesamiento de la información (Miller G.,2005).

Hoy en día, se reconoce que la neuroglía desempeña múltiples roles, incluyendo la regulación del entorno neuronal, que participan en procesos esenciales como la modulación sináptica, la formación de mielina y la respuesta a lesiones, la reparación de tejidos dañados y la defensa inmunológica del sistema nervioso (Parker E. Ludwig; Joe M. Das, 2023).

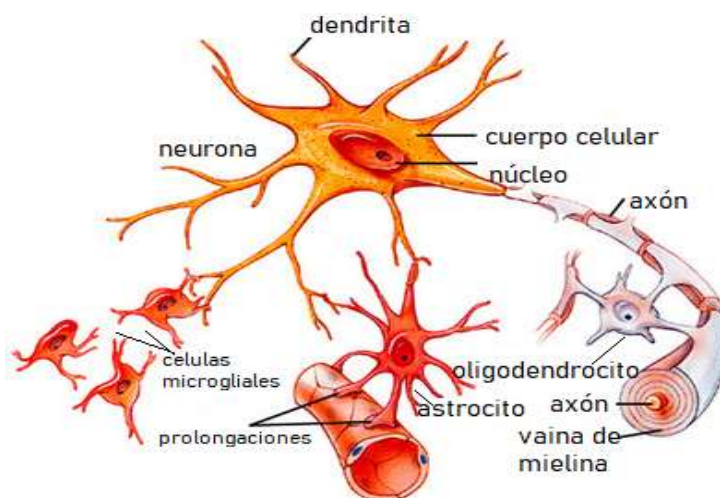


Figura 12. La diversidad de células del SNC (Tomado microbiologiaitalia, 2022).

4.1 Cronología de los primeros indicios de la neuroglia.

El conocimiento de la neuroglia tiene sus principios desde 1856, cuando Rudolf Virchow la denominó “nevernitt”, que significa “pegamento nervioso”, y las describió como: “*una población de células distintas de las neuronas*”, abriendo paso a un campo diferenciado del estudio del SNC y las mismas neuronas (Kettenmann H., Ugursu B., et al., 2025).

Año (s)	Evento
1856/1858	Rudolf Virchow define y publica la primera imagen de la neuroglia.
1893	Gustav Retzius estudió sistemáticamente las células gliales en todas las clases de vertebrados. específicamente los géneros <i>Myxine</i> (pez brujo) y <i>Petromyzon</i> (lamprea). A partir de ello se publicaron varios ensayos sobre la neuroglia: “Estudios sobre epéndimo y neuroglia” “La neuroglia del cerebro en humanos y mamíferos” “Células de soporte de la médula espinal”
1895	Michael von Lenhossek publicó: “La estructura detallada del sistema nervioso a la luz de las últimas investigaciones
1895	Carl Weigert desarrolló un método de tinción que marcaba fibras y núcleos en el tejido cerebral humano. Afirmó que esta estructura fibrosa representaba la neuroglia. De esta investigación publico: "Sobre el conocimiento de la neuroglia humana normal" (se acuña el termino astro-cito)
1903/1905	Hans Held, publicó un libro sobre neuroglía titulado "La estructura de la neuroglía"/También estudió y describió las células gliales de la sanguijuela.
1960	Después de décadas de investigación se confirma que los oligodendrocitos son los formadores de mielina, generando así un soporte metabólico.

Tabla 2. Las primeras investigaciones de la neuroglia, (Información tomada de “The Concept of Neuroglia” 2025).

4.2 Tipos de neuroglia.

La neuroglia, se clasifica en distintos tipos según su localización y función. En el sistema nervioso central, cada categoría contiene diversos tipos de células , cada una de las cuales desempeña funciones únicas y vitales en el sistema nervioso central (SNC) y el sistema nervioso periférico (SNP), (Figura 13), (Kettenmann H., Ugursu B., et al., 2025).

- **La neuroglía en el Sistema Nervioso Central (SNC) (Figura 13).**

- **Los oligodendrocitos:** Estas células son responsables de producir la vaina de mielina que aísla los axones neuronales, mejorando la velocidad de transmisión de señales eléctricas. Estas se alinean a lo largo de las fibras nerviosas en el SNC y en la sustancia blanca (Pan S., 2024).
- **Los astrocitos:** Son células gliales de morfología estrellada, caracterizadas por sus prolongaciones finas y ramificadas que establecen contacto tanto con neuronas como con vasos sanguíneos. Su función principal es proporcionar soporte estructural a las neuronas y anclarlas a las fuentes de aporte nutricional, participando activamente en el intercambio de sustancias entre los capilares y el tejido nervioso. Desempeñan un papel fundamental en la homeostasis del microambiente extracelular, regulando la concentración iónica y reciclando neurotransmisores liberados durante la actividad sináptica. Los astrocitos también contienen glucógeno, que se descompone y se libera como lactato, que es un nutriente neuronal, durante la actividad neuronal (Pan S., 2024).
- **Las células endodimales:** Estas células que recubre los ventrículos del SNC y el canal central de la medula espinal, y se subdividen en:
 - I. **Los endodimocitos** promueven el movimiento de sustancias entre las neuronas y el líquido cefalorraquídeo (LCR).
 - II. **Los tanicitos** responden a los cambios hormonales en la sangre, influyendo en diversas funciones fisiológicas.
 - III. **Las células epiteliales coroideas** regulan la composición química del LCR.
- **La microglía:** Son pequeñas células fagocíticas flexibles que actúan como defensores inmunes del sistema nervioso central. Derivan de precursores mesodérmicos y cumplen funciones de vigilancia, fagocitando restos celulares, patógenos y productos de degradación. Modulan su entorno, detectando lesiones en la neurona. absorbiendo patógenos y desechos para mantener su salud (Pan S, 2024).

-La neuroglía en el Sistema Nervioso Periférico (SNP) (Figura 13).

- **Las células de Schwann:** son células encargadas de formar la vaina de mielina alrededor de los axones, lo que aumenta la velocidad de conducción nerviosa, también participan en la regeneración axonal tras una lesión (Pan S., 2024).
- **Las células satélites:** son células gliales que rodean los somas neuronales en los ganglios del sistema nervioso periférico. Su función es brindar soporte estructural, regular el microambiente extracelular y participar en el intercambio de nutrientes y desechos (Pan S., 2024).

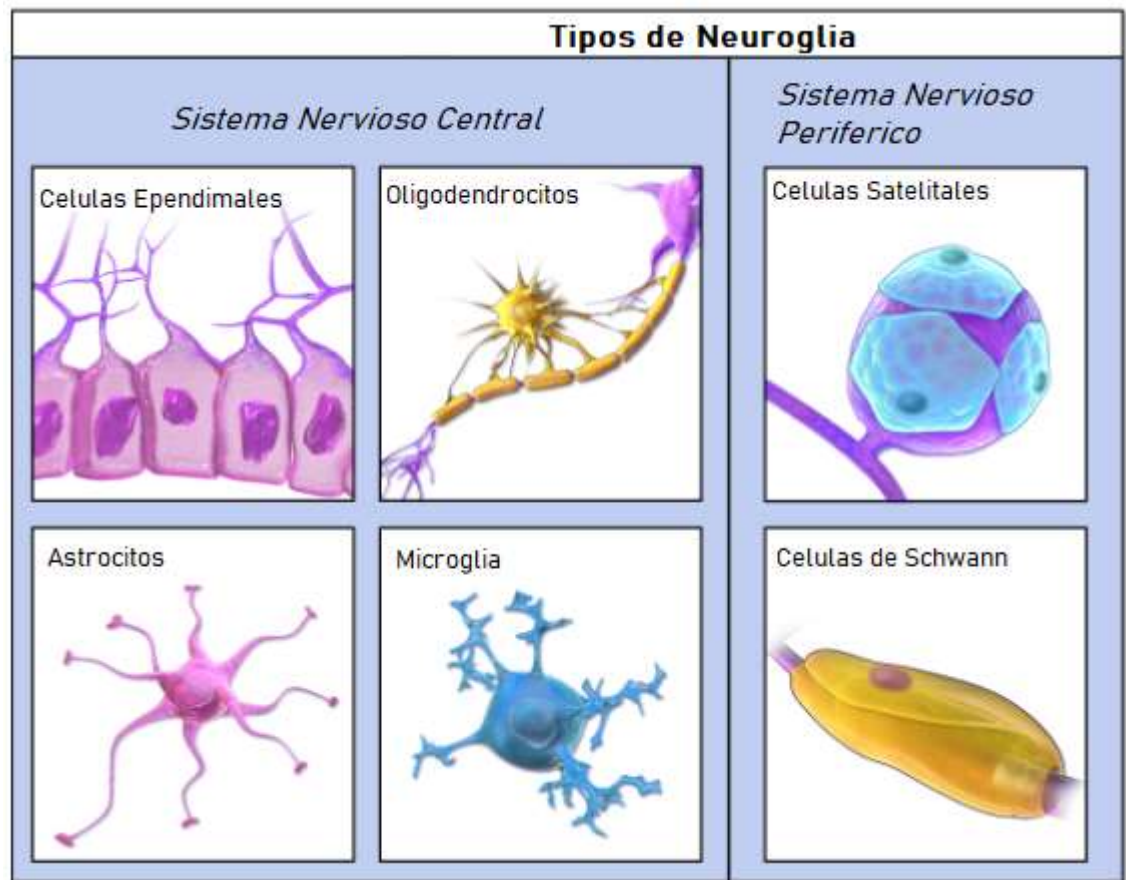


Figura 13. Tipos de células gliales que se encuentran en el SNC y SNP (Tomado de Biology Notes Online 2024).

4.3 Funciones principales de la neuroglia.

- **Regulación del entorno neuronal/homeostasis:** La función principal de la neuroglía abarca diversos procesos homeostáticos. Son células cruciales, que ayudan a mantener un entorno químico estable para las neuronas, regulando la concentración de iones, neurotransmisores y nutrientes en el entorno extracelular. Por ejemplo, los astrocitos regulan los niveles de potasio y transportan nutrientes como la glucosa y el lactato a las neuronas, satisfaciendo así sus necesidades energéticas (A. Martínez-Gómez, 2014).
- **Soporte estructural y mecánico:** La diversidad de las células gliales refleja su especialización evolutiva, lo que les permite desempeñar varias funciones. Desde apoyar el desarrollo neuronal y moldear la citoarquitectura del sistema nervioso; actuando como un andamio que mantiene a las neuronas en su lugar y les proporciona soporte físico, indispensable para el correcto funcionamiento tanto del SNC como del sistema nervioso periférico (SNP) (A. Martínez-Gómez, 2014).
- **Participación en la reparación y regeneración:** Ejerce un papel crucial en la reparación de tejidos dañados, promoviendo la regeneración de axones y la remielinización (A. Martínez-Gómez, 2014).
- **Modulación de la señalización neuronal/sináptica:** Influye en la eficiencia y regulación de la liberación de neurotransmisores y la comunicación entre neuronas, facilitando la comunicación dentro del sistema nervioso y neuronal, desempeñando un papel clave en los procesos de señalización y la función cerebral (A. Martínez-Gómez, 2014).
- **Protección y defensa:** Desempeña funciones defensivas, protegiendo al sistema nervioso de infecciones y elimina células dañadas. Además, durante afecciones patológicas pueden volverse reactivas, iniciando respuestas inflamatorias para proteger el tejido nervioso (A. Martínez-Gómez, 2014).
- **Nutrición y suministro de energía:** Las células gliales, especialmente los astrocitos, son responsables de proporcionar a las neuronas nutrientes esenciales como glucosa, así como oxígeno para mantener su actividad (A. Martínez-Gómez, 2014).

- **Formación de mielina:** En el sistema nervioso central (SNC), los oligodendrocitos, y en el sistema nervioso periférico (SNP), las células de Schwann, se encargan de producir la vaina de mielina que envuelve los axones neuronales. Esta estructura actúa como aislante, optimizando la transmisión de los impulsos nerviosos y permitiendo que se propaguen con mayor velocidad y eficiencia (A. Martínez-Gómez, 2014).

La neuroglía no es en realidad un tejido separado, sino células altamente ramificadas y con forma de estrella incrustadas en el tejido cerebral y medular. Se entremezclan con las células nerviosas de la materia gris y con las fibras nerviosas de la materia blanca, formando así un sistema de soporte (Rahman MM., et al, 2022). En el ámbito de la neurociencia, este entramado ha llevado a replantear el papel de las células gliales en diversos trastornos neurológicos, donde el sistema nervioso se desvía de su funcionamiento fisiológico hacia un estado patológico. En tales condiciones, las células gliales pueden asumir un rol determinante en la progresión y desarrollo de dichas alteraciones (Rahman MM., et al, 2022).

4.4 Neuroglia y enfermedad.

La disfunción o el daño a la neuroglía pueden contribuir al desarrollo y la progresión de diversas enfermedades neurológicas. A continuación, se presentan algunos ejemplos:

- **Enfermedades neurodegenerativas:** En enfermedades como el Alzheimer, el Parkinson y la enfermedad de Huntington, las células gliales pueden volverse disfuncionales, lo que contribuye al daño neuronal y a la progresión de la enfermedad (Rahman MM., et al, 2022).
- **Esclerosis múltiple:** Esta enfermedad autoinmune afecta principalmente a los oligodendrocitos, provocando desmielinización y alteración de la transmisión de señales nerviosas (Rahman MM., et al, 2022).
- **Tumores cerebrales:** Los tumores gliales, también conocidos como gliomas, pueden surgir de las células gliales. Estos tumores pueden ser benignos o malignos y afectar la función cerebral (Rahman MM., et al, 2022).

- **Neuroinflamación:** Las células gliales desempeñan un papel crucial en la neuroinflamación, la respuesta inmune en el cerebro, que puede ser tanto protectora como dañina en diversas afecciones neurológicas (Rahman MM., et al, 2022).
- **Las células gliales como impulsoras de la neurodegeneración:** Estudios recientes sugieren que las células gliales, en particular la microglía y los astrocitos, pueden desempeñar un papel más activo en la patogénesis de las enfermedades neurodegenerativas de lo que se creía anteriormente (Rahman MM., et al, 2022).
- **En desórdenes neurológicos psiquiátricos:** Se plantea la posibilidad de que la neuroglía participe en afecciones como la epilepsia, esquizofrenia, ansiedad, depresión, trastorno bipolar, entre otras. Esto se debe a su estrecha interacción con las neuronas, ya que regula los niveles de iones y neurotransmisores en la hendidura sináptica, además de tener la capacidad de inducir procesos de potenciación o depresión sináptica (Rahman MM., et al, 2022).

La investigación sobre la neuroglía debe ampliarse hacia campos de estudio más profundos, considerando que el cerebro está compuesto en un 80-90 % por estas células. Comprender a fondo sus funciones podría abrir nuevas posibilidades para el diseño de estrategias terapéuticas que favorezcan el óptimo desempeño del sistema nervioso (A. Martínez-Gómez, 2014).

V. GENERALIDADES DE LA MICROGLÍA.

El término “microglía” fue acuñado en 1919 por Pío del Río Hortega, al caracterizar por primera vez su morfología y sus funciones. Es caracterizada como la célula glial más pequeña del SNC, que en condiciones fisiológicas normales es muy versátil, ya que incluye cambios rápidos en su morfología celular, expresión y función génica, dependiendo del lugar del cerebro en que se encuentre y de las señales químicas que reciba cada una de las células gliales colindantes (Cataldo A., et al 2017)

Durante mucho tiempo su función permaneció incierta; no obstante, en la actualidad se reconoce que estas células participan en la respuesta inmune del sistema nervioso central (SNC), desempeñando un papel similar al de los macrófagos, ya que eliminan restos celulares y neuronas dañadas del tejido nervioso mediante el proceso de fagocitosis (Hickman S., et al, 2013)

La densidad de la microglía residente varía según las regiones del cerebro; predominan en la materia gris, con las concentraciones más altas en el hipocampo, los ganglios basales, la sustancia gris y la corteza olfativa. Esta es capaz de autorrenovarse, lo que mantiene la población constante. Representando aproximadamente el 10% de la población total de células cerebrales, y aproximadamente son el 5 al 20% de la población total de células gliales (Hickman S., et al, 2013)

El origen embrionario de estas células es distinto del resto de neurogliales, debido a que la microglía deriva durante la embriogénesis de macrófagos del saco vitelino, los cuales migran al neuroepitelio durante el desarrollo intrauterino, y dan lugar al sistema inmune en el cerebro adulto, mostrando un transcriptoma único que las distingue tanto del SNC como de las células inmunitarias periféricas.

Durante el desarrollo del SNC, la microglía tiene funciones importantes en el refinamiento de los circuitos sinápticos, que incluyen el ajuste de las tasas de activación neuronal para optimizar las redes neuronales y la producción de factores neuromoduladores. En el cerebro inmaduro, la microglía ameboidea tiene un papel activo tanto en la fagocitosis de las neuronas apoptóticas como en la promoción de la muerte celular programada. En el cerebro adulto, la microglía ramificada puede también regular la neurogénesis de la circunvolución dentada del hipocampo (Prinz M., 2019). Bajo la influencia del microambiente del SNC, los precursores microgliales maduran a partir de una morfología ameboide a un fenotipo ramificado y es capaz de autorrenovarse, lo que mantiene la población microglial durante toda la vida (Robinson M., 2015).

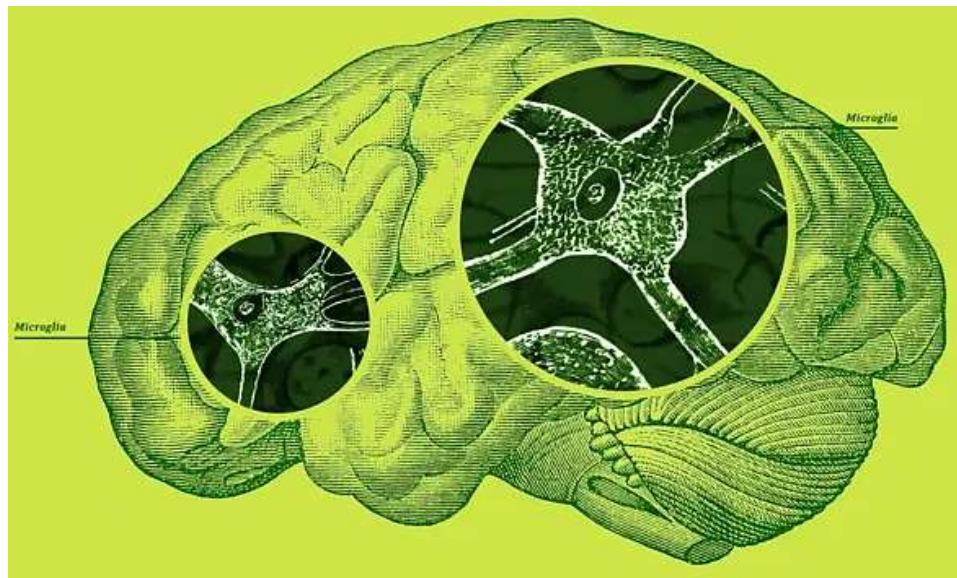


Figura 14. La microglía en el cerebro: es la única de las células gliales que protege el cerebro (Tomado de BBC News 2024).

5.1 M1 y M2, los fenotipos funcionales de la microglía.

La microglía responde a casi todos tipos de lesión del SNC al cambiar de una vigilancia o entorno, al presentar una diversidad de fenotipos y tiene la capacidad de modificarlos para mantener la homeostasis cerebral y puede clasificarse en dos tipos opuesto de fenotipos: **clásica (M1)** o **alternativa (M2)**, ambos incluyen cambios rápidos en la morfología celular, expresión química y función génica (Figura 15), (Robinson M., et al, 2015).

Sin embargo, los estudios morfológicos, moleculares y genéticos indican que esta subdivisión es una simplificación excesiva engañosa. Las microglías en reposo estudian activamente su entorno, (Gao C, 2023). Las microglías activadas constituyen una población heterogénea que cambia dinámicamente de fenotipo según el tipo de estímulo y microambiente, participando no solo en los mecanismos de lesión sino también en la neuroprotección, reparación y refinamiento del circuito en el SNC (Gou S., et al, 2022).

Según la influencia del entorno, su fenotipo se caracterizó inicialmente en células periféricas, por lo que se observó la activación clásica de macrófagos después de la exposición a citocinas de tipo Th1 como IFN- γ . Sobre la base de la observación, las células mieloides 'activadas clásicamente' (LPS $\pm$ IFN- γ) se denominan 'M1'; mientras que las células 'activadas alternativamente' (tratamiento con IL4 en presencia o ausencia de IL13) se denominan 'M2' (Gou S., et al, 2022).

Esto indica que la función de la microglía es modulada a través de receptores con agentes exógenos para lograr un fenotipo particular y mecanismos denominados colectivamente como el sensoma, estas contienen receptores para neurotransmisores, péptidos, citocinas, quimiocinas, autacoides, complemento, patrones moleculares asociados a daño (DAMP), y patrones moleculares asociados a patógenos (PAMP) estos receptores proporcionan múltiples señales convergentes que controlan la transición de la vigilancia a los diferentes estados activados (Figura 15). Estas señales se han subdividido en señales de receptor "encendido" y "apagado" (Nakagawa Y., et al, 2014).

Aunque el concepto binario de la clasificación microglial M1/M2 ha sido objeto de debate recientemente, también cuenta con la clasificación a su función como neurotóxica (M1) o neuro protectora (M2), lo que resulta útil para explicar la patología de los trastornos inflamatorios y degenerativos del SNC (Benarroch EE., 2013).

