

Células Madre en Dermatología

Carmen Elena Goudet Roover, Ana María Sáenz, Francisco González Otero

Servicio de Dermatología. Hospital Universitario de Caracas, Venezuela. Correo: carmengoudet@hotmail.com.

Resumen

Las células madre pueden definirse como células indiferenciadas capaces de proliferar, auto renovarse y diferenciarse a uno o mas tipos de células especializadas. Podemos referirnos entonces a varios tipos de células madre: embrionarias, fetales y adultas o células madre: totipotenciales, pluripotenciales, multipotenciales y unipotenciales. Existe un renovado interés en el conocimiento de las células madre en el campo dermatológico por sus posibles aplicaciones terapéuticas en diferentes patologías como: carcinomas cutáneos incluyendo melanomas, en alopecia areata, psoriasis y transtornos de la cicatrización. Todos ellos son objeto de desarrollo en la presente revisión.

Palabras clave: células madre, células indiferenciadas.

Stem Cells In Dermatology

Abstracts

Stem cells can be defined as undifferentiated cells capable of proliferating, self-renewing and differentiating into one or more types of specialized cells. We can then refer to several stem cells types: embryonic, fetal and adult or totipotent, pluripotent, multipotent and unipotent stem cells. There is renewed interest in the knowledge of stem cells in the field of dermatology due to their possible therapeutic application in various pathologies such as: skin cancers including melanomas, alopecia areata, psoriasis and alterations of the wound healing process. All these have been included in this review.

Key word: stem cells, undifferentiated cells

Introducción

Las células madre pueden ser definidas como células indiferenciadas capaces de proliferar, auto-renovarse y diferenciarse a uno o más tipos de células especializadas. La gama de tipos de células a las que pueden dar lugar es variable y pueden ser aisladas de embriones, fetos o de tejido adulto¹.

Tipos de Células Madre

Embrionarias

Las células madre embrionarias fueron descritas por primera vez hace más de dos décadas, cuando fueron aisladas del blastocito murino. Son totipotentes, diferenciándose a todos los linajes incluyendo la línea germinal y trofoblástica; pueden proliferar indefinidamente en el estado indiferenciado y retener la capacidad para diferenciar a todos los fenotipos somáticos maduros cuando reciben señales adecuadas¹.

Fetales

La identificación de células madre mesenquimales en el feto humano, ha planteado la posibilidad de utilizar células autólogas para el tratamiento intra útero; estas células pueden diferenciarse en linajes mesenquimales incluyendo huesos y cartílagos así como también oligodendrocitos y células hematopoyéticas. Estas células pueden encontrarse en circulación sólo durante el primer trimestre de gestación siendo similares a las poblaciones hematopoyéticas en el hígado y médula ósea fetal¹.

Adultas

Es una célula indiferenciada hallada entre células diferenciadas de un tejido u órgano que puede auto renovarse. Existe un amplio repositorio de estas células madre ubicadas en diversos nichos de tejidos en todo el cuerpo incluyendo médula ósea, cerebro, hígado y piel, así como en sangre periférica. Su principal función es mantener y reparar el tejido en el que se encuentran. Originalmente se consideraba que tenían

escaso potencial de diferenciación, sin embargo, han demostrado un grado considerable de plasticidad incluso con probabilidades de regenerar órganos; no son muy numerosas y una gran proporción de ellas se encuentra en estado quiescente¹.

Células Madre Totipotenciales

Pueden crecer y formar un organismo completo, tanto los componentes embrionarios como por ejemplo, las tres capas embrionarias, el linaje germinal y los tejidos que darán lugar al saco vitelino así como los extraembrionarios como la placenta¹.

Células Madre Pluripotenciales

No puede formar un organismo completo, pero sí cualquier otro tipo de célula proveniente de los tres linajes embrionarios (endodermo, ectodermo y mesodermo) así como el germinal y el saco vitelino¹.

Células Madre Multipotenciales

Son aquellas que solo pueden generar células de su propia capa o linaje embrionario de origen, por ejemplo: una célula madre mesenquimal de médula ósea al tener naturaleza mesodérmica dará origen a células de esa capa como miocitos, adipocitos u osteocitos, entre otras¹.

Células Madre Unipotenciales

Pueden formar únicamente un tipo de célula particular¹.

Células Madre de la Epidermis

La capa basal es el sitio primario de las células epidérmicas con actividad mitótica. De acuerdo con estudios cinéticos, en esta capa coexisten tres poblaciones: células madre, células amplificadorastransitorias y células postmitóticas^{2,3}.

Células Madre: células con capacidad de autorrenovación, multipotenciales, clonogénicas, similares a las del sistema hematopoyético.

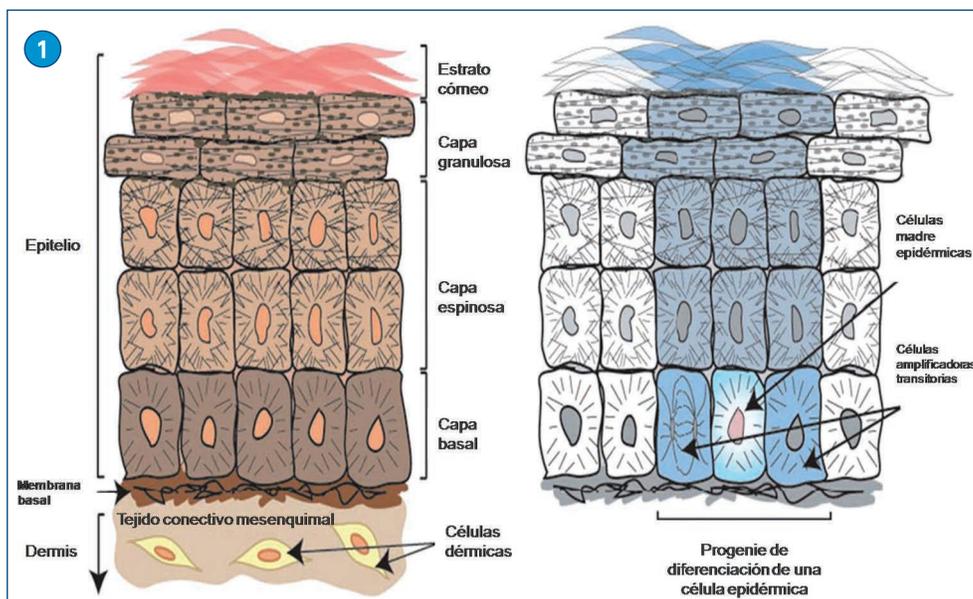
En condiciones estables, las células madre se dividen lentamente y solo sufren divisiones múltiples y rápidas en circunstancias que exigen una actividad proliferativa más importante como durante la cicatrización de las heridas o luego de la exposición a factores de crecimiento exógenos, atraviesan en forma rápida la fase S del ciclo celular^{2,3}.

Células Amplificadoras Transitorias: surgen como un subgrupo de células hijas producidas por la escasa división de las células madre; proporcionan la mayor parte de las divisiones celulares necesarias para la autorenovación estable y son las más numerosas en el estrato basal^{2,3}.

Células Postmitóticas: provienen de múltiples divisiones de las células amplificadoras transitorias, desprendiéndose de la capa basal y migrando hacia la superficie donde finalmente se diferencian en corneocitos^{2,3}.

Estas células en conjunto forman la Unidad Proliferativa Epidérmica, en cuyo centro se localizan las células madre, que a su vez originan células amplificadoras transitorias y estas últimas, luego de múltiples divisiones dan lugar a las células postmitóticas. Las células que conforman la unidad proliferativa epidérmica se encuentran habitualmente en estado de reposo (Figura 1)³.