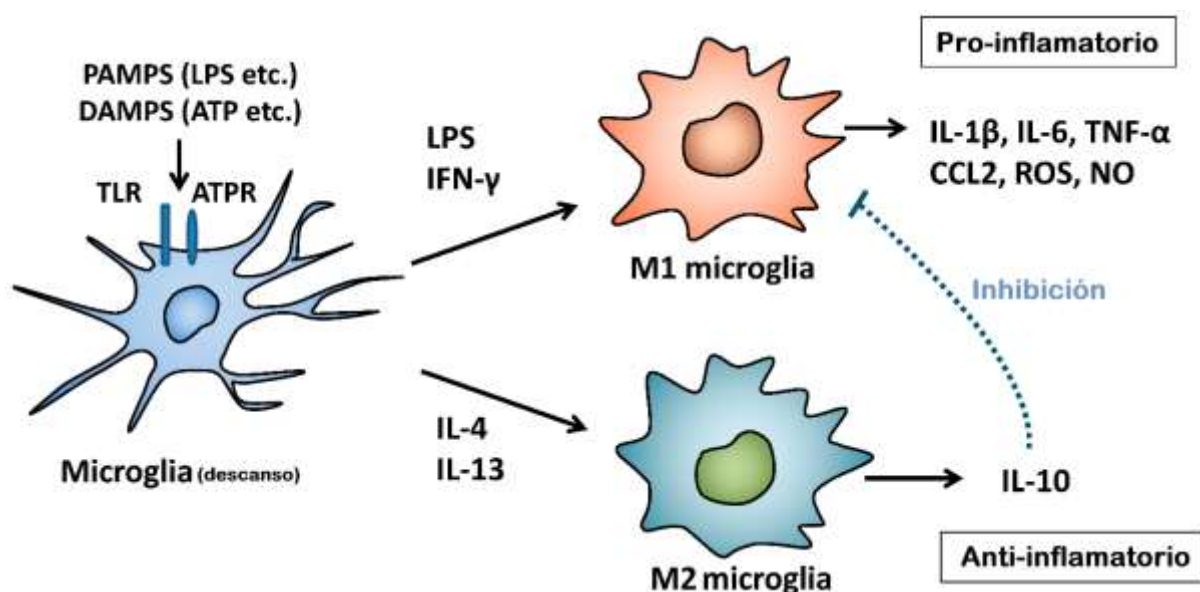


Figura 15. M1 y M2, los fenotipos principales de la microglía: La microglía posee estados de “activación clásica”, “activación alternativa” y “desactivación adquirida”, dependiendo del entorno en el que se activan y los factores que son estimulados. (Tomado de MDPI, Role of Microglial M1/M2 Polarization in Relapse and Remission of Psychiatric Disorders and Diseases y modificado, 2014).

V.I Microglía M1 (activación clásica, reposo, apagado, neurotóxica, proinflamatoria).

Es un efector de la inmunidad tanto innata como adaptativa y su fenotipo varía según el estímulo. Examina activamente su entorno y es caracterizada con una morfología ramificada, presente en el SNC no lesionado. Esta recibe señales constitutivas de las neuronas que indican un estado saludable e imponen una influencia "calmante". Ante una estimulación apropiada, participa como primera línea de defensa del sistema inmunitario innato, manifestándose con frecuencia en las primeras horas o días. En el tejido dañado, la microglía adopta diversos estados de activación y conserva la capacidad de modificar su fenotipo funcional a lo largo de la respuesta inflamatoria (Figura 16) , (Benarroch EE.,2013).

Con la lesión, la microglía residente o los macrófagos que se infiltran desde la circulación se polarizan hacia un fenotipo proinflamatorio, y tras la exposición a las citocinas proinflamatorias como el IFN- γ , o de la exposición a productos derivados de bacterias como lipopolisacáridos (LPS). Genera citocinas y quimiocinas inflamatorias, como el factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α), el factor de crecimiento transformante beta (TGF- β), citocinas proinflamatorias como IL-1 β , IL-6, IL-12, así como citocinas antiinflamatorias como IL-10 y el ligando de quimiocina CC (CCL) 2. Además, produce factores de crecimiento como el factor neurotrófico derivado del cerebro (BDNF) y el factor neurotrófico derivado de la glía (GDNF) (Nakagawa Y., et al, 2014).

Expresan la nicotinamida adenina dinucleótido fosfato (NADPH) derivando así sustancias citotóxicas expresan altos niveles de NO inducible (iNOS) para la producción de NO (óxido nítrico) y especies reactivas de oxígeno (ROS) y ácido quinolínico, integrinas (CD11b, CD11c), moléculas coestimuladoras (CD36, CD45, CD47) y receptores Fc. En respuesta al IFN- γ liberado por los linfocitos auxiliares Th1, la microglía M1 aumenta la expresión de MHC II, se convierte en células presentadoras de antígenos y libera citocinas proinflamatorias como efectoras de la inmunidad adaptativa (Gou S., 2022).

V.II Microglía M2 (activación alternativa, activada, encendida, neuro protectora, antiinflamatoria).

En el caso de la M2, las células son muy plásticas, que pueden existir en múltiples fenotipos y cambiar de estado de actividad en respuesta a diferentes señales químicas según diversos cambios microambientales. Estas células han sido referidas como microglía “efectora”. Con morfología ameboide, presente en los sitios de la lesión, también en la neuroprotección, reparación y refinamiento del circuito en el SNC. Constituyen una población heterogénea que cambia dinámicamente de fenotipo según el tipo de estímulo y microambiente (Figura 16), (Cherry J D., 2014).

Puede adoptar más de una morfología como de bastoncillos, multinucleada o epiteliode presente en los sitios de lesión y puede ejercer funciones proinflamatorias, citotóxicas, reparación inmunorreguladoras, También aumenta la expresión de varios receptores de membrana y moléculas efectoras. Este fenotipo ha sido categorizado de manera más precisa conforme a los estímulos específicos que inducen su activación, los cuales desempeñan funciones clave en procesos como la respuesta alérgica, la eliminación de parásitos, la modulación inflamatoria, la remodelación tisular, la angiogénesis, la regulación del sistema inmunológico y la promoción tumoral (Benarroch EE.,2013).

Los ejemplos típicos de encendido en la activación de M2 son DAMP de patógenos tales como lipopolisacáridos de la pared bacteriana, envolturas virales y ADN o ARN bacteriano o viral; constituyentes intracelulares liberados de células necróticas; proteínas de choque térmico; fosfatidilserina externalizada en células apoptóticas; y proteínas mal plegadas tales como amiloide β (Ab) y proteínas priónicas. Estas señales activan la microglía a través de los receptores tipo toll (TLR) y otros receptores de la respuesta inmunitaria innata, como los receptores de productos finales glicosilados avanzados (RAGE) y los receptores depuradores (Benarroch EE.,2013).

Promueve la fagocitosis de restos celulares y proteínas mal plegadas, así como la reconstrucción de la matriz extracelular y la reparación tisular, y apoya la supervivencia neuronal mediante factores neurotróficos desencadenando respuestas antiinflamatorias mediante la liberación de IL-10 y TGF- β o, alternativamente, promueve la reparación de tejidos mediante la liberación de proteínas de la matriz extracelular (Quesada Y., et al, 2007).

Además, produce citocinas antiinflamatorias, tales como la interleucina 10 (IL-10) y el factor de crecimiento transformante beta (TGF- β), junto con factores de crecimiento como el factor de crecimiento similar a la insulina tipo 1 (IGF-1), el factor de crecimiento de fibroblastos (FGF), el factor estimulante de colonias de macrófagos (CSF-1), el factor de crecimiento derivado de nervios (NGF), el factor neurotrófico derivado del cerebro (BDNF), neurotrofinas y el factor neurotrófico derivado de células gliales (GDNF) (Quesada Y., et al, 2007).

Después de un estudio adicional, se han identificado subclases de activación de M2 (a, b y c). Este es inducido por productos parásitos o señales asociadas (IL-4 e IL-13) con una función a largo plazo de resolución y reparación. Es generado por la exposición a IL4 e IL13, M2b usando inmunocomplejos y LPS (lipopolisacáridos) (Nakagawa Y., et al, 2014).

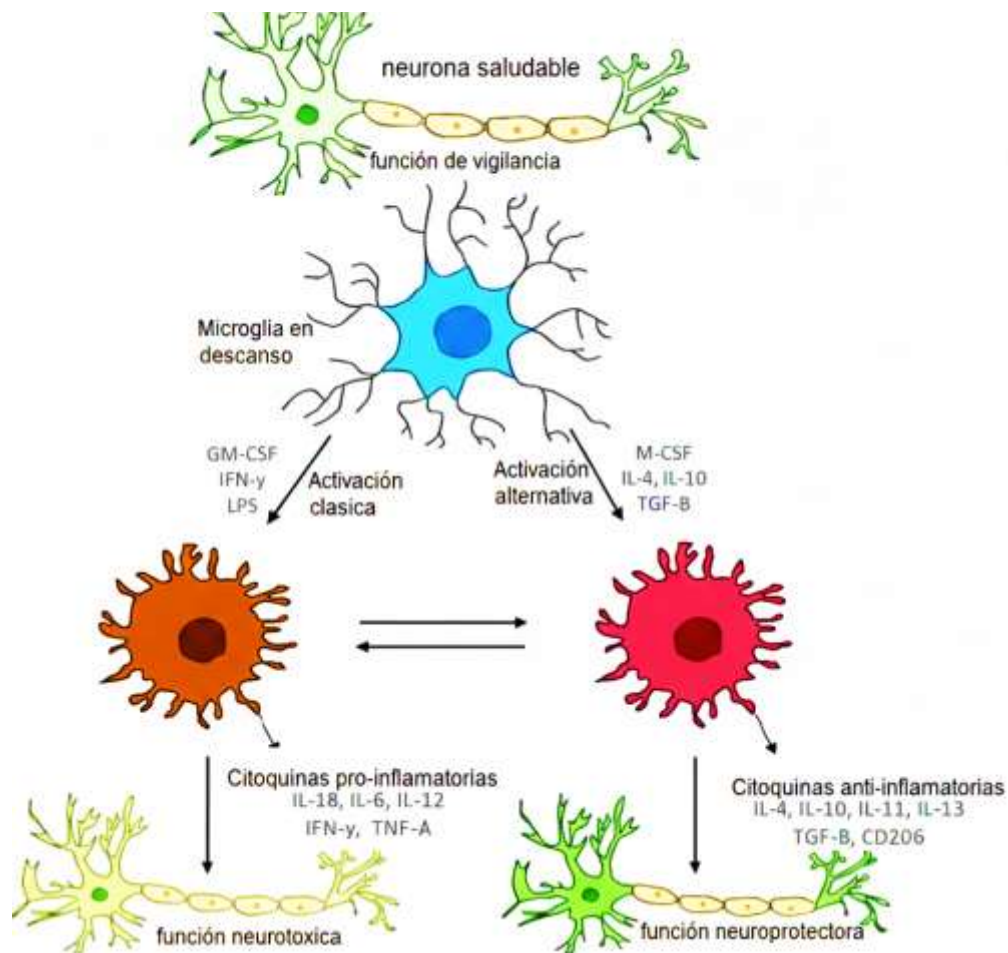


Figura 16. La fisiología de los fenotipos M1 y M2 de la microglía: En circunstancias fisiológicas, la microglía exhibe el fenotipo homeostático. Dependiendo del entorno en el que reacciona y de los factores que la estimulan, puede transformarse en fenotipos "proinflamatorios (M1)" o "antiinflamatorios (M2)". (Tomado de oaepublish 2016).

5.2 Subconjuntos funcionales de microglía.

En general, las señales de "encendido" desencadenan la translocación nuclear del factor nuclear KB (NFkB) y la subsiguiente activación transcripcional de varios genes proinflamatorios, incluidos los que codifican citocinas, quimiocinas, ciclooxigenasa 2, óxido nítrico inducible (NO) sintasa, moléculas de adhesión e histocompatibilidad mayor (MHC). El trifosfato de adenosina (ATP) se libera de las neuronas o astrocitos lesionados o activados y su señalización es fundamental para el papel de la microglía en la vigilancia, la plasticidad sináptica y la respuesta a la lesión (Benarroch EE.,2013).

Otro grupo de las señales de "encendido" desencadenan respuestas inmunes adaptativas en la microglía; los ejemplos típicos son las citocinas proinflamatorias, particularmente el interferón- γ ($\text{IFN-}\gamma$) liberado de los linfocitos Th1 . La microglía activada M2 , regula al alza la expresión de varios receptores de membrana y moléculas efectoras. En respuesta al $\text{IFN-}\gamma$ liberado por los linfocitos auxiliares Th1 , la microglía M1 regula al alza la expresión del MHC II , se convierte en células presentadoras de antígeno y libera citocinas proinflamatorias como efectores de la inmunidad adaptativa. También induce la expresión de algunas poblaciones de astrocitos y células endoteliales, lo que les permite funcionar como células presentadoras de antígenos (APC) (Benarroch EE.,2013).

El $\text{IFN-}\gamma$ también regula al alza las moléculas de adhesión en las células gliales. En ciertas condiciones patológicas, por lo tanto, el $\text{IFN-}\gamma$ puede alterar la función de las células gliales para inducir una interacción activa con las células inmunes. Además, el $\text{IFN-}\gamma$ activa la función de la microglía como células efectoras en la desmielinización inflamatoria o la degeneración neuronal. Mejora la producción de $\text{TNF-}\alpha$, óxido nítrico (NO) y superóxido por microglía y astrocitos (Orihuela R., et al., 2015).

5.3 Panorama histórico de la microglía.

El término “microglía” fue introducido en 1919 por Pío del Río Hortega al describir por primera vez su morfología. Desde su descubrimiento, se reconocen las funciones inmunológicas de estas células; sin embargo, aunque el conocimiento sobre sus propiedades ha progresado considerablemente en las últimas décadas, la comprensión de su papel en el sistema nervioso central, tanto en condiciones normales como patológicas, sigue siendo incompleta. Se tiene en consideración que la primera descripción de estas células provino del trabajo de Franz Nissl a finales del siglo XIX, quien las describió como bastoncillos (“Stabchenzellen”), es decir, como elementos gliales reactivos con potencial migratorio, fagocítico y proliferativo (Greter M. et al, 2004).

Tabla 3. Cronología de la investigación de la microglía. (Información tomada y modificada de “Microglia Biology: One Century of Evolving Concepts”, 2019).

Año (s)	Evento
1919	Primera visualización y descripción adecuada de la microglía (Río-Hortega)
1925	Fagocitosis microglial observada en gliomas (Aschoff y Penfield)
1935	Relación propuesta entre la microglía, los monocitos y los histiocitos (Dunning y Furth)
1983	Visualización inmunohistoquímica (F4/80) de la microglía (Hume DA)
1985	Microglía que expresa MHC de clase II como indicadores de activación inmunitaria (K. Vass)
1986	Primer aislamiento de microglía mediante FACS (Giulian y Baker, 1986)
1987	Correlación del MHC II+microglia a placas amiloides en la EA (McGeer et al., 1987)
2005	Visualización de la actividad continua de la microglía en reposo en el cerebro de un ratón vivo (Nimmerjahn y Dávalos)
2010/ 2011/ 2013	Aclaración del origen de la microglía e identificación de los precursores (Ginhoux)/ Poda sináptica por microglía (Tremblay//Identificación de variantes genéticas en la microglía que confieren riesgo de neurodegeneración (Guerreiro)
2014	Transcriptoma y epigenoma de la microglía murina adulta (Lavin y Gosselin)
2016	Se revela el origen de los macrófagos perivasculares del SNC y su relación con la microglía/Regulación de las respuestas microgliales en la EA por TREM2 (Wang)
2017	Transcriptoma detallado y epigenoma de la microglía humana (Gosselin)
2018	El linaje y el entorno determinan destinos distintos de la microglía y las células injertadas en el SNC del ratón (Bennett, Cronk)/ Función de memoria en la microglía de ratón preparada in vivo (Wendeln)
2019	Primeras firmas unicelulares de microglía humana (Bottcher).

VI. FUNCIONES DE LA MICROGLÍA.

La microglía es reconocida principalmente por su papel en la respuesta inmunitaria y en la limpieza celular; sin embargo, también desempeña funciones diversas, como la regulación del equilibrio del entorno extracelular en el sistema nervioso y la reparación de tejidos lesionados (Figura 17), (Benarroch EE.,2013).

6.1 Fagocitosis (eliminación de desechos).

Estas células realizan fagocitosis, es decir, la ingestión y eliminación de diversos elementos en el sistema nervioso central, incluyendo células dañadas o muertas, residuos celulares, virus, bacterias, ovillos neurofibrilares y placas neuríticas. Después de este proceso, tanto la microglía como el material fagocitado quedan inactivados, lo cual contribuye a minimizar el riesgo de disfunción neuronal (Robinson MA. Et al., 2015).

6.2 Mantenimiento de la homeostasis.

La microglía se comunica mediante citocinas con otras células, tales como neuronas, astrocitos y linfocitos T, que también forman parte del sistema inmunológico. Esta interacción es fundamental para la regulación de la homeostasis del medio extracelular y para la modulación de la respuesta inflamatoria. La función de vigilancia de "limpieza" de la microglía es necesaria para mantener la homeostasis del SNC. Los procesos altamente móviles de la microglía residente se extienden y retraen rápidamente dentro de un volumen de parénquima y, en condiciones normales, se dirigen a las estructuras sinápticas. Los procesos microgliales hacen contactos breves y repetitivos con las sinapsis, permanecen muy cerca de los botones presinápticos o postsinápticos y luego se retraen rápidamente (Robinson MA. Et al., 2015).

Estas interacciones estructurales dinámicas entre los procesos microgliales y las espinas dendríticas responden a la actividad sináptica glutamatérgica y dependen de las señales de los astrocitos, particularmente de las concentraciones de gradiente de ATP, que actúan a través de los receptores P2Y₁₂ en la microglía. En caso de una pequeña alteración, la microglía puede brindar apoyo trófico y reducir el riesgo de daño excitotóxico a las neuronas; el agotamiento de la microglía aumenta la muerte de las células neuronales en varios modelos de excitotoxicidad. Estos efectos neuroprotectores pueden implicar la producción microglial de factores de crecimiento como GDNF29 y una mayor captación de glutamato (Robinson MA. Et al., 2015).

6.3 Inflamación y reparación de daños.

Cuando un tejido del sistema nervioso central sufre daño o infección, la microglía induce una respuesta inflamatoria que inicia el proceso de reparación celular, en el cual estas células desempeñan un papel crucial. Además, ante lesiones en la médula espinal, la microglía elimina las ramificaciones neuronales comprometidas, facilitando la formación de nuevas conexiones sinápticas. Cuando se activan, diferentes subconjuntos de células microgliales producen una variedad de moléculas efectoras. Estos incluyen citocinas proinflamatorias como la interleucina IL-1b, IL-6, IL-23 y el factor de necrosis tumoral TNF- α ; citoquinas antiinflamatorias como IL-10 y factor de crecimiento transformante TGF- β ; quimiocinas tales como proteína quimioatrayente de monocitos-1; factores de crecimiento tales como el factor neurotrófico derivado del cerebro (BDNF) y el factor neurotrófico derivado de la glía (GDNF); sustancias citotóxicas tales como radicales libres de oxígeno, NO y aminoácidos excitatorios; mediadores lipídicos como la prostaglandina E2 y los endocannabinoides; y enzimas tales como metaloproteinasas de matriz (Colona M., et al., 2021).

6.4 Presentación de antígenos.

Durante la inflamación tisular, los linfocitos T atraviesan la barrera hematoencefálica y migran hacia el sistema nervioso central. En este entorno, se asocian con células microgliales que han fagocitado antígenos (partículas capaces de desencadenar la producción de anticuerpos), lo que potencia la eliminación de agentes patógenos y favorece la recuperación de las lesiones (Colona M., et al., 2021).

6.5 Destrucción de células (citotoxicidad).

La microglía actúa como la principal célula inmune del cerebro, capaz de eliminar patógenos (bacterias, virus y células infectadas) mediante la liberación de agentes como el peróxido de hidrógeno y el óxido nítrico; Sin embargo, una respuesta excesiva puede provocar daño colateral en el tejido sano. Además de esta defensa, la microglía modula la homeostasis sináptica, reduciendo la excitotoxicidad a través de un mecanismo de "extracción sináptica" que elimina sinapsis innecesarias o dañadas, especialmente bajo condiciones de inflamación. Finalmente, estas células también contribuyen a la renovación de la mielina al remover los exosomas derivados de oligodendrocitos que contienen restos de mielina, un proceso que se logra mediante macropinocitosis . (Colona M., et al., 2021).

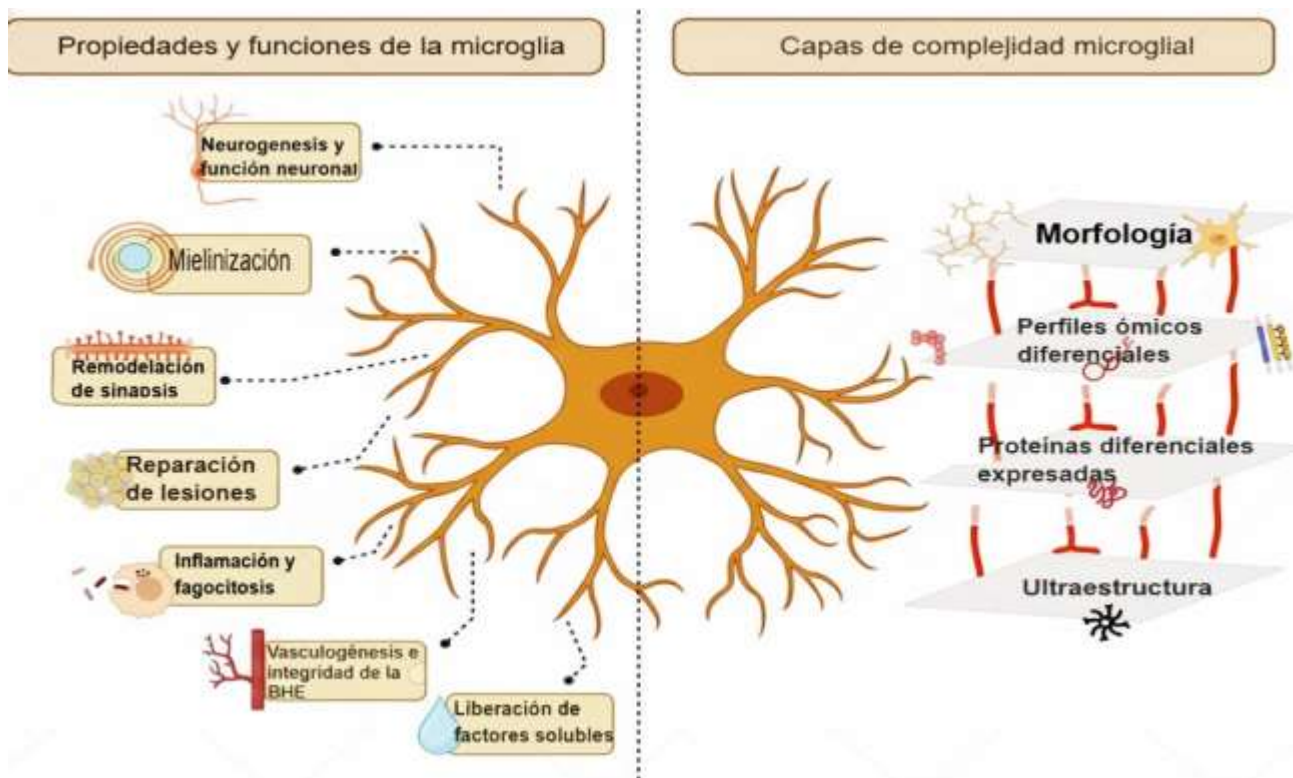


Figura 17. Funciones de la microglía en el Sistema Nervioso Central (SNC): La microglía desempeña numerosas funciones inmunológicas en el sistema nervioso central: presenta antígenos, secreta citocinas y quimiocinas, y fagocita restos de mielina o células muertas. Además, la microglía auto renueva su reserva de microglía mediante la proliferación y la apoptosis coordinadas. Sus roles incluyen la remodelación de sinapsis, la mielinización, la reparación de lesiones y la eliminación de desechos (fagocitosis). Su complejidad funcional y estado se definen por diferentes capas de análisis, desde su morfología hasta sus perfiles moleculares (ómicos). (Tomado de *Emerging Techniques for the Study of Microglia: Visualization, Depletion and Fate Mapping*, 2023).