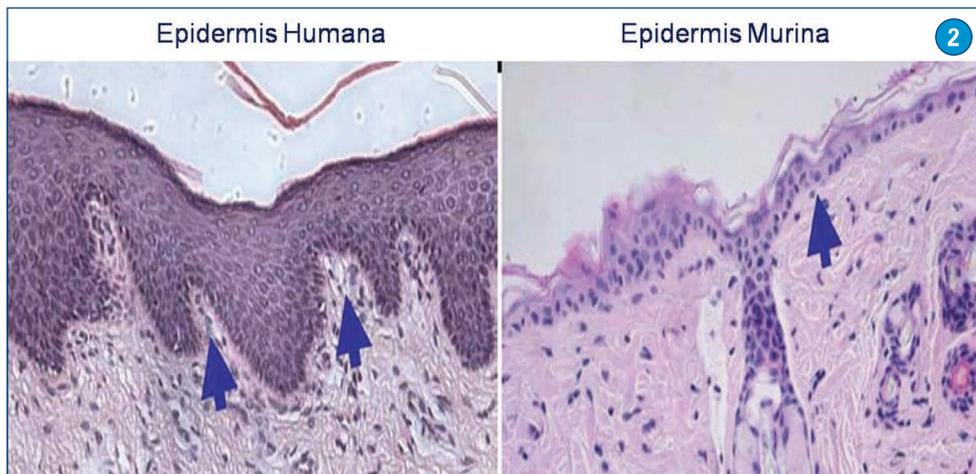
Figura 1. Unidad proliferativa epidérmica. Modificado de Alonso L, Fuchs E. Stem cells of the skin epithelium.



La presencia de células madre en la epidermis se puso de manifiesto al demostrarse que las células de la capa basal podían originar folículos pilosos y glándulas sebáceas al ser injertadas en ratones^{2,3}.

La epidermis humana es de mayor grosor que la murina y muestra "divisiones o compartimientos a a nivel de la membrana basal mediante invaginaciones hacia la dermis (Figura 2)⁴. Las células localizadas en estos compartimientos expresan altas tasas de proliferación *in vitro* con niveles en alza de las integrinas 16, queratina 15 y 19, y bajos niveles de integrina β ¹⁴.

Figura 2. Epidermis humana y murina. Modificado de Aznar B. Epidermal stem cells in skin homeostasis and cutaneous carcinomas

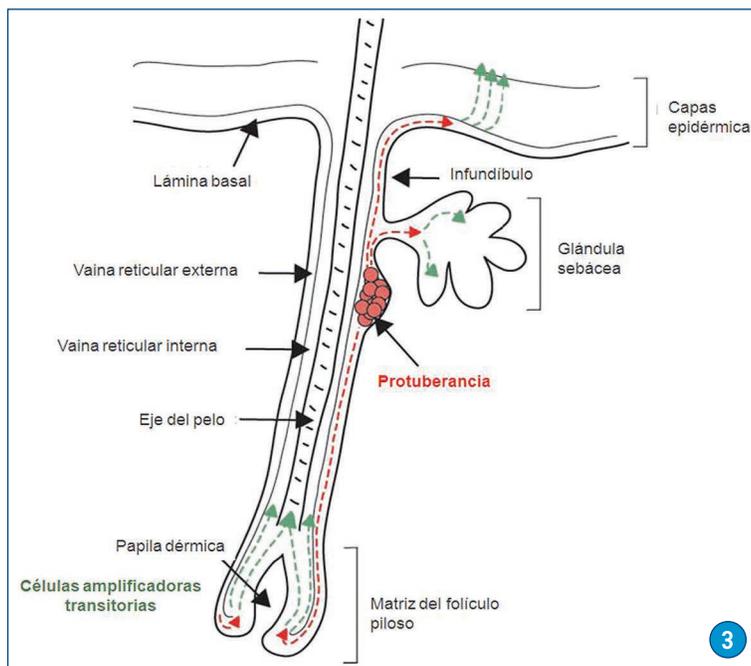


Células Madre del Folículo Piloso

El desarrollo del folículo piloso humano es detectado al final del primer trimestre embrionario formándose por la agrupación de un conjunto de células epidérmicas que gracias a interacciones mesenquimales y epiteliales, se condensan e invaginan formando la placoda⁵.

El folículo piloso genera el pelo, estructura queratinizada y diferenciada mediante un proceso cíclico de regeneración. Actualmente se conoce que existe una región voluminosa del folículo piloso o protuberancia, conformada por células madre epidérmicas pluripotenciales que mantienen este proceso; esta estructura está localizada por debajo del sitio de inserción del músculo piloerector y la glándula sebácea; se aprecia como un engrosamiento de la vaina reticular externa (Figura 3) y generalmente se hace menos evidente con el transcurso de los años. Su alta capacidad proliferativa ha sido demostrada en cultivos *in vitro* mediante estudios de clonogenicidad y medición de la eficiencia en formación de colonias, relacionado con el número de células madre en un tejido. Taylor y colaboradores proponen que las células de la protuberancia originan todas las células epiteliales de la parte inferior del folículo piloso, lo cual demostraron mediante técnicas de doble marcaje²⁻⁵.

Figura 3. Folículo piloso. Modificado de Alonso L, Fuchs E. Stem cells of the skin epithelium



Las células madre de la protuberancia del folículo piloso son estimuladas para dividirse y producir una nueva matriz pilosa germinativa solo después de recibir señales de las células mesenquimales especializadas del folículo piloso²⁻⁵.

Existen tres fases en el ciclo de crecimiento del pelo: *anágena*, *catágena* y *telógena*. La fase activa del crecimiento del pelo es la anágena la cual dura de 2 a 6 años, dependiendo de la región cutánea. Tras completarse la fase anágena, el pelo inicia la fase catágena; durante ésta corta fase (2-3 semanas) las células de la matriz cesan en su división y se queratinizan. Cuando se ha completado la queratinización, el pelo entra en la última fase del ciclo llamada telógena. Durante la fase telógena (3-4 meses) los pelos queratinizados caen y se forma gradualmente una nueva matriz desde las células madre de la capa basal de la vaina epitelial externa. Un nuevo pelo nace y crece y el folículo inicia de nuevo la fase anágena. El mantenimiento de este ciclo depende de las células madre de la protuberancia del folículo piloso²⁻⁵.

La conversión entre células madre epidérmicas y foliculares puede ser bidireccional durante la cicatrización de heridas de manera que pueden originarse folículos pilosos de novo desde la capa basal de la epidermis afectada²⁻⁵.

Marcadores de las Células Madre

- **Integrinas:** receptores transmembrana, responsables de la unión de la capa basal de la epidermis a su sustrato subyacente
 - $\beta 1$ promueve diferenciación terminal y migración del queratinocito; su carencia condiciona defectos en la unión de la membrana basal en la cicatrización y reepitelización.
 - Su utilidad como marcadores es limitada por la incertidumbre en la interpretación de sus niveles de expresión en las células amplificadoras transitorias²⁻³.
- **Receptor de transferrina:** el cual está expresado en las células con alta actividad mitótica²⁻³.
- **Proto oncogen c-Myc:** regulador transcripcional en la proliferación de una gran variedad de células, incluyendo los queratinocitos. Su sobreexpresión da como resultado la depleción de las células madre de la protuberancia del folículo piloso así como también cambios en el linaje de dichas células, por ejemplo, la síntesis de glándulas sebáceas²⁻³.
- **Factor de transcripción p63:** homólogo del proto oncogen p53
 - Su delección ocasiona severos defectos en el desarrollo epidérmico.
 - Existe la hipótesis de que es necesaria su presencia para mantener el linaje de células madre epidérmicas²⁻³.
- **Beta catenina:** mediador de señales Wnt/wingless (complejo proteico que participa en la embriogénesis y carcinogénesis, factor de crecimiento de células madre)