VII. CORRELACIONES CLÍNICAS, ENFERMEDADES Y TRASTORNOS NEURODEGENERATIVOS CON LA MICROGLÍA.

La expansión de la microglía residente es el mecanismo principal de la astrocitosis en los trastornos neurodegenerativos; el mayor número de macrófagos perivasculares y del SNC derivados de los monocitos circulantes es un contribuyente importante en las condiciones asociadas con la interrupción de la BHE (barrera hematoencefálica), como accidente cerebrovascular, traumatismo, infecciones y esclerosis múltiple (Benarroch EE.,2013).

- **Efectos del envejecimiento sobre la microglía.** La microglía experimenta cambios en su morfología y función con el envejecimiento normal; estos cambios pueden provocar la pérdida de la función neuro protectora y la ganancia de la función microglial neurotóxica. (Benarroch EE.,2013).

- **Pérdida de la función neuroprotectora.** La senescencia microglial da como resultado una disminución de la motilidad de su proceso y la tasa de migración a la lesión tisular focal. También hay un deterioro de los efectos neuroprotectores y tróficos, como el mantenimiento de la estructura y función de las sinapsis en las espinas dendríticas. El envejecimiento microglial también puede contribuir a la autofagia alterada, que es un mecanismo para la eliminación de proteínas mal plegadas que caracteriza a varios trastornos neurodegenerativos (Benarroch EE.,2013).
- **Estado activado crónico.** La microglía envejecida parece estar en un estado activado, manifestado por hipertrofia citoplasmática, retracción de procesos, regulación positiva de la expresión de MHC II y producción de citocinas proinflamatorias como IL-1, IL-6 y TNF- α . La activación microglial relacionada con la edad refleja el equilibrio alterado entre las señales de "encendido" y "apagado"; por ejemplo, hay una regulación al alza de la expresión de TLR4 y otros receptores de reconocimiento de patrones y una disminución de la expresión de los pares de ligando-receptor "off" CD200-CR220R y fractalkine-CX3CR1. En varios modelos experimentales de lesión del SNC, las respuestas de la microglía envejecida son más grandes, más sostenidas y más propensas a provocar la degeneración neuronal que en el cerebro más joven. La producción de citocinas proinflamatorias por parte de la microglía también puede afectar la neurogénesis en la circunvolución dentada hipocampo (Benarroch EE.,2013).
- **Lesión aguda.** La lesión cerebral aguda por trauma o accidente cerebrovascular conduce a una rápida degeneración de las neuronas y su proceso, lo que resulta en la liberación de DAMP que activa las respuestas inmunitarias innatas en la microglía a través de los receptores TLR, RAGE y ATP. La microglía en el centro de una lesión aguda y en la penumbra circundante responde rápidamente adoptando un fenotipo M1 con aumento de IL-1, IL-16, TNF- α y otras moléculas citotóxicas que contribuyen a la muerte neuronal; las citocinas proinflamatorias producidas por la microglía M1 también reclutan neutrófilos y monocitos de la sangre. También hay activación microglial a lo largo de las fibras en degeneración que sufren degeneración, a esto le sigue la eliminación de los axones y la mielina en degeneración por la microglía y los macrófagos con un fenotipo M2. Sin embargo, estas células son relativamente ineficaces para eliminar la mielina o los desechos axonales y pueden persistir durante varios años en el sitio de la lesión. (Benarroch EE.,2013).

- **Glioma.** Los macrófagos microglía/cerebrales se infiltran en los gliomas de alto grado y contribuyen a su progresión. Estudios recientes muestran que las células de glioma atraen microglía a través de la producción de GDNF; la microglía y los macrófagos asociados con el tumor se polarizan al fenotipo M2 y promueven la proliferación y la invasividad de las células tumorales en parte a través de la activación del receptor del factor estimulante de colonias de macrófagos (Benarroch EE.,2013).
- **Esclerosis múltiple.** El daño del SNC en la EM resulta del ataque inmunitario de las células T y B y los macrófagos que provocan daño en la BHE (barrera hematoencefálica) , la mielina, los axones y las neuronas. La microglía tiene un papel clave en el inicio y la perpetuación de la desmielinización y la remielinización en la EM debido a su capacidad para presentar antígenos, liberar moléculas neurotóxicas y citocinas proinflamatorias o antiinflamatorias, eliminar los desechos de mielina y las células apoptóticas, reclutar células precursoras de oligodendrocitos endógenos y suministrar factores tróficos que favorecen la remielinización. La microglía activa está presente en las áreas de desmielinización activa, la sustancia blanca más allá de la placa y la sustancia gris (Benarroch EE.,2013).

Mientras que los mediadores microgliales inflamatorios como $\text{TNF-}\alpha$ y NO desencadenan lesión axonal en la enfermedad desmielinizante. La fagocitosis durante la desmielinización se asocia con la regulación al alza de TREM2 y otros receptores fagocíticos; el $\text{TNF-}\alpha$ y los factores de crecimiento como el factor de crecimiento similar a la insulina-1, también aumentan durante la desmielinización y promueven la remielinización (Benarroch EE.,2013).

- **Trastornos del neurodesarrollo.** Estudios recientes en modelos murinos de trastornos del neurodesarrollo asociados con un comportamiento anormal enfatizan la importancia de la función microglial constitutiva normal en el mantenimiento del circuito neuronal durante el desarrollo. (Benarroch EE.,2013).

En un modelo de roedor de lesión de la médula espinal, se demostró que las células madre mesenquimales promueven la diferenciación de macrófagos M2 y mejoran la recuperación funcional. Estos estudios demuestran que el estado M2 contribuye no solo a la neuroprotección, sino que también puede promover el proceso de reparación en el SNC lesionado y puede representar nuevas estrategias terapéuticas para el tratamiento de afecciones neurodegenerativas (Benarroch EE.,2013).

7.1 Trastornos neurodegenerativos.

La microglía participa en el progreso de las enfermedades neurodegenerativas a través de múltiples mecanismos. La desregulación de la microglía puede causar alteraciones en la fagocitosis, en su propagación, en la neuroinflamación y en el cambio de fenotipo microglial, conduciendo a la progresión de una patología y a la neurodegeneración. También puede promover la depuración de sinapsis y redes perineuronales, y afectar la plasticidad y la actividad neuronal. Cabe destacar que la microglía es un arma de doble filo. La activación microglial es un hallazgo característico en la enfermedad de Alzheimer (EA), la enfermedad de Parkinson (EP), la esclerosis lateral amiotrófica (ELA), la enfermedad de Huntington, la atrofia multisistémica (MSA), la degeneración de la retina y otros trastornos en cuestión (Figura 18), Los estudios indican que el papel fenotípico proinflamatorio M1 y antiinflamatorio M2 es un punto crítico en estas enfermedades (Gao C., et al., 2023).

Se espera que investigaciones futuras se centren en la regulación precisa de la microglía y en promover su conversión en un fenotipo protector. A pesar de los avances significativos en la comprensión de las funciones de la microglía, así como su heterogeneidad y dinámica en las enfermedades neurodegenerativas, aún necesitan ser mejor clarificadas (Gao C., et al., 2023).



Figura 18. La microglía es el centro de algunas enfermedades neurodegenerativas: el doble papel antiinflamatorio y proinflamatorio de las células microgliales se ha considerado un punto crítico en las enfermedades neurodegenerativas. (Tomado de “Exploring the Connectivity of Neurodegenerative Diseases: Microglia as the Center” 2023).

7.2 La activación persistente de la microglía en estos trastornos puede reflejar una respuesta inmune innata a la acumulación de proteínas mal plegadas, degeneración neuronal, o ambos.

La afectación microglial incluye neurotoxicidad directa, incapacidad para mantener la homeostasis tisular y fagocitosis de proteínas anormales y neuronas apoptóticas; estas múltiples funciones probablemente involucran diferentes fenotipos de microglía activada. A pesar de los avances en tecnología proteómica e inmunofenotipado aplicados al material de autopsia, una caracterización completa del patrón de activación microglial en la EA y otros trastornos neurodegenerativos sigue siendo difícil de alcanzar, en parte debido a limitaciones de la aplicabilidad de estos métodos a muestras neuropatológicas.

La evidencia de estudios neuropatológicos y modelos animales indica que la activación microglial precede a la destrucción del neuropilo (es la región comprendida entre varios cuerpos celulares o somas de neuronas de la sustancia gris del encéfalo y la médula espinal) en los trastornos neurodegenerativos. Mientras que la degeneración de las terminales presinápticas precede a la pérdida del cuerpo celular, no hay evidencia de que la microglía tenga un papel activo en la degeneración sináptica ni en la degeneración sináptica (Benarroch EE., 2013).

En los trastornos neurodegenerativos, la microglía activada se agrupa en los sitios que contienen proteínas mal plegadas extracelulares, como Ab agregado en placas neuríticas en AD, α -sinucleína en neuronas de la sustancia negra o en oligodendrocitos en MSA, y motoneuronas degeneradas en ALS. La activación microglial en respuesta a proteínas mal plegadas o señales intracelulares de neuronas lesionadas involucra receptores de respuesta inmunitaria innata como TLR, RAGE y receptores scavenger, así como complemento. En este contexto, la microglía puede adoptar un fenotipo M1 y producir varias sustancias citotóxicas, como $\text{TNF}\alpha$, superóxido y NO, que contribuyen al daño neuronal y a la progresión de la neurodegeneración crónica. De acuerdo con la “hipótesis de las citoquinas”, cualquier lesión neuronal puede dar como resultado la liberación de señales que desencadenan la activación glial crónica; esto inicia un proceso de autopropagación mediante el cual la microglía activada secreta moléculas neurotóxicas que promueven una mayor neurodegeneración (Quesada Y., et al., 2007).

La degeneración neuronal también puede desencadenar la activación microglial en respuesta a las señales expuestas a la superficie externa de la membrana de las células apoptóticas, como la fosfatidilserina o la Hsp60 mitocondrial. (Al-Onaizi M. et al., 2020).

ANTECEDENTES.

1. DESCRIPCIÓN GENERAL DEL IFN- γ .

Los interferones constituyen una familia de citocinas pleiotrópicas denominadas así por su capacidad para inhibir la replicación viral. El interferón gamma (IFN- γ), también conocido como interferón inmune tipo II, difiere de los interferones tipo I y III en su receptor, estructura y localización génica en un cromosoma distinto, aunque comparte efectos biológicos similares. El IFN- γ presenta una función dual, actuando como mediador proinflamatorio y antiinflamatorio, lo que lo convierte en una proteína única cuya actividad depende del contexto microambiental, desempeñando un papel clave en la inducción y regulación de respuestas inmunitarias (Mata D. et al., 2008).

El IFN- γ es sintetizado por linfocitos T CD4+, CD8+, células T γ/δ y células NK (Natural Killer) en respuesta a estímulos patógenos, entrecruzamiento de moléculas superficiales, reconocimiento de antígenos específicos, activación del receptor de células T o mediante mitógenos como fitohemaglutinina, concanavalina-A, ésteres de forbol e ionóforos. Su producción también se induce por citocinas (IL-1, IL-2, IL-12, IL-18), factores de crecimiento y estrógenos. Por otro lado, la expresión génica de IFN- γ es reprimida por glucocorticoides, TGF- β , IL-10 y la inmunosupresora ciclosporina A mediante la inhibición del factor de transcripción NF-ATp (factor nuclear de células T activadas). Adicionalmente, neutrófilos almacenan IFN- γ que liberan frente a agentes degranulantes, y ciertas poblaciones de macrófagos expresan IFN- γ constitutivamente, acumulándolo en compartimentos intracelulares (Mata D., et al., 2008).

La actividad biológica del IFN- γ está mediada por un receptor específico, presente en la mayoría de las células excepto en eritrocitos maduros, con especificidad especie-específica para su ligando. Este interferón puede asociarse a la matriz extracelular, donde ejerce un control yuxtacrino, es decir, mediando comunicación celular a través de contacto directo sin difusión a larga distancia. El IFN- γ se produce en cantidades elevadas bajo condiciones patológicas como trauma, inflamación crónica, infecciones, cáncer y enfermedades autoinmunes. (Mata D., et al., 2008).

1.1 Vía de señalización del IFN- γ .

A principios de la década de 1950, estaba bien establecido que bajo ciertas condiciones, las células infectadas por virus son resistentes a una segunda infección viral. Por lo tanto, por algún mecanismo, los virus interfieren entre sí. En 1957, el término "interferón" fue acuñado por Isaacs y Lindenmann para describir una sustancia, probablemente producida por las células, que interfiere con la infección de un virus (investigación con la influenza). Posteriormente se demostró que el IFN era una proteína pequeña, producida y secretada por las células después de la detección celular de patrones moleculares asociados a patógenos, comúnmente conocidos como PAMP, por receptores de reconocimiento de patrones (PRR) (Schneider W., et al., 2015).

En los años posteriores, el IFN- γ ha sido caracterizado como una glicoproteína homodímera con funciones inmunológicas pleiotrópicas. No fue hasta 20 años después de la identificación del IFN- γ que se descubrió su receptor de superficie celular. La cadena α del IFN- γ R, también conocida como IFN- γ R1 o CD119, fue el primer componente del receptor en ser identificado y clonado.

Aunque se une a IFN- γ con una afinidad relativamente alta, IFN - γ R1 por sí solo no puede mediar las respuestas biológicas a esta citocina. Estudios de complementación posteriores condujeron a la identificación y clonación de un factor accesorio (AF-1), también conocido como cadena del receptor β o IFN- γ R2, como la proteína requerida, además de IFN- γ R1, para dotar a una célula de la capacidad de responder a IFN- γ (Tau G., et al., 2001).

1.2 Mecanismo de señalización.

1. Receptores IFN- γ R

El ligando IFN- γ , forma un homodímero y emite señales a través del complejo receptor de IFN- γ (IFNGR), iniciado por la interacción con dos subunidades IFN- γ R1 (una glicoproteína de 90 kDa que tiene 472 aminoácidos (aa) de longitud en el hombre y 451 aa en los ratones codificada en el cromosoma 6 humano y el cromosoma 10 del ratón), facilitando la unión de las dos proteínas del IFN- γ R2 (una glicoproteína de 60–67 kDa, que tiene 316 aa en el hombre y 314 aa en los ratones, codificada en el cromosoma 21 humano y el cromosoma 16 del ratón), al complejo IFN- γ R1/IFN- γ . Ambas cadenas del receptor de IFN- γ son miembros de la familia de receptores de citocinas de clase II que incluye el factor tisular, el componente de unión al ligando

IL-10 IFN- γ R1 es la principal subunidad de unión al ligando, uniéndose a IFN- γ . IFN- γ R2 aumenta la afinidad de IFN- γ R1 por su ligando, presumiblemente al mejorar la estabilidad del complejo, pero solo desempeña un papel menor en la unión directa al ligando.

La producción de IFN- γ está restringida en gran medida a las células del sistema inmunológico; sin embargo, las proteínas IFN- γ R1/R2 se expresan ampliamente y, por lo tanto, casi todos los tipos de células son capaces de responder al IFN- γ (Tau G., et al., 2001).

2. Asociación a JAK1/2.

Este evento permite que los dominios intracelulares de los receptores se aproximen induciendo la a transfosforilación de las JAK cinasas (tirosinas cinasas de la familia de las cinasas Janus). La señalización a través del IFN- γ R está mediada por JAK1 y JAK2, asociados constitutivamente con residuos específicos proximales a la membrana en los dominios citoplasmáticos del IFN- γ R. JAK1 se une al motivo ²⁶⁶LPKS²⁶⁹ (también conocido como motivo box 1) en IFN- γ R1, mientras que JAK2 se une al motivo ²⁶³PPSIPLQIEEYL²⁷⁴ (motivo box 2) en IFN- γ R2. La unión del ligando conduce a la oligomerización del receptor, con dos cadenas de IFN- γ R1 unidas a un homodímero de IFN- γ , y el reclutamiento posterior de dos cadenas de IFN- γ R2 al complejo (Tau G., et al., 2001).

La agregación mediada por IFN- γ de sus componentes del receptor acerca las JAK inactivas asociadas con las colas citoplasmáticas de las cadenas α y β entre sí. Una vez agrupadas, las JAK se activan recíprocamente a través de eventos secuenciales de autofosforilación y transfosforilación. El motivo intracelular (LI) es importante para dirigir al receptor a través de la célula, incluyendo el reciclamiento del mismo a la superficie. Cuando no hay estímulo, los receptores IFN- γ R1 e IFN- γ R2 no se asocian fuertemente; sin embargo, la cinasa Janus1 inactiva (JAK1) se une a la secuencia de 4 aminoácidos (LPKS) del dominio intracelular de IFN- γ R1, mientras que la JAK2 inactiva se une a una secuencia rica en prolinas(PPSIPLQIEEYL) (Tau G., et al., 2001).

3. Señalización a STAT1.

Las JAK cinasas fosforilan un residuo de tirosina específico cerca del extremo C del IFN- γ R1 (Y440). Este par de residuos de tirosina fosforilados (uno en cada cadena de IFN- γ R1) está incrustado dentro de una secuencia de reconocimiento (⁴⁴⁰ YDKPH ⁴⁴⁴) a la que se une STAT1 (transductores de señales y activadores de la transcripción) a través de su dominio SH2 (Tau G., et al., 2001). El acoplamiento de las moléculas STAT1 a sus secuencias diana en el complejo IFN- γ R es seguido por su fosforilación en el residuo de tirosina Y701 por las JAK asociadas al receptor se forman homodímeros de STAT1 que se translocan al núcleo donde se unen a secuencias de activación de IFN- γ o GAS (sitio de activación de IFN- γ).

Una vez fosforiladas, dos proteínas STAT1 se homodimerizan a través de interacciones recíprocas SH2-fosfotirosina, formando un complejo proteico identificado primero como GAF (factor activado por gamma). El homodímero STAT1 luego se transloca al núcleo, donde se une a una secuencia de consenso de nueve nucleótidos, TTNCNNNAA, conocida como un elemento GAS (sitio activado por gamma). de genes inducibles de IFN- γ presente en los promotores de los genes estimulados por IFN (ISG) que contienen la secuencia consenso TTCN(2-4)GAA.

Este sitio de unión se ha identificado en las regiones reguladoras de más de 200 genes; por lo tanto, el reconocimiento de este elemento por los homodímeros STAT1 puede modular la expresión de una amplia gama de genes, mediando así las funciones biológicas de IFN- γ . (Tau G., et al., 2001).

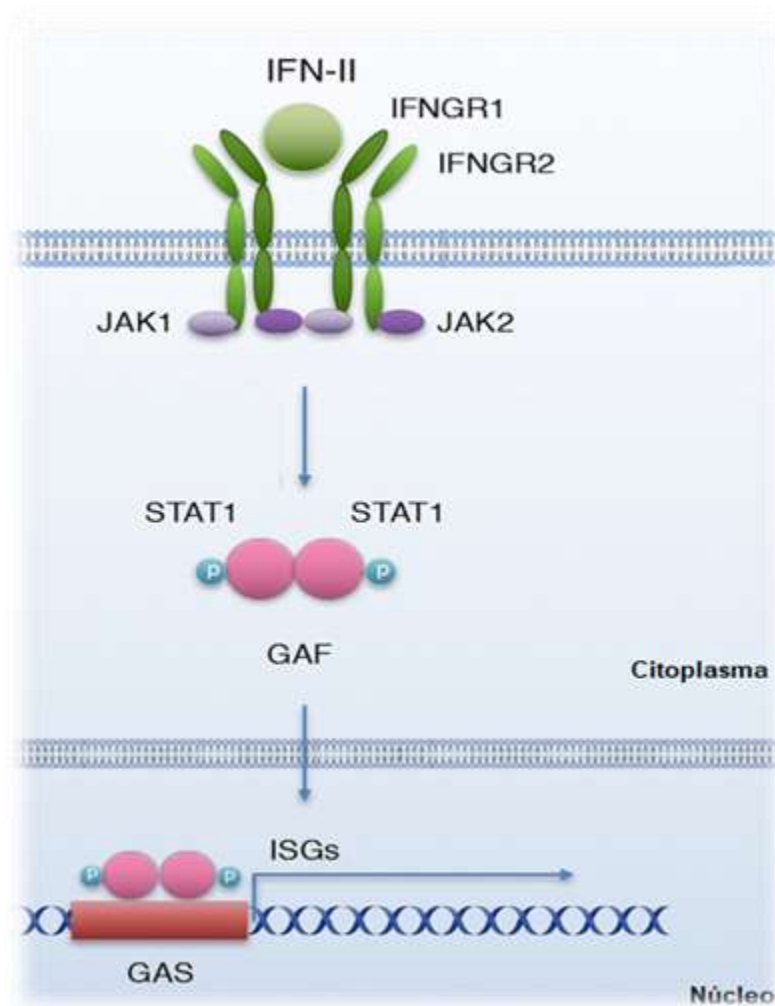


Figura 19. Cascada de señalización del IFN- γ . El receptor IFN- γ está compuesto de cadenas α y β . JAK1 está constitutivamente asociado con IFN- γ R1, mientras que JAK2 está constitutivamente asociado con IFN- γ R2. La unión de IFN- γ a su receptor provoca la agregación de los componentes del receptor. Posteriormente, las JAK se activan mediante eventos de autofosforilación y transfosforilación. Las JAK activadas fosforilan el residuo de tirosina cerca del extremo C del IFN- γ R1. Las moléculas de STAT1 se acoplan al receptor fosforilado y luego son fosforiladas por las JAK activadas. Las proteínas STAT1 fosforiladas homodimerizan mediante interacciones recíprocas SH2-fosfotirosina y se translocan al núcleo, donde regulan la transcripción génica. (Tomado y modificado de 2The Interactions Between Cancer Stem Cells and the Innate Interferon Signaling Pathway, 2020).

1.3 Genes estimulados por IFN- γ .

Los virus emplean innumerables estrategias para contrarrestar la detección de patógenos y la señalización JAK-STAT, lo que deja en claro que la necesidad de velocidad está bajo una estricta presión evolutiva. En ausencia de una respuesta intacta al interferón (IFN- γ), los mamíferos pueden ser susceptibles a una infección viral letal. La capacidad de promover la traducción eficaz de ARNm seleccionado incluso antes de la transcripción de ISG proporcionaría un mecanismo para mejorar rápidamente la detección de patógenos y/o amplificar la señalización de IFN- γ (Schneider W., et al., 2015)

Los ISG asumen una amplia gama de actividades. Varias proteínas transductoras de señales descritas anteriormente, como JAK2, STAT1/2, están presentes en la línea de base, pero también son ISG y refuerzan la respuesta de IFN. Muchos ISG controlan las infecciones virales, bacterianas y parasitarias al dirigirse directamente a las vías y funciones necesarias durante los ciclos de vida de los patógenos. La regulación al alza de quimiocinas y receptores de quimiocinas permite la comunicación de célula a célula, mientras que los reguladores negativos de la señalización ayudan a resolver el estado inducido por IFN y facilitan el retorno a la homeostasis celular. Los ISG adicionales codifican proteínas proapoptóticas, lo que conduce a la muerte celular en determinadas condiciones (Schneider W., et al., 2015)

2. LA PROTEÍNA ISG15 Y LA MODIFICACIÓN POSTRADUCCIONAL ISGILACIÓN.

La proteína del gen 15 estimulado por interferón (ISG15, también conocida como UCRP, G1P2, IP17, IMD38, IFI15) es una molécula intracelular similar a la ubiquitina bien conocida que participa en la ISGilación. Se expresa en niveles bajos bajo condiciones fisiológicas en células y tejidos normales. Se identificó por primera vez en 1979, como la primera UBL (proteína similar a la ubiquitina) en células tumorales de ascitis de Ehrlich tratadas con IFN (Sandy Z., et al., 2020).

Inicialmente denominada proteína reactiva cruzada de ubiquitina (UCRP) después de su capacidad de reaccionar de forma cruzada con anticuerpos de ubiquitina. Esta proteína de 15 kDa luego se descubrió que era una forma madura de una proteína precursora de 17 kDa (Pro-ISG15). Más tarde se le cambió el nombre a ISG15. Se traduce a partir de una secuencia de ARNm de 711 bases, que genera una proteína precursora de 165 aminoácidos (aa) y una masa de 17 kDa. Este precursor se procesa para eliminar ocho aa en el C-terminal, así como la metionina del N-terminal. La ISG15 madura es una proteína de 15 kDa con 156 aa formada por dos dominios similares a la ubiquitina (UB) conectados por una secuencia "bisagra". Los dos dominios UB adoptan el pliegue β -plegada, y cada dominio contiene cuatro hojas β y una α -hélice (Tecalco A., 2020) (Figura 20).

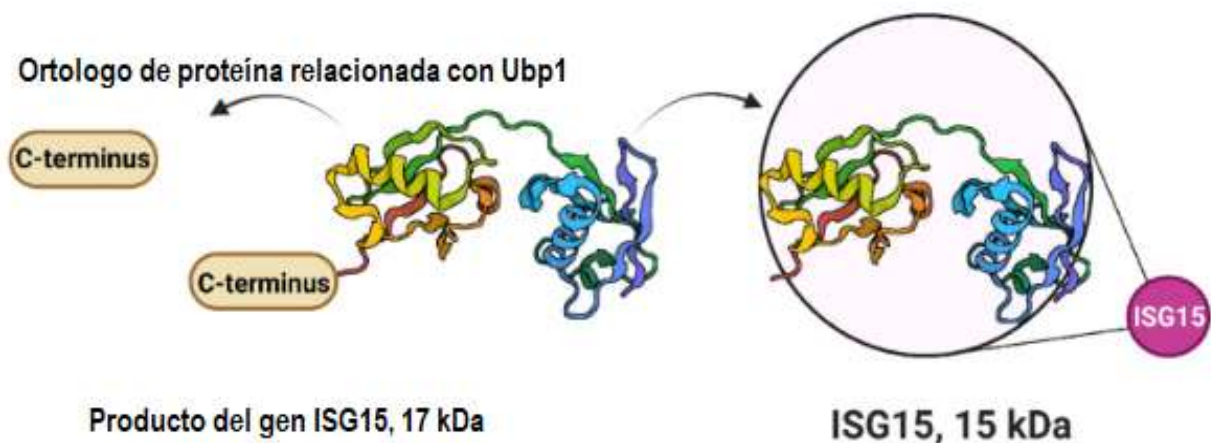


Figura 20. Estructura de ISG15: Representación tridimensional de ISG15, El esquema representa que un precursor de 17 kDa (Pro-ISG15) contiene dos dominios similares a ubiquitina unidos por una bisagra polipeptídica flexible. Una proteína relacionada con la isopeptidasa Ubp1 específica de ISG15 expone el motivo Gly-Gly C-terminal necesario para la conjugación con proteínas celulares (Tomado y modificado de "ISG15 and ISGylation in Human Diseases" 2022).

2.1. Proceso de ISGilación.

La ISGilación es el resultado de la coordinación de tres actividades enzimáticas: activación, conjugación y ligación, realizadas por las enzimas activadoras de ISG15 (E1), enzimas conjugadoras de ISG15 (E2) y enzimas ligadoras de ISG15 (E3), respectivamente (Sandy Z., et al., 2020).

1. Activación: Inicialmente, un precursor inactivo de 17 kDa de ISG15 se transcribe antes de ser escindido proteolíticamente en su forma madura de 15 kDa, exponiendo un motivo LRLRGG C-terminal altamente conservado requerido para la conjugación canónica. La activación inicial se lleva a cabo de una manera dependiente de ATP por la enzima UBA7 de ISG15 E1 (también conocida como UBE1L) (Sandy Z., et al., 2020).

2. Conjugación: Luego, la ISG15 activada se transfiere a la cisteína activa del E2 UBE2L6 (también conocido como UBCH8). antes de ser conjugado en sustratos por una de las tres ligasas (Sandy Z., et al., 2020).

3. Ligación: Las enzimas E3 identificadas: HERC5, TRIM25 (EFP) o ARIH1 (HHARI) catalizan la unión covalente entre ISG15 y su proteína objetivo por especificidad de un enlace peptídico (Sandy Z., et al., 2020).

3. DesISGilación: la eliminación de ISG15 de los sustratos y el procesamiento de pro-ISG15 pueden ser catalizados por USP18 (también conocido como UBP43), que se ha confirmado como la principal de ISGilasa *in vivo* (Sandy Z., et al., 2020)..

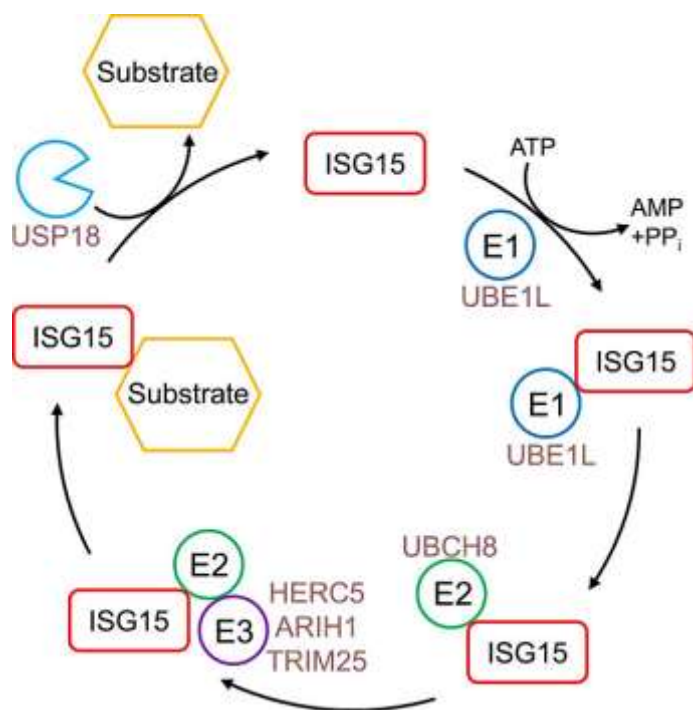


Figura 21. Cascada de conjugación de ISG15: ISG15 se conjuga covalentemente con sus proteínas sustrato mediante un proceso de tres pasos similar a la ubiquitinación, conocido como ISGilación. Este proceso consiste en una enzima activadora de E1 (UBE1L), una enzima conjugadora de E2 (UBCH8) y una de tres ligasas de E3 (HERC5, ARIH1, TRIM25). ISG15 puede separarse de su sustrato mediante la peptidasa USP18. (Tomado de ISG15: “A link between innate immune signaling, DNA replication, and genome stability”, 2023).

2.2 Recorrido histórico de ISG15.

Año	Descripción.
1979	ISG15 se identificó y descrito por primera vez por Peter Lemgyel como una proteína de 15 kDa en células tumorales de Ehrlich tratadas con IFN
1984	Se detectó ISG15 en líneas celulares humanas y bovinas tratadas con IFN tipo I
1987	ISG15 se identificó como una proteína reactiva cruzada con ubiquitina (UCRP)/se descubrió que es una proteína antiviral/ se describe el proceso de ISGilación.
1988	Se descubrió que una proteína ISG15 de 15 kDa era una forma madura de una proteína precursora de 17 kDa (Pro-ISG15).
1992	Se descubrió que ISG15 estaba conjugado con proteínas celulares.
1996	Se descubrió que ISG15 era una citocina inducida por interferón.
2005	Se determinó una estructura tridimensional de ISG15
2008	Se identificó a ISG15 como un posible marcador pronóstico en el cáncer de mama humano. / podría estar promoviendo la degradación de proteínas/ Se identificó a ISG15 como un nuevo biomarcador tumoral para la sensibilidad a los fármacos.
2011	Se encontró que ISG15 estaba elevado en la esclerosis lateral amiotrófica
2012	Se descubrió que la deficiencia hereditaria de ISG15 estaba asociada con una enfermedad micobacteriana grave en humanos.
2013	Se descubrió que ISG15 altera la arquitectura del citoesqueleto y promueve la motilidad de las células de cáncer de mama humano (ISG15 promueve la tumorigénesis).
2019	La ISGilación aumenta en casos de veteranos de ELA expuestos a TCE
2022	La ISGilación aumenta en las células mononucleares de sangre periférica derivadas de pacientes sintomáticos con COVID-19.

Tabla 4. Cronología de la investigación sobre ISG15. (Información tomada de “ISG15 and ISGylation in Human Diseases”, 2022).

2.3 ISG15 libre y la ISGilación, un arma de doble filo.

Los ISG codifican todas las enzimas conjugadas y desconjugadas de ISG15, es decir, su expresión está regulada por interferones. Las enzimas de la vía ISG15 también se regulan positivamente con tratamientos de lipopolisacáridos y ácido retinoico y con exposición a daño del ADN o reactivos genotóxicos. La proteína ISG15 libre sintetizada a partir del gen *ISG15* se conjugaba postraduccionalmente con proteínas celulares y también es secretada por las células al medio extracelular. La proteína ISG15 se expresa mínimamente en condiciones fisiológicas. Sin embargo, su expresión dependiente de IFN se encuentra aberrantemente elevada o comprometida en diversas enfermedades humanas, incluyendo múltiples tipos de cáncer, trastornos neurodegenerativos (ataxia telangiectasia y esclerosis lateral amiotrófica), enfermedades inflamatorias (susceptibilidad mendeliana a la enfermedad micobacteriana [MSMD], bacteriopatía y viropatía), y en la médula espinal lumbar de veteranos expuestos a traumatismo craneoencefálico (TCE) (Mirzalieva, O., et al., 2022).

La expresión de ISG15 es mínima en condiciones fisiológicas normales. Sin embargo, se observa una elevación constitutiva de ISG15 en casos de cáncer, enfermedades neurodegenerativas, en casos de TCE (Traumatismo Craneoencefálico), y en respuesta a infecciones por patógenos. Se han demostrado varios mecanismos mediante los cuales la ISG15 libre y la ISGilación posiblemente contribuyan a la etiología de enfermedades humanas. ISG15 está involucrado a través del marcado de proteínas para degradación, antagonizando la degradación de proteínas (estabilizando proteínas), afectando la localización de proteínas, previniendo la formación de complejos proteicos o regulando las respuestas inmunes. Se ha observado que el ISG15 libre aumenta su respuesta con IFN a los primeros 30 minutos y tiene su proceso de ISGilación a partir de las 12 a 72 hr, lo que sugiere que las enzimas conjugadoras de ISG15 codificadas por ISG pueden no ser inducidas eficientemente (dentro de los 30 minutos) en todos los tipos de células después del tratamiento con IFN, retrasando en consecuencia la ISGilación (Mirzalieva, O., et al., 2022).

En 2005, se realizaron dos estudios proteómicos para ayudar a aclarar las funciones y el alcance de la conjugación de ISG15. Estos estudios revelaron que ISG15 se conjuga con una multitud de objetivos dentro de la célula tras la estimulación con interferón. Estos objetivos celulares están involucrados en cada aspecto de la función celular, incluida la replicación/replicación del ADN, el metabolismo celular, la transducción de señales y la organización del citoesqueleto, entre varios otros (Mirzalieva, O., et al., 2022).

Un estudio encontró que la mayoría de los objetivos nucleares para ISG15 están involucrados en la remodelación de la cromatina/transcripción de la ARN polimerasa II o el procesamiento del ARN. La consecuencia de la conjugación de ISG15 con la mayoría de los otros objetivos celulares sigue sin estar clara. Por otra parte, en los últimos años, el desarrollo de herramientas genéticas (siRNAs, shRNAs y ratones KO para ISG15, Ubel11 y Ubp43) y ensayos enzimáticos *in vitro*, así como la disponibilidad comercial de proteínas/enzimas purificadas, han facilitado nuestra comprensión de las funciones biológicas/celulares de ISG15. Se demostró que la ISG15 podría estimular la producción de IFN- γ en células mononucleares de sangre periférica bovina, linfocitos T y células T CD3+. Además, la ISG15 estimuló la proliferación de células asesinas naturales CD56+ en presencia de células T CD3+, lo que resultó en una lisis mejorada de células diana restringida por el complejo de histocompatibilidad activado por linfocinas (Bogunovic D., et al., 2013).

Estudios recientes han revelado que los niveles de proteína ISG15 y MX-1 (proteína de resistencia a Myxovirus-1), ambos inducidos por IFN tipo I, aumentan en las células mononucleares de sangre periférica (PBMC) de pacientes sintomáticos (SARS-CoV-2) pero no en pacientes asintomáticos, y no infectados. No está claro si los niveles aumentados de ISG15 y MX-1 se deben a la elevación persistente de la inducción de IFN. Se necesitan más estudios para determinar si los niveles sostenidos de ISG15 y MX1 se deben a la falta de estabilización mediada por ISG15 de USP18 en pacientes sintomáticos de COVID-19 (Mirzalieva, O., et al., 2022).

También se demostró que el ISG15 libre purificado recombinante tiene una actividad inmunomoduladora similar a la de las citocinas, lo que sugiere que el ISG15 puede tener funciones de inmunovigilancia del cáncer antitumoral *in vivo* (Mirzalieva, O., et al., 2022).

Se encontró que los pools de ISG15 (UCRP) y LMP2 estaban basalmente elevados en fibroblastos humanos con la rara enfermedad neurodegenerativa hereditaria Ataxia Telangiectasia (AT) debido a la activación constitutiva de la vía de inducción de IFN- β . Por otro lado, se ha revelado que ISG15 está de hecho elevado en fibroblastos derivados de pacientes con AT y tejido cerebral tanto de pacientes con AT como de ratones KO. En particular, la expresión elevada de ISG15 en AT es tres veces mayor en el cerebelo, una parte del cerebro afectada en AT, en comparación con el tejido cerebral en los mismos ratones. De manera similar al cáncer, la degradación proteica defectuosa es un sello distintivo de los trastornos neurodegenerativos (Bogunovic D., et al., 2013).

Estos resultados sugieren que la activación de ISG es una característica compartida de las lesiones neuronales y que ISG15 puede ser un biomarcador adecuado para detectar lesiones neuronales en el sistema nervioso central (SNC). Sin embargo, se requiere mayor investigación para determinar si existe una relación causal con la neurodegeneración. ISG15 y la ISGilación desempeñan funciones inhibitoras y/o estimuladoras en la etiología y patogénesis de las enfermedades humanas. Por lo tanto, ISG15 se considera un arma de doble filo para las enfermedades humanas en las que su expresión está elevada. Debido a las funciones de ISG15 e ISGilación en la proliferación, migración y metástasis de células cancerosas, lo que confiere sensibilidad a los fármacos anticancerígenos en las células tumorales, y a su elevada expresión en cáncer, trastornos neurodegenerativos y veteranos expuestos a TCE, tanto ISG15 como ISGilación se consideran actualmente biomarcadores diagnósticos/pronósticos y dianas terapéuticas para estas enfermedades (Bogunovic D., et al., 2013).

Utilizando anticuerpos específicos de ISG15, se demostró inicialmente que el ISG15 libre y su forma conjugada de proteína (ISGilación) aumentan en tumores sólidos humanos y líneas celulares tumorales en relación con sus respectivas contrapartes normales. Desde entonces, varios estudios han revelado que la vía ISG15 está constitutivamente elevada en la mayoría de las neoplasias malignas humanas y que el ISG15 elevado contribuye a la transformación maligna de células en cultivo. Hasta la fecha, es evidente que la expresión del gen *ISG15* está elevada en la mayoría de los cánceres. Sin embargo, se dispone de muy poca información sobre los niveles de expresión de la proteína ISG15 libre y sus conjugados en cánceres humanos (Desai S., 2015).

La deficiencia hereditaria de ISG15 se asocia con una enfermedad micobacteriana grave tanto en ratones como en humanos. Este fenotipo infeccioso probablemente se deba a la falta de ISG15 secretado, ya que pacientes y ratones con otros errores innatos de inmunidad a IFN- γ también presentan enfermedades micobacterianas. Además de plantear cuestiones mecánísticas, los estudios aquí descritos abren el camino para estudios clínicos en diversos aspectos, desde el uso de ISG15 recombinante en pacientes con enfermedades infecciosas hasta el uso de agentes bloqueadores de ISG15 en pacientes con enfermedades inflamatorias (Mirzalieva, O., et al., 2022).

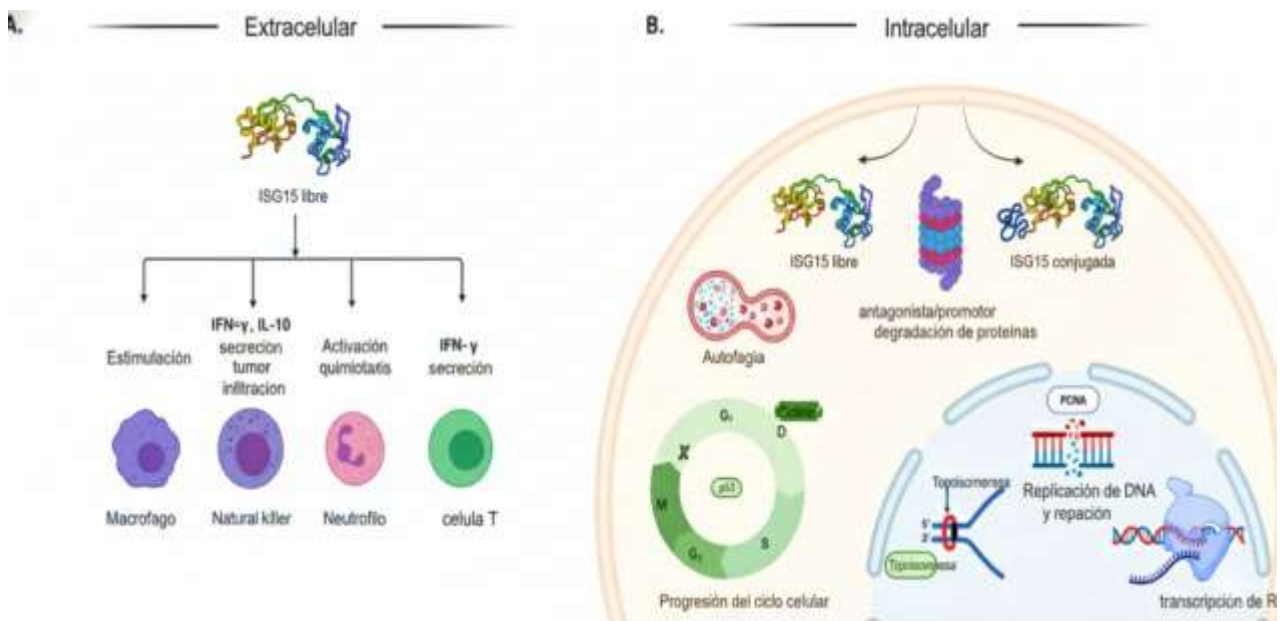


Figura 22. Funciones de ISG15 libre y conjugado: (A) ISG15 estimula la producción de IFN- γ en células mononucleares de sangre periférica bovina, linfocitos T y células T CD3⁺. ISG15 estimula la proliferación de células asesinas naturales CD56⁺ en presencia de células T CD3⁺, lo que conduce a una lisis mejorada de la célula diana restringida por complejo no mayor de histocompatibilidad activado por linfocinas. La unión de ISG15 al receptor LFA1 en las células NK estimula la liberación de IFN- γ e IL-10 de las células NK cebadas con IL-12. La ISG15 secretada también puede influir en la quimiotaxis de los neutrófilos.

(B). La proteína ISG15 libre sintetizada a partir del gen ISG15 se encuentra en las células en sus formas intracelulares libre y conjugada. La ISG15 libre intracelular, desestabiliza algunas proteínas celulares. La mayoría de los objetivos nucleares para ISG15 participan en la remodelación de la cromatina/transcripción de la ARN polimerasa II o el procesamiento del ARN. La ISG15 inhibe la degradación de proteínas mediada por el proteasoma y aumenta la degradación de proteínas por autofagia selectiva. La ISG15 confiere sensibilidad a fármacos dirigida a la topoisomerasa a las células tumorales. Las consecuencias de la ISG15 para la degradación de proteínas de sustratos mediada por ubiquitina son variables y pueden ser específicas del contexto. (Tomado de ISG15: "A link between innate immune signaling, DNA replication, and genome stability", 2023).

3. IFN- γ , ISG15 Y LA MICROGLIA.

El cerebro ha sido considerado durante mucho tiempo como un sitio inmunológicamente privilegiado debido a la falta de un complejo mayor de histocompatibilidad (MHC), la expresión de antígenos en las células neurales, la falta de drenaje linfático y la presencia de la barrera hematoencefálica, que bloquea la invasión del sistema inmunológico. células y anticuerpos en el cerebro. Sin embargo, las linfocinas, especialmente el IFN- γ , inducen la expresión del antígeno del MHC de clase I en las células neuronales y gliales. El IFN- γ también induce la expresión del MHC de clase II en la microglía, algunas poblaciones de astrocitos y células endoteliales, lo que les permite funcionar como células presentadoras de antígenos (APC) (Suzumura A. 2008).

Para presentar eficazmente antígenos a las células T, las APC deben expresar moléculas coestimuladoras. Se ha demostrado que la microglía, los astrocitos y las células endoteliales expresan estas moléculas coestimuladoras, y su expresión se ve reforzada por el IFN- γ . El IFN- γ también regula al alza las moléculas de adhesión en las células gliales. En ciertas condiciones patológicas, por lo tanto, el IFN- γ puede alterar la función de las células gliales para inducir una interacción activa con las células inmunes. IFN- γ también induce la producción de una variedad de citocinas. El IFN- γ junto con el lipopolisacárido (LPS), induce la producción del heterodímero funcional de IL-12 e IL-23 en las células gliales, citocinas críticas para inducir respuestas T helper 1 (Th1). Además, IFN- γ activa la función de la microglía como células efectoras en la desmielinización inflamatoria o en la degeneración neuronal. Mejora la producción de TNF- α , óxido nítrico (NO) y superóxido por microglía y astrocitos IFN- γ (Suzumura A. 2008).

La microglía activada por IFN- γ puede matar neuronas al secretar estos productos solubles. Además, según se informa, el IFN- γ induce la gliosis astrocítica al inducir la proliferación de astrocitos. Por tanto, el IFN- γ juega un papel fundamental en la inducción de diversas patologías del sistema nervioso central (SNC). La producción de IFN- γ se considera restringida a las células linfoides. Recientemente, se ha demostrado, sin embargo, que las células del prosencéfalo fetal humano son inducidas a expresar ARNm y proteína de IFN- γ cuando se estimulan con el factor desencadenante de linfocitos tripanosoma (TLTF). Los autores afirman que los astrocitos son los principales productores de IFN- γ en respuesta a TLTF. Otros estudios también han sugerido la posibilidad de que las células del SNC produzcan IFN- γ . (Kawanokuchi J., et al., 2006).

La inducción de IFN- γ puede desempeñar un papel fundamental en el desarrollo de diversas patologías del SNC activando la microglía para que funcione como células inmunorreguladoras o efectoras. Los roles emergentes de la microglía se están investigando actualmente en el cerebro sano y enfermo con un creciente interés en sus diversas funciones. En los últimos años, se ha demostrado que las microglías no solo son inmunocéntricas, sino también neurobiológicas y pueden afectar el desarrollo neuronal y el mantenimiento de la función de las células neuronales tanto en contextos sanos como patológicos. En el contexto de la enfermedad, existe un consenso generalizado de que las microglías son células dinámicas con el potencial de contribuir tanto al daño como a la reparación del sistema nervioso central. (Kawanokuchi J., et al., 2006).

De hecho, varios estudios han encontrado que las condiciones micro ambientales pueden modificar selectivamente los fenotipos y funciones únicos de la microglía. Tanto en el SNC sano como en el enfermo, las microglías están expuestas perpetuamente a diversos estímulos ambientales que pueden influir en su función y, a menudo, corresponden a un perfil molecular y morfológico único. El IFN- γ también regula al alza las moléculas de adhesión en las células gliales. En ciertas condiciones patológicas, por lo tanto, el IFN- γ puede alterar la función de las células gliales para inducir una interacción activa con las células inmunes (Bogunovic D., et al., 2013).

Muchos ISG, controlan las infecciones virales, bacterianas y parasitarias al dirigirse directamente a las vías y funciones necesarias durante los ciclos de vida de los patógenos. Los ISG adicionales codifican proteínas proapoptóticas, lo que conduce a la muerte celular en determinadas condiciones. Uno de los ISGs inducido por IFN- γ en algunos tipos celulares es ISG15 (Bogunovic D., et al., 2013).

Los neutrófilos, monocitos y linfocitos humanos pueden liberar ISG15, aunque esta proteína no tiene una secuencia de péptido señal detectable. También se ha encontrado ISG15 en los gránulos secretorios de los granulocitos. ISG15 e IFN- γ parecen definir un circuito innato que opera preferencialmente, pero no exclusivamente, entre granulocitos y células NK (Bogunovic D., et al., 2013).

El producto génico estimulado con interferón ISG15, es uno de los genes más inducidos en respuesta a la infección viral. ISG15 es parte de una clase de proteínas que comparten una homología estructural con la ubiquitina (Ub) (Bogunovic D., et al., 2013).

Aunque ISG15 juega un papel importante en la activación de la inmunidad antiviral, también proporciona supresión por retroalimentación negativa de las vías de señalización antiviral, este también consta de otros procesos (Bogunovic D., et al., 2013).:

1. Actividad de citocina extracelular-doble vida es detectable tanto en sangre como en orina como citocina y quimiocina.
2. Inhibición de la degradación proteosomal
3. Autofagia selectiva
4. Inhibición de la traducción de proteínas

Por otra parte, el receptor de ISG15 extracelular se identificó recientemente como el antígeno 1 asociado a la función leucocitaria (LFA-1), una molécula de adhesión de la familia de las integrinas compuesta por una subunidad α L y β 2. Sin embargo, también puede influir en muchos otros procesos celulares, incluida la inhibición de la secreción de exosomas, la atenuación de la hipoxia, la activación de la secreción de citocinas, así como la modulación de la dinámica del citoesqueleto. Además, se predijo que un porcentaje similar de dianas de ISGilación se ubicarían en el núcleo, el citoplasma, el espacio extracelular o como proteínas secretadas (Bogunovic, D., et al., 2013).

ISG15 y su proceso de ISGilación, están involucrados en la regulación del metabolismo mitocondrial. Las proteínas ISGiladas se pueden encontrar en todas las localizaciones mitocondriales, principalmente en el espacio intermembrana mitocondrial (IMS) y la membrana mitocondrial interna (IMM), donde también está presente ISG15 libre. La interacción entre IFN- γ e ISG15 en microglia es un área de investigación activa. El IFN- γ , una citocina clave en la inmunidad, puede inducir la expresión de ISG15 en varios tipos de células, incluyendo microglia. ISG15 es una proteína que puede ser conjugada a otras proteínas, modificando su función y actividad. En microglia, la señalización de IFN- γ y la expresión de ISG15 están involucradas en la regulación de la respuesta inmune, la fagocitosis y la neuroinflamación (Bogunovic D., et al., 2013).

- El papel del IFN- γ en la regulación de ISG15 en microglía:
 1. El IFN- γ , producido por células T y células NK, puede activar la microglía e inducir la expresión de ISG15.
 2. ISG15, a su vez, puede influir en la función de la microglía, incluyendo la fagocitosis de patógenos y células dañadas.
 3. La interacción entre IFN- γ e ISG15 puede ser importante en la defensa contra infecciones y en la regulación de la neuro inflamación.
- El papel de ISG15 en la función de la microglía:
 1. ISG15 es una proteína, similar a la ubiquitina, que puede conjugarse a otras proteínas, alterando su función y actividad.
 2. La conjugación de ISG15 puede afectar la actividad de las proteínas involucradas en la respuesta inmune de la microglía.
 3. En la microglía, ISG15 puede influir en la fagocitosis, la presentación de antígenos y la liberación de citocinas.
 4. La expresión de ISG15 en la microglía también puede afectar la señalización del IFN-I y la respuesta a infecciones virales.

En resumen, la interacción entre IFN- γ e ISG15 en microglía es un proceso complejo con implicaciones importantes en la inmunidad, la neuro inflamación y potencialmente en enfermedades neurológicas. La investigación en curso está explorando los mecanismos precisos de esta interacción y su papel en la salud y la enfermedad.

III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.

¿La vía de señalización del IFN-gamma podrían modular los niveles de ISG15 en células de microglía y estar asociados con la activación de estas células en algunas neuropatologías?

IV. HIPOTESIS.

La vía de señalización del IFN- γ incrementará los niveles de la proteína ISG15 en las células de microglía, lo cual podría relacionarse con la progresión de algunas neuropatologías.

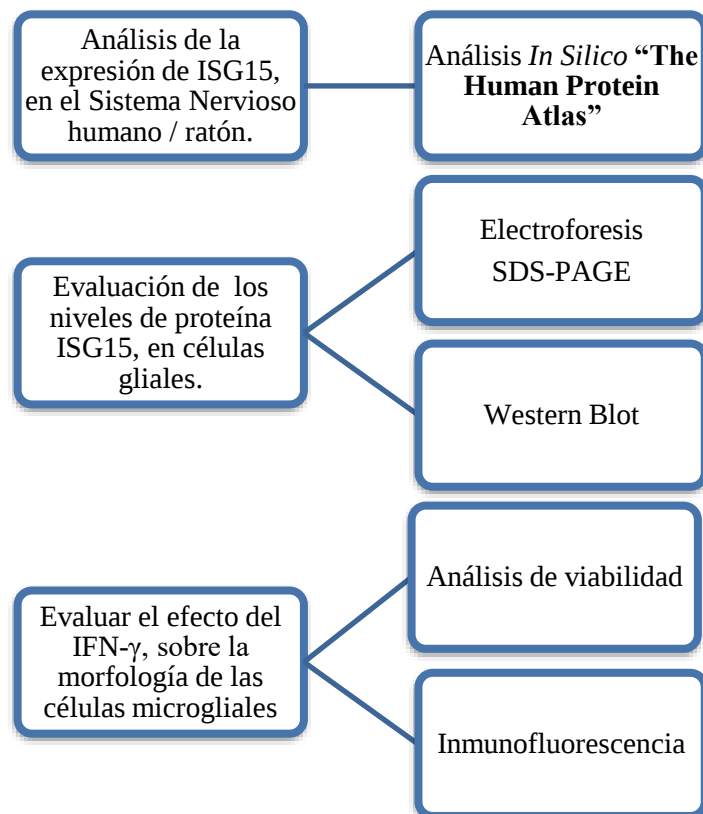
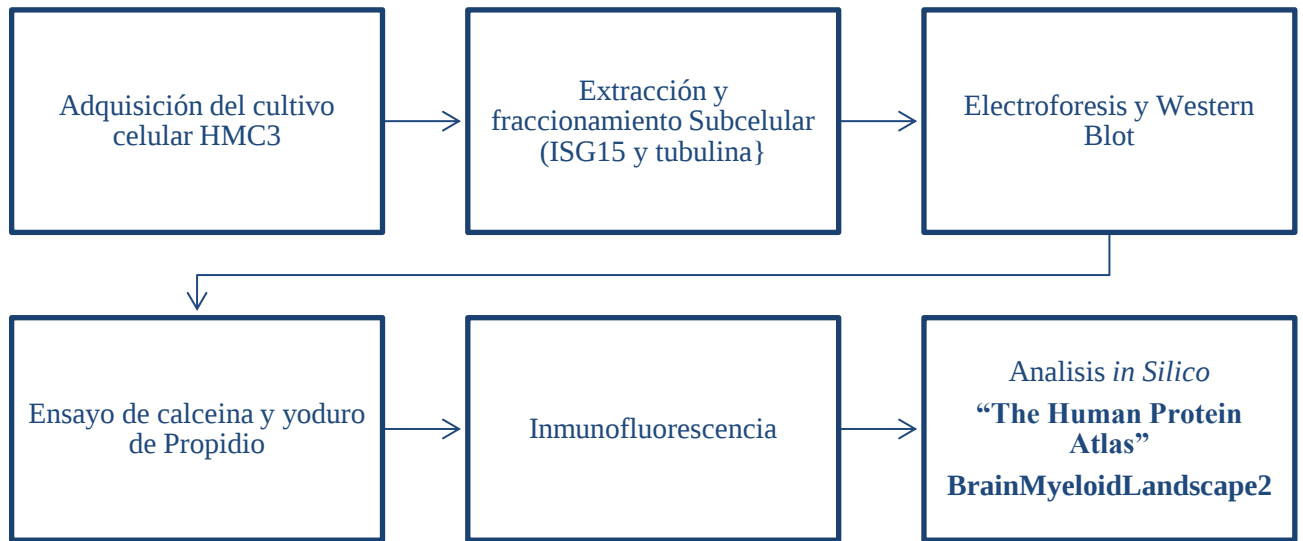
V. OBJETIVO GENERAL.

Analizar el efecto del IFN- γ sobre los niveles de ISG15/ISG15ilación en células de microglía y su asociación con algunas neuropatologías.

VI. OBJETIVOS PARTICULARES.

1. Analizar la expresión de ISG15, en el Sistema Nervioso humano / ratón.
2. Evaluar los niveles de proteína ISG15, en células gliales.
3. Evaluar el efecto del IFN- γ , sobre la morfología de las células microgliales.
4. Analizar la localización y abundancia de ISG15, en células microgliales.
5. Analizar la relevancia de ISG15, en un contexto neuropatológico (isquemia).

VII. ESTRATEGIA EXPERIMENTAL.



1. CULTIVO/LÍNEA CELULAR HMC3.

La línea celular HMC3, correspondiente a la clona de microglía humana, fue establecida en 1995 por el equipo del profesor Tardieu mediante un proceso de inmortalización dependiente del virus SV40. Esta línea se originó a partir de células microgliales extraídas de tejido cortical y medular humano, obtenido de embriones con una edad gestacional entre 8 y 12 semanas.

Las células primarias utilizadas presentaban un patrón de división lento y una morfología compleja. Antes del procedimiento de inmortalización fueron cultivadas durante un periodo de 10 a 15 días. Una vez establecida la línea HMC3, se observó que las células conservaron características propias de la microglía primaria, incluyendo la expresión de marcadores mieloides como CD68, CD11b y CD14, aunque la intensidad de dicha expresión resultó variable según el anticuerpo primario empleado, en especial en el caso de CD68.

Después el proceso de inmortalización, las células HMC3 mostraron un incremento significativo en sus tasas de proliferación, con tiempos de duplicación que oscilaron entre 24 y 48 horas, manteniendo a la vez rasgos fenotípicos y morfológicos semejantes a las células microgliales originales.

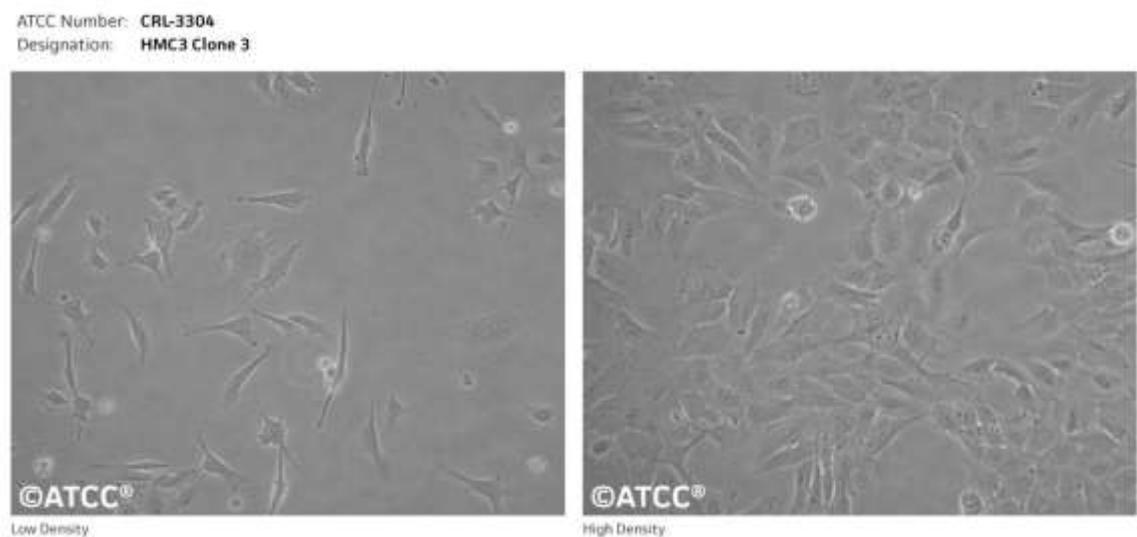


Figura 23. Células HMC3: Organismo-Humano; Tejido-Cerebro fetal; Aplicaciones-cultivo celular3D, Neurociencia, Neuroinflamación; Sinónimos-Clon 3 de microglía humana, CHME-3, CHME3; Morfología -macrófago (Tomada de “ATCC”).

2. EXTRACCION Y FRACCIONAMIENTO CELULAR.

La extracción y fraccionamiento celular es una técnica fundamental en biología molecular y celular cuyo objetivo es aislar y purificar los distintos componentes funcionales de la célula, tales como orgánulos, proteínas y macromoléculas, para su análisis bioquímico y funcional. El proceso implica dos etapas principales: primero, la lisis celular (ruptura de la membrana celular) para crear un homogeneizado uniforme del tejido o cultivo celular; y segundo, la separación de los orgánulos y componentes mediante métodos como la centrifugación diferencial o la centrifugación en gradiente de densidad.

Esta metodología permite la localización subcelular precisa de biomoléculas específicas, lo cual es crucial para elucidar sus funciones dentro del compartimento celular correspondiente en el contexto de la investigación.

Para ello, la línea celular HMC3-microglia, se encontraba dependiente de SV40 (papovirus SV-40 para mantener su proliferación); en nitrógeno liquido. El cultivo celular HMC3 fue resembrado y distribuido para obtener una muestra de control y una muestra estimulada con IFN- γ durante 24 horas. Posteriormente se retiró el medio de cultivo con la bomba de vacío, se realizó el lavado con 500 μ l de PBS 1x (este en frío) y su posterior aspiración. Posteriormente se rasparon las células y los lisados obtenidos se recolectaron en tubos eppendorf, se dejaron en agitación durante 15 min a 4 °C, después se centrifugó a 13. 2 Krpm por 5 min a 4 °C, y se recuperó el sobrenadante (muestra total citoplasmática) y en otros tubos se mantuvo el extracto nuclear..

24 h.

En el caso del fraccionamiento, al retirar el medio del cultivo celular, se 1 ml de buffere de homogenización, con sacaroza e imidazol (0.1715 g de sacarosa y 60 μ l de imidazol por 2 ml de agua).

Se realizo 13 veces un fraccionamiento mecanico de las muestras con ayuda de una aguja de 22 G. La s muestras se centrifugaron a 3.4 Krpm,por 10 min a 4°C. Las muestras se pasaron por frio hasta visualizar una separación. A cada muestra nuclear se le agrego 1ml de RIPA y 500 μ l a las muestras citoplasmáticas. Furon mantenidas en agitación por 1hora a 4°C; nuevamente fueron centrifugadas a 13.4 Krpm por 5 min a 4°C, para posteriormente ser resguardadas.

3. ELECTROFORESIS SDS-PAGE Y WESTERN BLOT .

Esta técnica es de alta sensibilidad y rapidez empleada para identificar y estudiar proteínas, basada en la interacción específica entre un antígeno y su anticuerpo. El proceso comienza con la separación de proteínas mediante electroforesis en gel bajo condiciones desnaturalizantes (SDS-PAGE). Posteriormente, las proteínas se transfieren de forma irreversible a una membrana de PVDF, lo que permite inmovilizarlas para su análisis. En esta fase, los antígenos presentes en la membrana son reconocidos selectivamente por anticuerpos monoclonales o policlonales, lo que facilita su detección y caracterización.

Las muestras del fraccionamiento celular fueron centrifugadas por 1 minuto a 13.2 Krpm. Se realizaron tres tipos de geles de separación, uno al 7.5 % para la separación de tubulina y uno al 15% para la separación de ISG15. Y el tercero es el gel concentrador al 4%.

En los pozos se agregaron las muestras que contaron con SDS (lauril sulfato sódico o dodecil sulfato sódico), el cual permitió la ruptura de las proteínas, y su separación por Peso Molecular, después se agregó el buffer de corrida en el equipo y las muestras corrieron de cátodo a ánodo.

Se mantuvieron varios voltajes hasta obtener las siguientes referencias:

- 80 volts – hasta que la muestra observó por debajo de los pozos.
- 90 volts – hasta que la muestra se encuentre a la mitad del gel separador
- 100 volts – hasta al borde final del gel separador

Esto tuvo un tiempo aproximado de 1:50 minutos.

Lo obtenido en nuestro gel fue transferido a una membrana de PVDF; esto fue realizado con un buffer de transferencia (suero de leche al 5%) donde se fijaron las muestras con un anticuerpo monoclonal (5 ml) para identificar a la proteína ISG15 (Ac-conejo) (1:1000) (F-9, sc-166,755 Santa-Cruz Biotechnology) y la tubulina (Ac-ratón) anticuerpo primario anti- α -tubulina (1:1000) (B7, sc-5286 Santa-Cruz Biotechnology). Al fijarse las muestras en la membrana, se realizó el revelado para la detección de las proteínas; primeramente, se agregó 1 μ L de anticuerpo de cada uno con 10 ml de TBT-T por una hora, para pasar después por 3 lavados de 3 minutos. Pasado el tiempo, se agrega el reactivo de detección, se irá a un cuarto oscuro, donde se adicionó un fijador y agua. Ya con el apoyo de un foco rojo serán detectadas las proteínas ISG15 y tubulina.

4. INMUNOFLUORESCENCIA.

Para realizar la técnica se realizó lo siguiente:

Se preparó una caja de 6 pozos con cubreobjetos y se sembraron las células HMC3.

En cada pozo se colocó un cubreobjetos a los cuales se les realizaron 3 lavados con 1 ml de alcohol etílico, después un lavado con 1 ml de PBS estéril, y posteriormente se agregó 1 ml de polilisina a cada pozo con cubreobjetos por 10 min. Pasado el tiempo, se retiró la polilisina y se lavó con 1 ml de PBS estéril y se dejó en luz UV por 30 min. Una vez preparada la caja, en cada uno de los pozos se sembraron las células y se dejaron crecer.

Cuando las células saturaron los cubreobjetos, se retiró el medio de cultivo, por medio de 3 lavados con PBS, después de los lavados se fijaron con paraformaldehído (PFA) al 4% por 8 min, terminada la fijación, las células fueron lavadas 3 veces con PBS. Posteriormente se permeabilizaron con tritón 100x al 0.1% por 5 min, y así los anticuerpos ingresaron a las células. Una vez permeabilizadas, las células se bloquearon con albúmina al 10% por 1 hora, para evitar alguna inespecificidad en los anticuerpos. Terminado el bloqueo, se agregó el anticuerpo primario (anti-ISG15) (1:100) (F-9, sc-166.755). y se dejaron incubando toda la noche a 4 °C. Se lavaron las células con PBS tres veces por 5 min cada lavado.

Se colocó un anticuerpo secundario (1:100) IgG anti-ratón Alexa Fluor 647 (ab150107, Abcam), correspondiente para cada proteína que tiene un fluoróforo en ellos y se dejaron incubando por 1 hora en oscuridad; pasada la hora se lavaron 3 veces con PBS por 5 min, por último, se colocaron cubreobjetos sobre los portaobjetos con DAPI para montarlos, ya montados los cubreobjetos se protegieron de la luz y fueron observados al microscopio.

5. ANÁLISIS DE VIABILIDAD MEDIANTE COLORANTES FLUORESCENTES.

La calceína-AM es un colorante muy lipófilo y permeable a la membrana celular. Si bien, en sí misma no es una molécula fluorescente, la calceína generada a partir de la calceína-AM por esterasas en una célula viable emite una fluorescencia verde fuerte (λ_{ex} 490 nm, λ_{em} 515 nm). Por consiguiente, la calceína-AM solo tiñe las células viables.

Por el contrario, el colorante de tinción de los núcleos. El yoduro de propidio tiñe a las células no viables de color rojo, ya que las células no viables tienen una membrana plasmática comprometida y el colorante puede entrar en la célula y se une al ADN. Alcanza el núcleo atravesando áreas desordenadas de la membrana de células muertas, y se intercala en la doble hélice del ADN para emitir fluorescencia roja (λ_{ex} 535 nm, λ_{em} 617 nm). Dado que tanto la calceína-AM como el PI-ADN pueden excitarse con luz de 490 nm, es posible el control simultáneo de células viables y muertas con un microscopio de fluorescencia de excitación.

Las células transfetadas se incubaron con calceína-AM y luego las células se analizaron mediante microscopía de fluorescencia. La morfología celular se realizó utilizando un microscopio de barrido láser confocal.

6. ANALISIS *In silico*, “The Human Protein Atlas”

Para cada uno de los tres conjuntos de datos transcriptómicos (HPA, GTEx y FANTOM5), se utilizó el valor promedio de TPM de todas las muestras individuales para cada tejido humano o tipo de célula humana para estimar el nivel de expresión génica. Para poder combinar los conjuntos de datos en niveles de expresión de transcripción de consenso, se configuró una tubería para normalizar los datos para todas las muestras. En resumen, todos los valores de TPM por muestra se escalaron a una suma de 1 millón de TPM (denotado pTPM) para compensar las transcripciones no codificantes que se habían eliminado previamente.

El conjunto de datos de secuenciación de ARN de sangre no se ajustó a limma. Los valores de expresión de la transcripción resultantes, denominados expresión normalizada (NX), se calcularon para cada gen en cada muestra.

En el Atlas de Proteínas Humanas, el valor de NX para cada gen y tejido se calculó y visualizó en la página de resumen de genes, junto con los valores pTPM de cada muestra. Los niveles de expresión de transcripción de consenso para cada gen se resumieron en 74 tejidos humanos, basándose en datos transcriptómicos de tres fuentes: HPA, GTEx y FANTOM5. El valor de expresión normalizada de consenso (NX) para cada gen y órgano/tejido representa el valor máximo de NX en las tres fuentes de datos. Para tejidos con múltiples subtejidos (regiones cerebrales, células sanguíneas, tejidos linfoides e intestino), se utiliza el máximo de todos los subtejidos para el tipo de tejido. El número total de tipos de tejido en el conjunto de consenso de tejidos humanos es de 37 y el número total de tipos de células sanguíneas humanas es de 18.

Los niveles de expresión de la transcripción de consenso se resumen en 10 regiones cerebrales donde se combinaron muestras subregionales y se utilizó el máximo de subregiones para la región cerebral. El cuerpo calloso, la médula espinal, la retina y la hipófisis también se incluyeron en el análisis, pero no se definieron como una de las 10 regiones cerebrales.

Para tejidos con múltiples subtejidos (regiones cerebrales), se utiliza el máximo de todos los subtejidos para el tipo de tejido. El conjunto de datos FANTOM5 se normalizó por separado a nivel de muestra mediante TMM. Las etiquetas por millón normalizadas para cada gen se calcularon con base en el promedio de todas las muestras individuales de cada tejido humano.

Los niveles de expresión de transcripción de consenso para cada gen se resumieron en 50 tejidos humanos con base en datos transcriptómicos de las dos fuentes HPA y GTEx. El valor de consenso de nTPM para cada gen y tipo de tejido representa el valor máximo de nTPM basado en HPA y GTEx.

VIII. RESULTADOS.

1. Análisis de la expresión de ISG15 en el sistema nervioso humano y ratón.

Para identificar la expresión de *ISG15* en regiones cerebrales se utilizó “The Human Protein Atlas”. En todas las regiones del tejido cerebral se reporta la expresión de ISG15. La Gráfica 1 nos refiere que la expresión de ISG15 es alta e igual en la corteza cerebral como en la amígdala, a una media proporción en el hipotálamo y en los ganglios basales, y se encuentra en una proporción muy baja en el cerebelo.

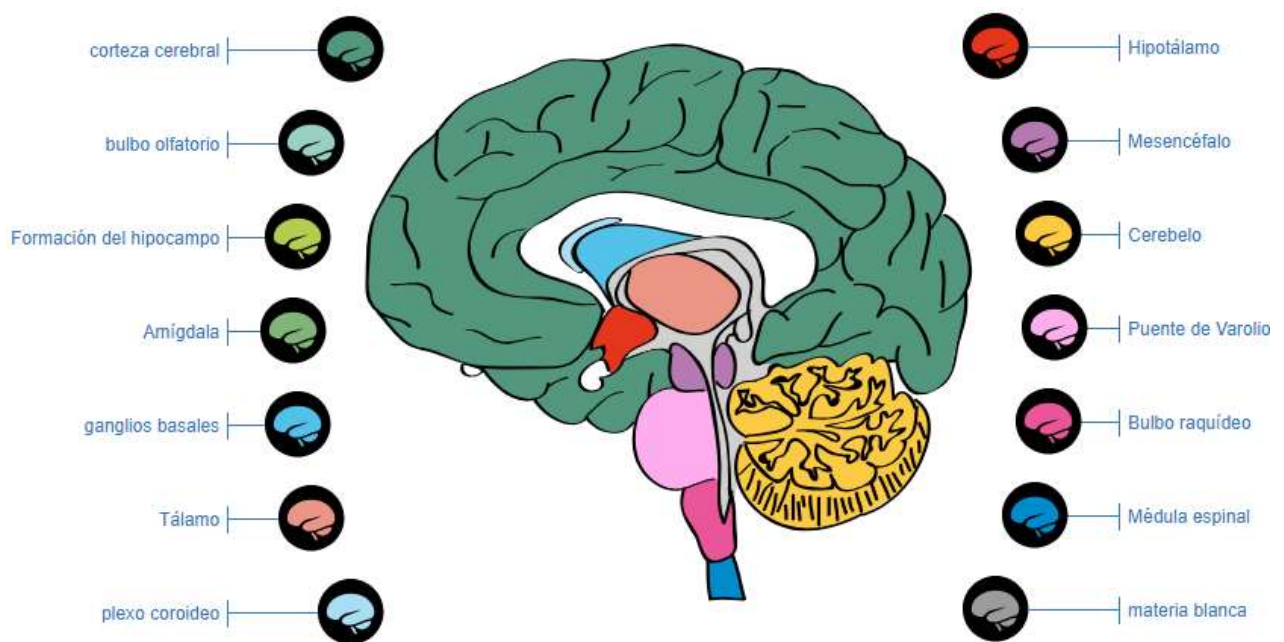
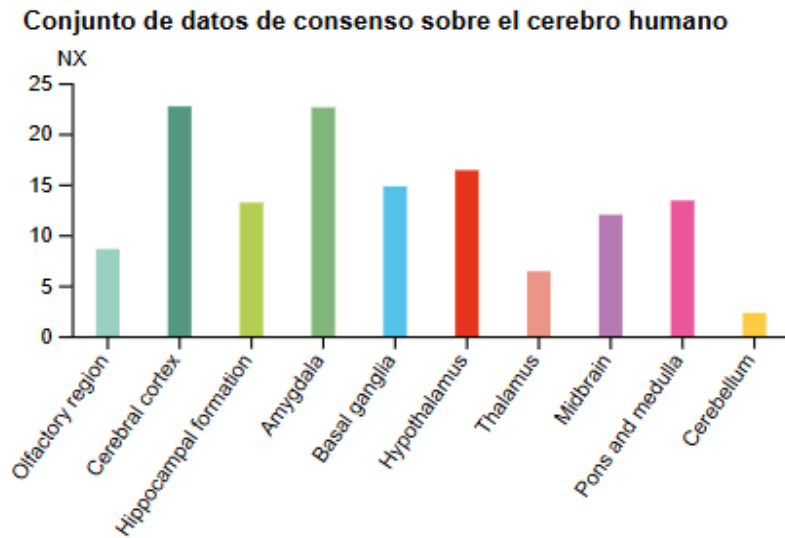


Figura 24. Distribución de la proteína ISG15 en regiones cerebrales.



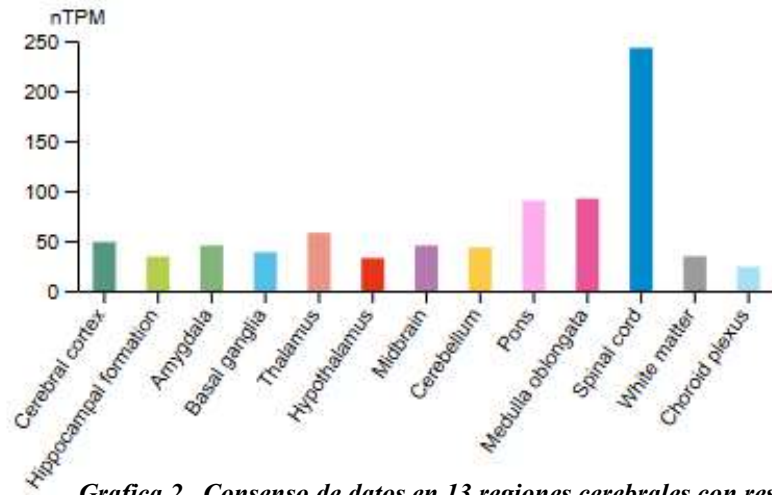
Grafica 1. Expresión de ISG15 en regiones cerebrales: Se crearon niveles de expresión normalizada por consenso (NX) para las 10 regiones cerebrales combinando los datos de dos conjuntos de datos transcriptómicos (GTEx y FANTOM5). La codificación por colores se basa en la región cerebral y la barra muestra la expresión más alta entre las subregiones incluidas.

Se obtuvo un plano transversal, que nos ayuda a identificar hasta qué tanto se dispersa su expresión en los tejidos más internos. De esta manera podemos ver mejor la región de la amígdala, los ganglios basales, el hipotálamo y el cerebelo. En la Gráfica 2, podemos ver que su expresión está fuertemente detectada en la médula espinal. Estas distribuciones son un poco más diversas, ya que se están comparando de 10, a 13 y 14 regiones cerebrales



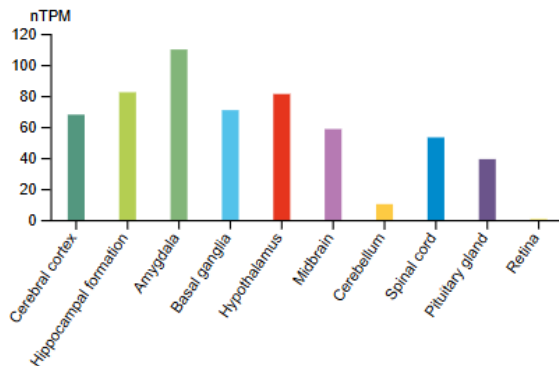
Figura 25. Cortes transversales del cerebro, nos permite una mejor identificación de ISG15.

Conjunto de datos del cerebro humano de HPA



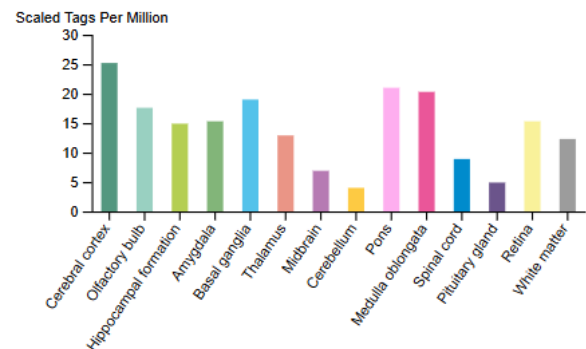
Grafica 2. Consenso de datos en 13 regiones cerebrales con respecto a ISG15: se muestran niveles de la expresión de ARN normalizados (nTPM)

Conjunto de datos de ARN-Seq del cerebro humano GTEx



Grafica 3. Expresión del genotipo respecto al tejido cerebral.

Conjunto de datos CAGE del cerebro humano FANTOM5



Grafica 4. Análisis de la capacidad de la expresión genica por FANTOM5.

En las Gráficas 3 y 4, la expresión de ISG15 es detectada fuertemente en la amígdala, su expresión tanto en el hipotálamo como en el hipocampo es equivalente, seguida de los ganglios basales y la corteza cerebral. Respecto a la gráfica 5, la expresión de ISG15 es sumamente alta en la corteza cerebral, puente de valorio, médula oblongata, ganglios basales y el bulbo olfatorio.

En general, estos resultados sugieren que la presencia de ISG15, puede estar en ciertas regiones del cerebro, y que podría ser importante en la funcionalidad de diferentes partes del cerebro, sin embargo, es altamente constante su detección en la corteza cerebral, lo que podría estar asociado con una función en la protección del tejido cerebral. También en todas las gráficas se confirma, su baja presencia en el cerebelo, por lo que más estudios serán necesarios para entender las implicaciones de ISG15 en la fisiología del cerebelo.

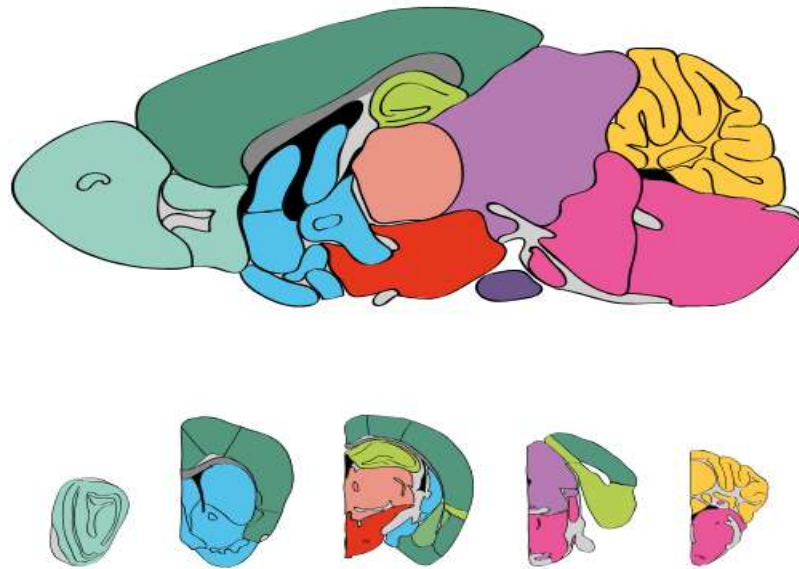
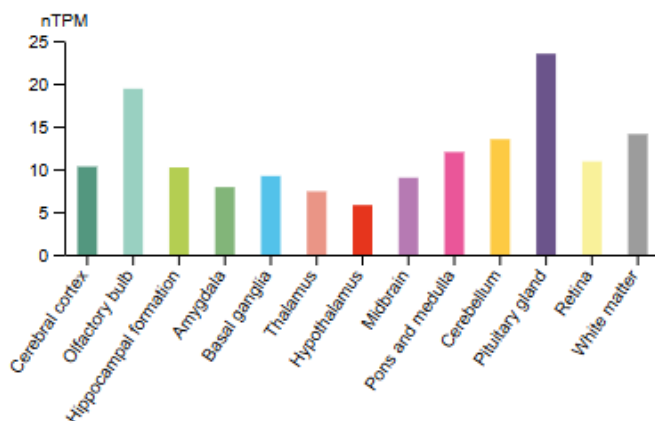


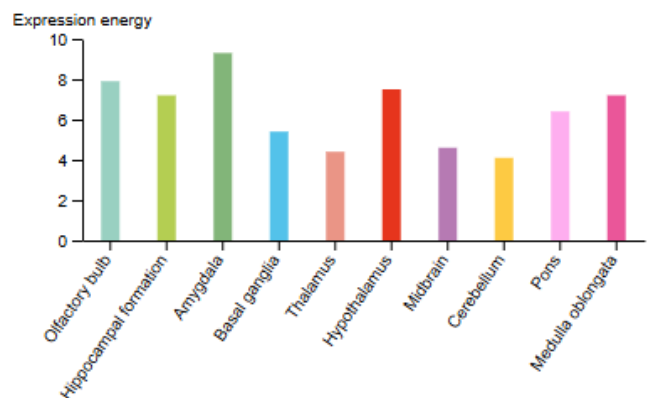
Figura 26. Visualización lateral y cortes transversales del cerebro de ratón.

Conjunto de datos de ARN-Seq de cerebro de ratón HPA



Grafica 5. Conjunto de datos de ratón HPA. Los datos de tejido de secuenciación de ARN de HPA se presentan como nTPM medio, para cada región cerebral analizada en ratones.

Conjunto de datos ISH del cerebro del ratón Allen



Grafica 6. El ISH del cerebro del ratón Allen. Los valores de expresión basados en hibridación in situ (ISH).

Además, la expresión de ISG15 tiene un comportamiento diferencial en tejido cerebral de ratón. Basados en la **Gráfica 5.**, la expresión de ISG15 es alta en la glándula pituitaria, y en la comparación de la Figura 30, en el bulbo olfativo, región por la cual el ratón conoce y regula información también ISG15 está medianamente expresado. Observando la **Gráfica 6.**, la expresión de ISG15 se detecta también en la amígdala como en el hipotálamo.

2. Evaluación los niveles de proteína ISG15, en células gliales.

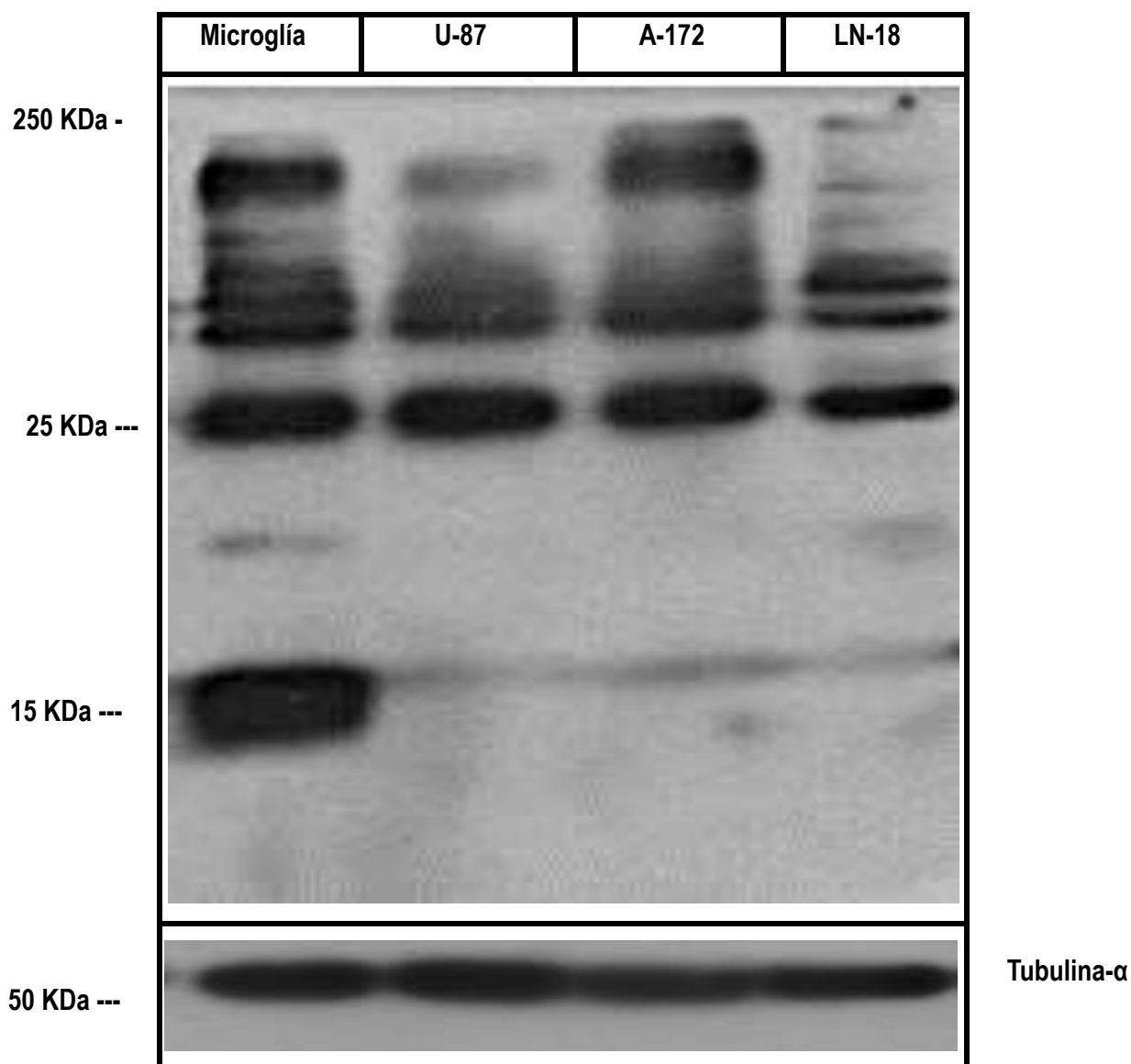


Figura 27. Resultados de la expresión de ISG15 en células de HMC3.

Para evaluar los niveles de la proteína ISG15 en su forma conjugada covalentemente a otras proteínas (ISGilación) o en su forma libre por WB, se utilizaron diferentes tipos celulares de origen celular glial humano.

Como resultado, debemos recalcar la diferencia de cada célula. De acuerdo con la información en la literatura, se conoce que las células HMC3 son derivadas de microglía fetal humana y corresponden a una línea inmortalizada. Los demás tipos celulares son transformados, provenientes de tumores del cerebro humano. U87 es una línea celular humana de glioblastoma que presenta una morfología similar a la de las células epiteliales. A-172 (A172 o A-172 MG) es una importante línea celular derivada también de glioblastoma humano utilizada en la investigación neurocientífica que procede del tejido cerebral de un varón de 53 años con glioblastoma. LN-18 es una línea celular con morfología epitelial humana, del lóbulo temporal derecho con glioblastoma.

Como se puede apreciar en la **Figura 27.**, se observó que ISG15 es detectado en todos los tipos celulares. Sin embargo, el perfil de ISG15 y la forma de ISG15 libre, es diferente dependiendo del tipo celular, resultando interesante que las células de microglia presenten altos niveles de ISG15 libre en comparación con los otros tipos celulares. En cuanto a la ISG15 conjugada, el perfil de proteínas conjugadas a ISG15 se observa presente en todas las líneas celulares, pero parece diferir en abundancia y en el patrón de bandas. Por lo tanto, ISG15 se detecta en células de microglia con un patrón específico diferente a las células derivadas de tumores gliales.

3. Evaluación del efecto del IFN- γ , sobre la morfología de las células microgliales.

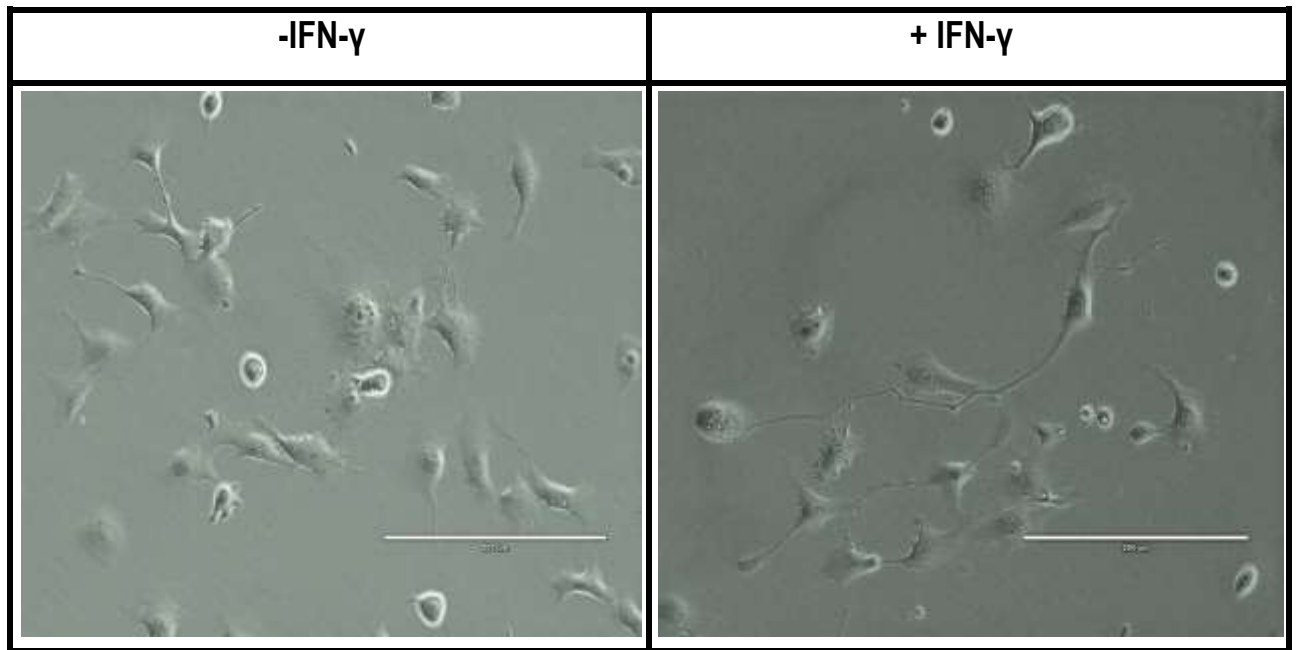


Figura 28. Resultados del análisis de la morfología de la microglía por estimulación de IFN- γ .

Es evidente el cambio de morfología con la presencia del IFN- γ ; podemos visualizar de nuestro lado izquierdo que sin la presencia de IFN- γ (**-IFN- γ**), se presenta el comportamiento natural de la microglía. Se tiene un estado de reposo, un estado ameboide escaso de ramificaciones, vemos que las células tienen una interacción más cercana una a otra, lo que sugiere el fenotipo M2. Por el lado derecho, al presentar la estimulación de IFN- γ , las ramificaciones o extensiones de la microglía son más evidentes entre las células, y una limitada interacción entre ellas, sugiriendo que el fenotipo M1 de la microglía es activado por la estimulación de IFN- γ , siendo el fenotipo M1 su estado de activación clásica proinflamatoria de primer estado de defensa.

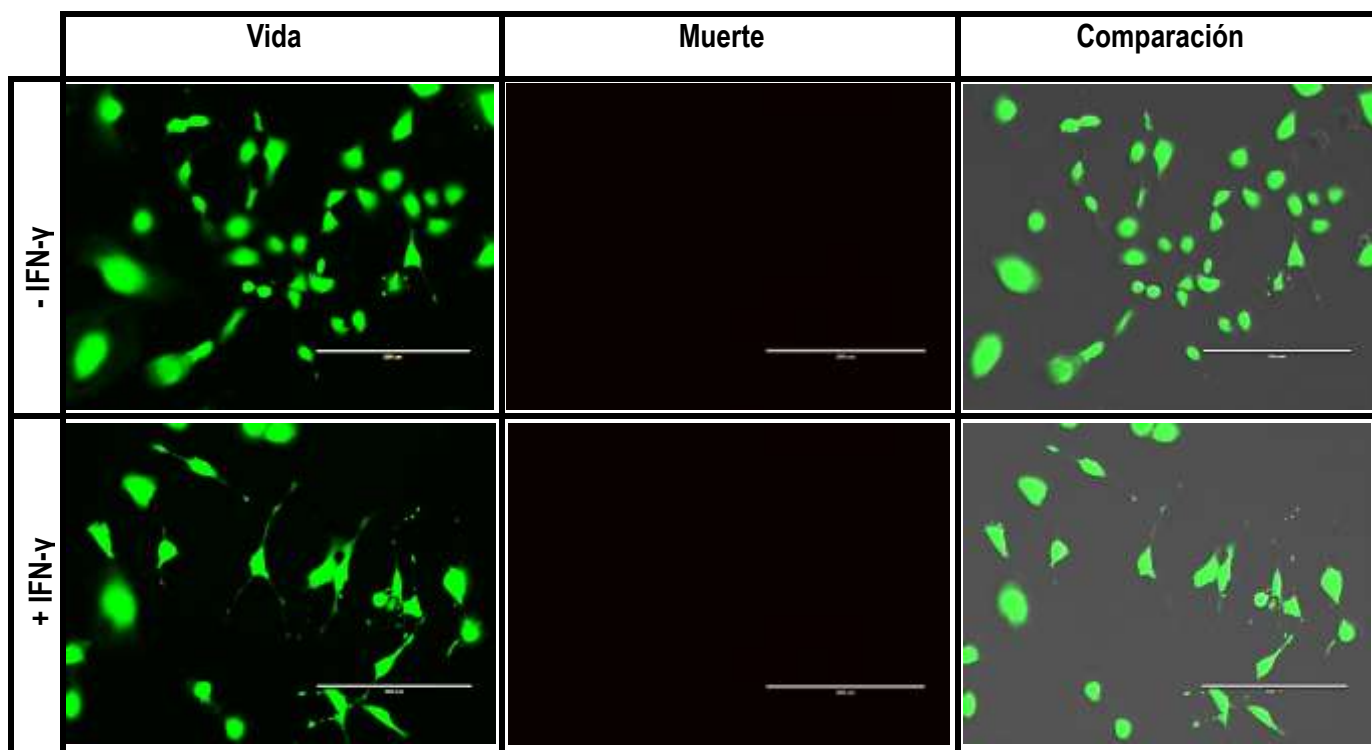


Figura 29. Resultados del ensayo de vida o muerte: las células HMC3 tienen la viabilidad de tener una estimulación se encuentran altamente activas y los fenotipos M1 y M2 microgliales son evidentes.

En la **Figura 29.**, se realizó un ensayo de vida muerte utilizando calceína y yoduro de propidio. Como resultado, se observaron nuevamente los cambios morfológicos de las células tratadas con IFN- γ . De manera interesante, se observa que el estímulo con IFN- γ no afecta la viabilidad celular, ya que no se detectan células muertas. No obstante, el IFN- γ mantiene a las células viables con un cambio morfológico hacia el fenotipo M1.

4. Análisis de la localización y abundancia de ISG15, en células microgliales.

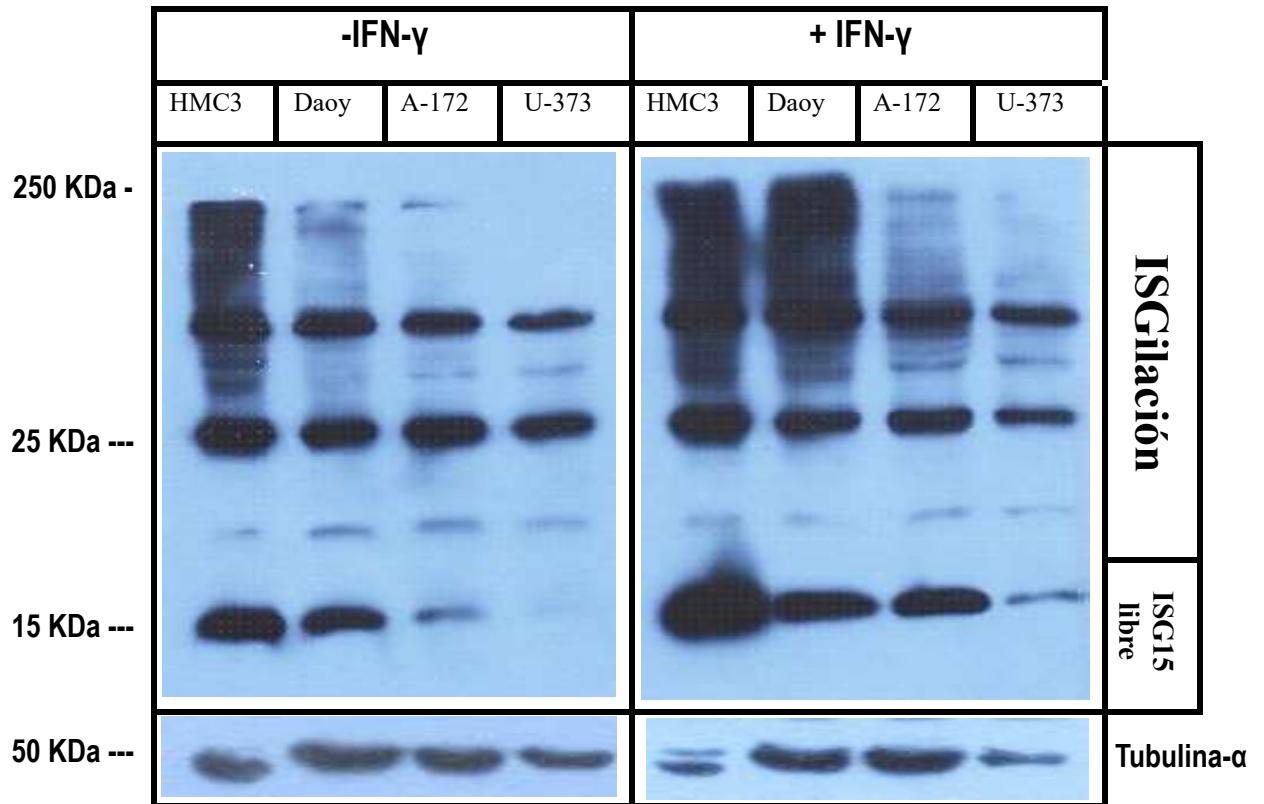


Figura 30. Electroforesis SDS-Page de la presencia de ISG15 en células gliales a partir de la estimulación por IFN- γ .

El efecto del IFN- γ sobre la abundancia de ISG15 se evaluó en células de microglía y en células derivadas de glioblastoma (antes descritas) y la línea celular U-373 también derivada de glioblastoma. Adicionalmente, se analizaron las células Daoy, derivadas de meduloblastoma, un tumor maligno de cerebelo. El resultado muestra que el estímulo de IFN- γ incrementa los niveles de la forma libre y conjugada de ISG15 en todas las líneas celulares (**Fig. 30**). Sin embargo, los niveles de la forma libre de ISG15 y la ISGilación inducidos por IFN- γ parecen ser más abundantes en las células de microglía.

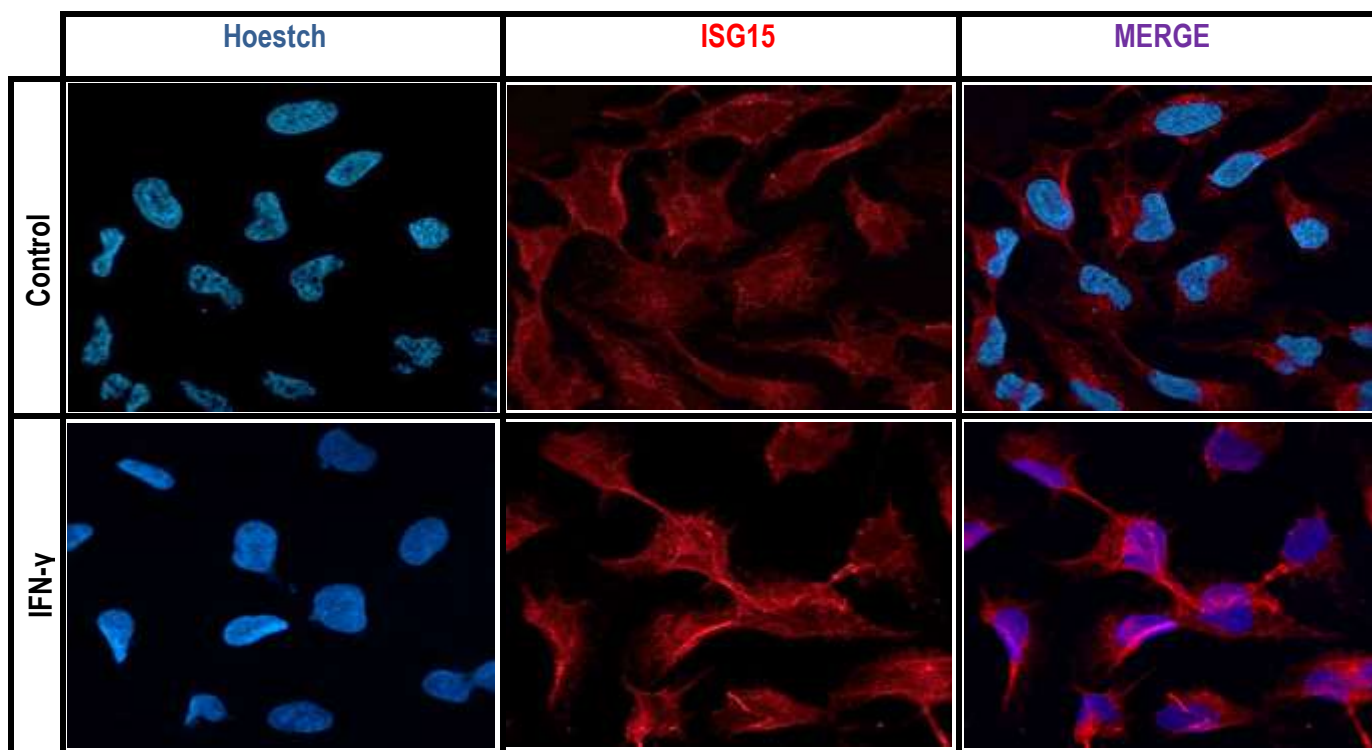
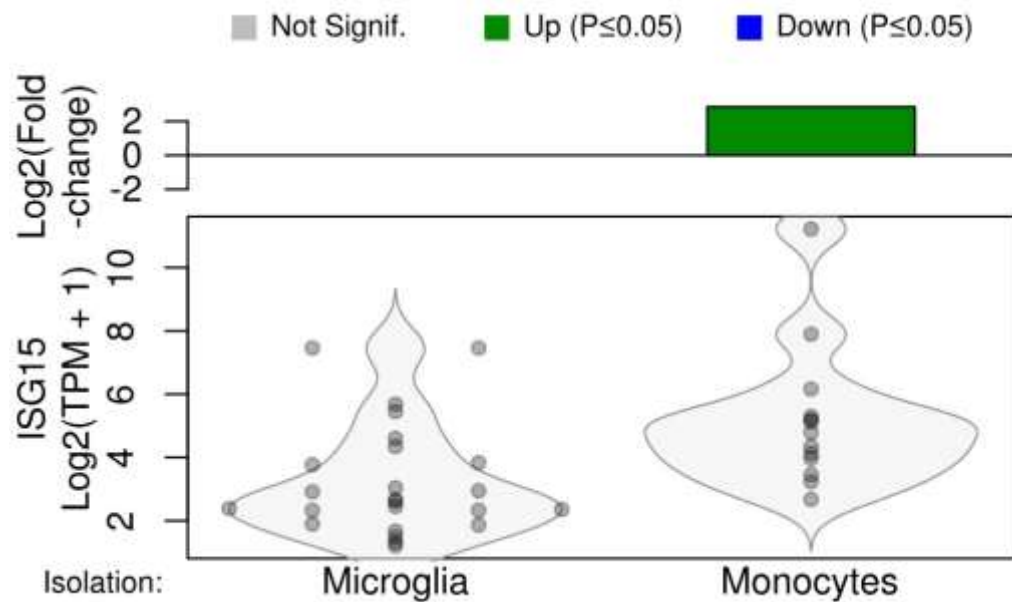


Figura 31. Resultados de la inflorescencia en células HMC3 y la expresión de ISG15 libre, a partir de la estimulación por IFN- γ .

Para analizar la distribución subcelular de ISG15 en las células de microglía se utilizaron ensayos de inmunofluorescencia (Fig. 31). En ausencia del estímulo del IFN- γ , ISG15 se encuentra principalmente en el citoplasma, pero en presencia del tratamiento con IFN- γ , la detección de ISG15 se incrementa en el citoplasma y se detecta también en el núcleo celular. De manera interesante, en las extensiones citoplasmáticas debidas al cambio fenotípico de las células estimuladas por IFN- γ , se detecta la presencia de ISG15, por lo que, es probable que ISG15 pudiera tener una participación en la remodelación del citoesqueleto celular.

5. Análisis de la relevancia de ISG15, en un contexto neuropatológico (isquemia).

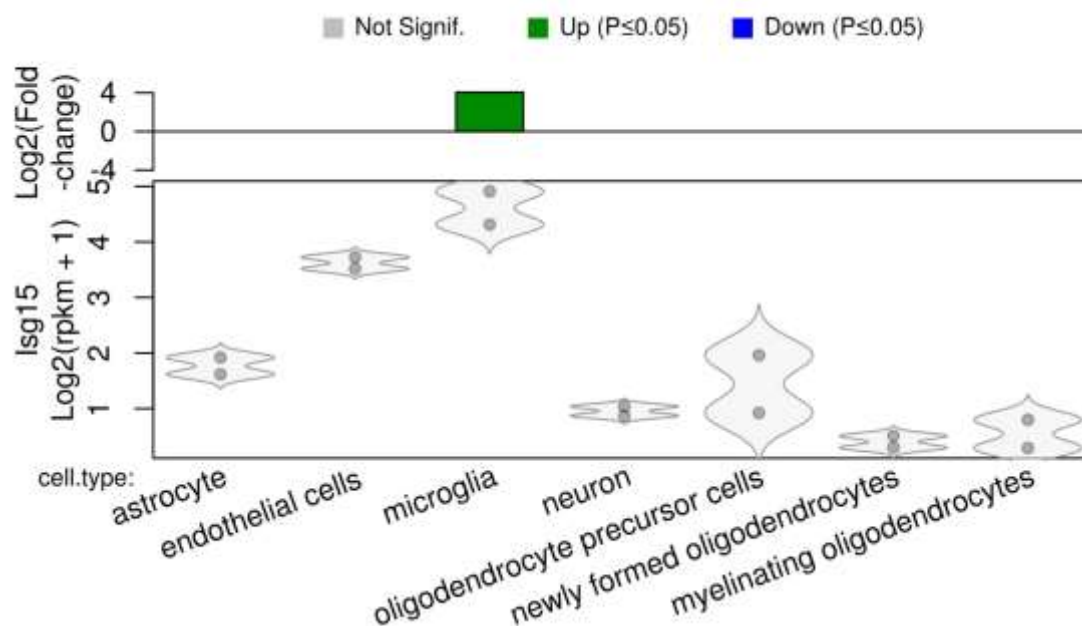
Dado que ISG15 se detecta en células de microglía y el IFN- γ incrementa sus niveles con una distribución principalmente en el citoplasma, se decidió analizar, si pudiera ISG15 tener una implicación en un contexto neuropatológico. Para ello, se consultó la base de datos “The Myeloid Landscape 2” (Gráfico 7. y 8.).



Grafica 7. Monocitos y microglía en el humano. "Log2(Fold Change)" es un término comúnmente utilizado en el análisis de datos biológicos y estadísticos, especialmente en el campo de la transcriptómica y la proteómica, para expresar la magnitud del cambio en la expresión de un gen o la abundancia de una proteína entre dos condiciones o grupos. Fold Change: Representa la relación entre la cantidad de una sustancia (como un gen o una proteína) en una condición experimental en comparación con una condición de control.

El gráfico de violín muestra la distribución y la densidad de la expresión de ISG15 (en escala Log2(TPM + 1)) en las células de Microglía y Monocitos. Los puntos individuales representan los valores de expresión para cada muestra. El gráfico de barras superior indica el cambio de expresión (Log2(Fold-change)) entre los grupos, donde la barra verde indica una regulación al alza (Up) con una significancia estadística de $P \leq 0.05$. La leyenda en la parte superior explica que "Not Signif." (gris) significa no significativo, "Up ($P \leq 0.05$)" (verde) significa regulación al alza significativa, y "Down ($P \leq 0.05$)" (azul) significa regulación a la baja significativa.

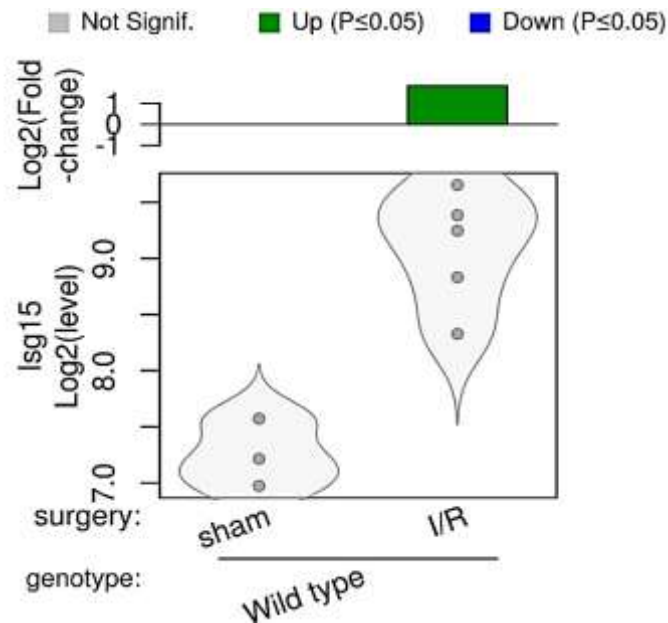
Los resultados indicaron que la expresión de ISG15 está incrementada en los monocitos en comparación con la microglía, como lo indica la barra verde en el gráfico superior y la mayor expresión general en el gráfico de violín para los monocitos (Gráfica 7). Sin embargo, al comparar la microglía con células del SNC, incluyendo astrocitos, células endoteliales, microglía, neuronas, células precursoras de oligodendrocitos, oligodendrocitos recién formados y oligodendrocitos mielinizantes, se observó que la expresión de ISG15 de manera significativa es más alta en microglía, lo que sugiere que podría tener funciones cruciales en este tipo celular.



Gráfica 8. Comparación de la expresión de ISG15, a partir de RNA-seq entre el conjunto de células gliales y de SNC.

El panel superior muestra el cambio de expresión (Log2(Fold-change)) de ISG15. La barra verde indica que la expresión de ISG15 está significativamente "Up" (incrementada) en un tipo de célula en particular ($P \leq 0.05$), aunque no se especifica explícitamente qué tipo de célula representa esa barra en este panel. El panel inferior muestra los niveles de expresión de ISG15 (Log2(rpkm + 1)) en varios tipos de células, incluyendo astrocitos, células endoteliales, microglía, neuronas, células precursoras de oligodendrocitos, oligodendrocitos recién formados y oligodendrocitos mielinizantes.

Un contexto neuropatológico de gran importancia es la isquemia cerebral, la cual se genera en un entorno inflamatorio agudo en el cerebro, caracterizado por activación de la microglía hacia un fenotipo M1 proinflamatorio, con liberación de citocinas, quimiocinas y especies reactivas, Además, implica la infiltración de monocitos periféricos que atraviesan la barrera hematoencefálica dañada. De manera importante, se ha asociado con la producción de interferones tipo I y II (IFN- γ), por lo que podría estar asociado con la inducción de la expresión de genes estimulados por interferón como ISG15.



Grafica 9. Respuesta de la microglía a la lesión isquémica transitoria.

La **Grafica 9.**, corresponde a una representación gráfica de resultados de expresión génica (ISG15) en un modelo experimental de cirugía con isquemia/reperfusión (I/R) comparado con un grupo control (sham), en animales de genotipo silvestre (wild type).

En el panel principal se observa un gráfico tipo violín, donde se muestran los niveles de expresión de ISG15 en escala logarítmica base 2. Los grupos comparados son:

- Sham: cirugía simulada, donde los niveles de expresión se mantienen más bajos.
- I/R: isquemia/reperfusión, donde se aprecia un incremento evidente en la expresión de ISG15.

- Cada punto dentro del violín representa un valor individual, indicando la variabilidad biológica entre muestras.

Como se observa en la **Gráfica 9**, la expresión de ISG15 esta incrementa de manera significativa en un modelo murino de isquemia en comparación con el control, sugiriendo que, bajo dichas circunstancias neuropatológicas, la inducción de ISG15 podría ser una respuesta neuroprotectora ante un daño agudo en el cerebro isquémico. Por lo tanto, el eje IFN- γ -microglia-ISG15-Inducción, forman parte de una red inmunológica cerebral cuya desregulación está implicada en la génesis de enfermedades neurológicas, como la isquemia.

IX. DISCUSIÓN.

El IFN- γ se ha estudiado principalmente en el sistema inmunológico, y recientemente en algunos contextos de cáncer (Oropeza E., 2024). De manera interesante, uno de los genes inducidos por el IFN- γ en cáncer de mama y glioblastoma corresponde a ISG15, pero se desconocía si este gen podría también ser modulado por este interferón en células de la neuro microglía. Investigar la modulación de ISG15 por IFN- γ en células de microglía resulta importante por dos principales razones. Primero, las células microglía, son parte de las células gliales confiriendo soporte y manteniendo las redes neuronales, y son consideradas el sistema inmune del cerebro, manteniendo su homeostasis. Las vías de señalización de las células microglía, incluyendo al IFN- γ , no han sido completamente exploradas. Además, la expresión y su potencial modulación de ISG15 por IFN- γ , también se desconocía. Como segundo punto, ISG15 es una proteína parecida a la ubiquitina, y una de sus funciones es actuar como un modulador postraducciona en la modificación poco conocida a la fecha llamada ISGilación. De esta forma, resulta relevante indagar si IFN- γ podría modular los niveles de ISG15 y el perfil de proteínas ISGiladas.

Nuestros resultados de la expresión de *ISG15* analizada en tres bases de datos diferentes (HPA, GTex, FANTOM5) del *Human Protein Atlas*. De acuerdo con GTex y FANTOM5, ISG15 se expresa en diferentes tejidos del cerebro, mayoritariamente en corteza cerebral, hipocampo, amígdalas, y el hipotálamo, y en menor proporción en cerebelo. En cambio, HPA sugiere una mayor expresión de ISG15 en la médula espinal. Similarmente, en el caso del cerebro de ratón, ISG15 se expresa altamente en el hipocampo y en el hipotálamo, pero también en las amígdalas y el bulbo olfatorio. Estos resultados indican que la expresión de *ISG15* es importante en el cerebro y que podría tener funciones diferenciales en las diferentes partes que lo conforman.

Para analizar los niveles de proteína de ISG15 por WesternBlot se utilizaron las células de microglía fetal humana HMC3 inmortalizadas, y se compararon con los niveles de ISG15 en células derivadas de células gliales astrocíticas transformadas tales como U87, A172 y LN18. Sin embargo, es interesante notar que, los niveles de ISG15 libre y el perfil de ISGilación son más altos en las células de microglía HMC3 en comparación con las otras líneas celulares.

Estos resultados sugieren que ISG15 podría tener implicaciones en las funciones protectoras de la microglía. En un contexto de células gliales-astrocitos transformado, los niveles de ISG15/ISGilación son detectados en menor proporción que en células de microglía normales. Dada la plasticidad de las células de microglía y la pequeña población que constituyen dentro de la neuroglia, la modulación de ISG15/ISGilación podría ser crítica para cumplir la función microglial.

Nuestro siguiente punto fue evaluar si existía un cambio morfológico de las células de microglía en respuesta al IFN- γ , dado que las células microgliales se han descrito con dos diferentes fenotipos, M1 en estado de reposo y M2 en estado activo (con prolongaciones tipo ameboides). En microglía aislada de modelos murinos se ha observado que IFN- γ induce una activación microglial. Nuestros resultados sugieren que el IFN- γ también en microglía humana puede inducir activación de las células de microglía, caracterizada por un cambio morfológico M1, que es principalmente evidenciado por prolongaciones y la presencia de algunas ramificaciones. Mediante ensayos de vida/muerte usando calceína y yoduro de propidio, respectivamente, se observó que las células se mantienen viables, pero con cambios en su morfología en respuesta al IFN- γ sugiriendo su comportamiento de M2 y M1. De forma interesante, estas células en su presumible estado M2 parecen estar más agrupadas, mientras que en el estado M1 tienen una distribución menos cercana entre ellas.

Para conocer el efecto que podría tener el estímulo del IFN- γ sobre la abundancia y la localización del ISG15 en células de microglía HMC3, realizamos inmunoblot y ensayos de inmunofluorescencia. El resultado muestra que en todos los casos el IFN- γ incrementa los niveles de ISG15, tanto de la forma libre (proteína de 15 kDa) como de la forma conjugada que se representa con las bandas a partir de >25 kDa. Dado que ISG15 libre y el perfil de ISGilación son más altos en las células de microglía en comparación con las líneas celulares gliales transformadas U-87, A-172, LN-18 U-373 y Daoy, así como células derivadas de meduloblastoma, un tumor de cerebelo. En consecuencia, se logra detectar una mayor inducción de ISG15 en las células de microglía en respuesta al IFN- γ .

Adicionalmente, observamos que la localización de ISG15 en las células de microglía en ausencia del estímulo del IFN- γ es mayoritariamente citoplasmática, pero posterior al tratamiento con IFN- γ , ISG15 se localiza también dentro del núcleo celular y notoriamente detectado en las prolongaciones de la microglía en estado activado clásico (M1). Por lo tanto, ISG15 y el perfil

de ISGilación son modulados positivamente por IFN- γ durante los cambios morfológicos de la microglía resultado de su estado proinflamatorio por dicho estímulo. La detección de ISG15 en las prolongaciones de la microglía estimulada por IFN- γ , sugiere que la remodelación del citoesqueleto durante el cambio de morfología microglial, podría implicar la ISGilación de proteínas, por ejemplo, de la proteína MIIA, la cual previamente por nuestro grupo y otros se ha demostrado que es un blanco de ISGilación. Más estudios serán requeridos para demostrar si el incremento y la localización extranuclear de ISG15 podría estar asociada a la ISGilación de proteínas del citoesqueleto para modular su función.

Con el propósito de entender la relevancia funcional de ISG15 en un contexto fisiopatológico, se evaluó la base de datos “*The Myeloid Landscape 2*”, que contiene datos de expresión génica principalmente en modelo de ratón. La comparación de la expresión de ISG15 en diferentes células como microglía, astrocitos, oligodendrocitos, neuronas, células mieloides y endoteliales, muestran que la mayor expresión de ISG15 se presenta en la microglía, sugiriendo su importancia en este tipo celular.

Además, los resultados indican que la microglía de ratón sometida a una isquemia transitoria tiene una mayor expresión de ISG15 comparada con el control. Se ha reportado que ISG15 tiene una función protectora contra la isquemia, (Tecalco A., et al., 2025). Esto sugiere que, ante el daño isquémico, tanto la microglía como el incremento de ISG15 son críticos conjuntamente en la función neuro protectora. No obstante, los detalles moleculares no se conocen, pero podrían estar vinculados a la ISGilación de proteínas. En este contexto en particular, el incremento de ISG15 por IFN- γ podría tener un efecto protector, pero en otros contextos la activación de la microglía por IFN- γ podría conducir a la expresión de *ISG15*, pero también de otros ISGs asociados con funciones no neuroprotectoras e incluso neurodegenerativas.

En conjunto, nuestro trabajo demuestra otro contexto celular del SNC donde ISG15/ISGilación podría ser crucial, la microglía. Nuestros datos sugieren que la activación de la microglía y muchas de sus funciones pueden ser dependientes de ISG15 y la ISGilación de proteínas. Además, IFN- γ podría tener una función dual, de activar la neuroprotección por la microglía, o bien, interferir en esta actividad de una manera dependiente del contexto patológico, lo cual implica la desregulación de diversas y diferentes vías de señalización celular. Nuestros datos abren nuevas propuestas de estudio, para conocer los mecanismos moleculares del IFN- γ y de ISG15/ISGilación de proteínas en contextos de neuropatologías, para sugerir potenciales nuevos biomarcadores o blancos terapéuticos.

X. CONCLUSIÓN.

La vía de señalización del IFN- γ modula los niveles de la proteína ISG15 en las células de microglía, incrementando su abundancia y localización citoplasmática, nuclear y en las prolongaciones de la microglía activada, lo cual podría relacionarse con un efecto neuroprotector en un contexto patológico de daño isquémico.

XI. PERSPECTIVAS.

- Identificar blancos de ISGilación en la microglía en reposo y activada por IFN- γ .
- Indagar el eje de regulación de IFN- γ e ISG15 en diferentes modelos de neuropatologías.
- Analizar si la reducción de la expresión de ISG15 afecta las actividades neuroprotectoras de la microglía.
- Analizar los niveles de ISG15 en muestras de líquido cefalorraquídeo de pacientes con diferentes neopatologías.

XII. REFERENCIAS.

1. Thau, L., Reddy, V. y Singh, P. (2022) Anatomy, central nervous system. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK542179/>.
2. Serrano, C. (2023). Médula Espinal. Ken Hub. <https://www.kenhub.com/es/library/anatomia-es/medula-espinal-es>.
3. Hirsch, L. (2022). Sistema nervioso central: Cerebro (encéfalo) y médula espinal. <https://kidshealth.org/es/parents/central-nervous-system.html>.
4. Clínica Universidad de Navarra. (2023). Sistema nervioso periférico. <https://www.cun.es/diccionario-medico/terminos/sistema-nervioso-periferico>.
5. Woodruff, A. (2024). ¿Qué es una neurona?. Instituto del Cerebro de Queensland. <https://qbi.uq.edu.au/brain/brain-anatomy/what-neuron>.
6. Pan, S. (2024). Neuroglia- Definition, Classification, Development, Functions. <https://biologynotesonline.com/neuroglia-definition-classification-development-functions/>
7. F.W. Pfrieger. (2002). Role of glia in synapse development. Current Opinion in Neurobiology Volumen 12, Número 5. Páginas 463-615. [https://doi.org/10.1016/S0959-4388\(02\)00358-6](https://doi.org/10.1016/S0959-4388(02)00358-6)
8. Megías M, Molist P, Pombal MA., (2023). Atlas de histología vegetal y animal. Tipos Celulares, Neurona. <https://mmegias.webs.uvigo.es/8-tipos-celulares/neurona.php>
9. Pan, S. (2024) Neuroglia - Definition, Classification, Development, Functions - Biology Notes online. <https://biologynotesonline.com/neuroglia-definition-classification-development-functions/>
10. Miller, G. (2005). The dark side of glia. Science. Vol. 308 , n.º 5723. págs. 778 – 781 DOI: 10.1126/science.308.5723.778

11. Ludwig PE, Das JM. (2023). Histology Glial Cells. In: StatPearls. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/books/NBK441945/>
12. Rahman, Md.M. et al. (2022) 'Emerging role of Neuron-Glia in Neurological Disorders: At a Glance,' Oxidative Medicine and Cellular Longevity, 2022, pp. 1–27. <https://doi.org/10.1155/2022/3201644>
13. Martínez Gómez, Alejandro. (2014). Comunicación entre células gliales y neuronas I. Astrocitos, células de Schwann que no forman mielina y células de Schwann perisinápticas. El Sevier, (2), 75-84.
14. Kettenmann, H. et al. (2025) 'The concept of Neuroglia - the state of the art circa 1900,' Glia [Preprint]. <https://doi.org/10.1002/glia.24678>.
15. Ludwig, P.E. y Das, J.M. (2023) Histology, glial cells. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK441945/>.
16. Talaverón R. y Morado-Díaz C. J. La glía, las otras células del sistema nervioso. Elementos 115 (2019) 39-44
17. Allen, N.J. y Lyons, D.A. (2018) 'Glia as architects of central nervous system formation and function,' Science, 362(6411), pp. 181–185. <https://doi.org/10.1126/science.aat0473>.
18. Benarroch, E.E. (2013) 'Microglia,' Neurology, 81(12), pp. 1079–1088. <https://doi.org/10.1212/wnl.0b013e3182a4a577>.
19. Michell-Robinson, M.A. et al. (2015) 'Roles of microglia in brain development, tissue maintenance and repair,' Brain, 138(5), pp. 1138–1159. <https://doi.org/10.1093/brain/awv066>.
20. Li, Q. y Barres, B.A. (2017) 'Microglia and macrophages in brain homeostasis and disease,' Nature Reviews. Immunology, 18(4), pp. 225–242. <https://doi.org/10.1038/nri.2017.125>.

21. Prinz, M., Jung, S. y Priller, J. (2019) 'Microglia Biology: One Century of Evolving Concepts,' *Cell*, 179(2), pp. 292–311. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2019.08.053>.
22. Arcuri, C. et al. (2017) 'The pathophysiological role of microglia in dynamic surveillance, phagocytosis and structural remodeling of the developing CNS,' *Frontiers in Molecular Neuroscience*, 10. <https://doi.org/10.3389/fnmol.2017.00191>.
23. El papel de la microglía en la señalización neuroinflamatoria y la respuesta neuroinmune - Universidad Veracruzana (no date). <https://www.uv.mx/eneurobiologia/vols/2016/16/Quesada/HTML.html>.
24. Greter, M. y Merad, M. (2012) 'Regulation of microglia development and homeostasis,' *Glia*, 61(1), pp. 121–127. <https://doi.org/10.1002/glia.22408>.
25. Ginhoux, F. et al. (2013) 'Origin and differentiation of microglia,' *Frontiers in Cellular Neuroscience*, 7. <https://doi.org/10.3389/fncel.2013.00045>.
26. Woodburn, S.C., Bollinger, J.L. y Wohleb, E.S. (2021) 'The semantics of microglia activation: neuroinflammation, homeostasis, and stress,' *Journal of Neuroinflammation*, 18(1). <https://doi.org/10.1186/s12974-021-02309-6>.
27. Nakagawa, Y. y Chiba, K. (2014) 'Role of microglial M1/M2 polarization in relapse and remission of psychiatric disorders and diseases,' *Pharmaceuticals*, 7(12), pp. 1028–1048. <https://doi.org/10.3390/ph7121028>.
28. Michell-Robinson, M.A. et al. (2015b) 'Roles of microglia in brain development, tissue maintenance and repair,' *Brain*, 138(5), pp. 1138–1159. <https://doi.org/10.1093/brain/awv066>.

29. Colonna, M. y Butovsky, O. (2017) 'Microglia function in the central nervous system during health and neurodegeneration,' *Annual Review of Immunology*, 35(1), pp. 441–468. <https://doi.org/10.1146/annurev-immunol-051116-052358>.
30. Mata-Espinosa DA, Hernández-Pando R. Interferón gamma: aspectos básicos, importancia clínica y usos terapéuticos. *Rev Invest Clin*. 2008; 60 (5): 421-431
31. Schneider, W.M., Chevillotte, M.D. y Rice, C.M. (2014b) 'Interferon-Stimulated Genes: a complex web of host defenses,' *Annual Review of Immunology*, 32(1), pp. 513–545. <https://doi.org/10.1146/annurev-immunol-032713-120231>.
32. Schoggins, J.W. (2019) 'Interferon-Stimulated Genes: What do they all do?,' *Annual Review of Virology*, 6(1), pp. 567–584. <https://doi.org/10.1146/annurev-virology-092818-015756>.
33. McDonough, A., Lee, R.V. y Weinstein, J.R. (2017) 'Microglial interferon signaling and white matter,' *Neurochemical Research*, 42(9), pp. 2625–2638. <https://doi.org/10.1007/s11064-017-2307-8>.
34. Malakhova, O.A. et al. (2003) 'Protein ISGylation modulates the JAK-STAT signaling pathway,' *Genes & Development*, 17(4), pp. 455–460. <https://doi.org/10.1101/gad.1056303>.
35. Tau, G. y Rothman, P. (1999) 'Biologic functions of the IFN- γ receptors,' *Allergy*, 54(12), pp. 1233–1251. <https://doi.org/10.1034/j.1398-9995.1999.00099.x>.
36. Kawanokuchi, J. et al. (2006) 'Production of interferon- γ by microglia,' *Multiple Sclerosis Journal*, 12(5), pp. 558–564. <https://doi.org/10.1177/1352458506070763>.
37. Sandy, Z., Da Costa, I.C. y Schmidt, C.K. (2020) 'More than Meets the ISG15: Emerging Roles in the DNA Damage Response and Beyond,' *Biomolecules*, 10(11), p. 1557. <https://doi.org/10.3390/biom10111557>.

38. Bogunovic, D., Boisson-Dupuis, S. y Casanova, J.-L. (2013) 'ISG15: leading a double life as a secreted molecule,' *Experimental & Molecular Medicine*, 45(4), p. e18. <https://doi.org/10.1038/emm.2013.36>.
39. Albert, M. *et al.* (2018) 'ISG15, a Small Molecule with Huge Implications: Regulation of Mitochondrial Homeostasis,' *Viruses*, 10(11), p. 629. <https://doi.org/10.3390/v10110629>.
40. Rossi, J.L. *et al.* (2015) 'Interferon-Stimulated Gene 15 Upregulation Precedes the Development of Blood–Brain Barrier Disruption and Cerebral Edema after Traumatic Brain Injury in Young Mice,' *Journal of Neurotrauma*, 32(14), pp. 1101–1108. <https://doi.org/10.1089/neu.2014.3611>.
41. Zhang, D. y Zhang, D.-E. (2010) 'Interferon-Stimulated Gene 15 and the protein ISGylation system,' *Journal of Interferon & Cytokine Research*, 31(1), pp. 119–130. <https://doi.org/10.1089/jir.2010.0110>.
42. Ren-Gang, W., Marcus, K. y Dong-Xian, Z. (2012) *Interferon-stimulated gene 15 as a general marker for acute and chronic neuronal injuries*. <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC3587786/>.
43. Ritchie, K.J. *et al.* (2002) 'Dysregulation of protein modification by ISG15 results in brain cell injury,' *Genes & Development*, 16(17), pp. 2207–2212. <https://doi.org/10.1101/gad.1010202>.
44. Wardlaw, C.P. y Petrini, J.H.J. (2023) 'ISG15: A link between innate immune signaling, DNA replication, and genome stability,' *BioEssays*, 45(7). <https://doi.org/10.1002/bies.202300042>.
45. Glass, A.M. y Navas-Martin, S. (2025) 'Interferon-induced protein ISG15 in the central nervous system, quo vadis?,' *FEBS Letters* [Preprint]. <https://doi.org/10.1002/1873-3468.70063>.

46. Mirzalieva, O. et al. (2022) 'ISG15 and ISGylation in human diseases,' *Cells*, 11(3), p. 538. <https://doi.org/10.3390/cells11030538>.
47. Fan, J.-B. y Zhang, D.-E. (2012) 'ISG15 regulates IFN- γ immunity in human mycobacterial disease,' *Cell Research*, 23(2), pp. 173–175. <https://doi.org/10.1038/cr.2012.133>.
48. Sandoval Hernández J.A. “Estudio de las Exportinas CRT y CRM-1 en células derivadas de cáncer de mama RE α - y RE α +” (Tesis de licenciatura no publicada), UNAM FES-Zaragoza.
49. González Fragozo J.c. “Localización subcelular y dinámica de la interacción de la proteína TTP con el ER α en células de cáncer de mama” (Tesis de licenciatura no publicada), UNAM.
50. Cruz Ramos J.E. “Identificación de proteína modificadas por la proteína ISG15” (Tesis de posgrado no publicada), UNAM.