- Asociado a la capacidad de adquirir o mantener la multipotencialidad de las células madre epiteliales
- Su sobreexpresión da como resultado la síntesis de novo de folículos pilosos y la aparición de tumores foliculares (pilomatricomas y tricofolículos)
- Su déficit bloquea la formación de folículos pilosos durante la embriogénesis, pero no afecta los queratinocitos epidérmicos²⁻³.
- **Queratina 15 y 19:** cumplen una función estructural y se encuentran localizadas en subpoblaciones de queratinocitos basales. La queratina 15 es expresada por las células madre de la protuberancia del folículo piloso²⁻³.
- **Lhx2:** es un factor de transcripción que reprime diferenciación folicular. Es expresado por las células madre de la protuberancia⁵.
- **CDK** (ciclina dependiente de quinasa): factor de proliferación de células madre, expresado por las células madre de la protuberancia⁵.
- **Nfatc1:** factor de transcripción regulado por calcineurina; es expresado por células en estado de reposo. Constituyen un mecanismo de control del ciclo del pelo⁵.
- **BMP** (Proteína morfogenética ósea): mecanismo de control (negativo) del ciclo del pelo⁵.
- Enzima convertidora de angiotensina: participa en los procesos de respuesta inflamatoria y pigmentación cutánea. Liu y colaboradores la describieron como marcador de células madre epidérmicas^{6,7}.

Células Madre y Cicatrización

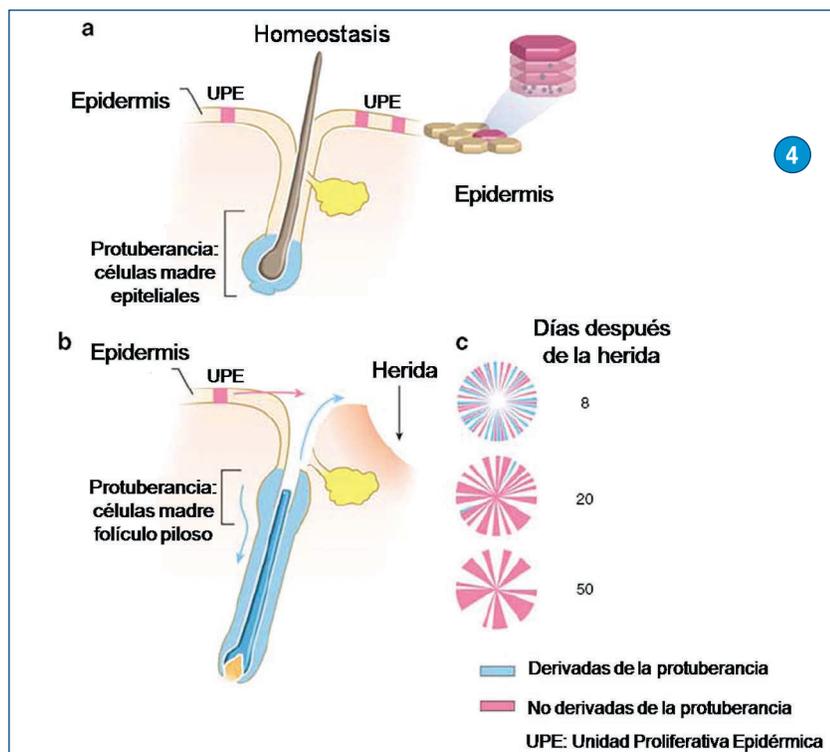
El rol de las células del folículo piloso en la cicatrización y reparación de heridas data de la década de 1970, estando claro que los queratinocitos emergen desde el folículo, sin embargo el papel de las células de la protuberancia ha sido estudiado desde el año 2005^{2,8}.

Los queratinocitos se activan en respuesta a lesiones epidérmicas y secretan varias citoquinas y factores de crecimiento incluyendo interleuquina-1. Las células madre multipotenciales de la protuberancia dan lugar a las células amplificadoras transitorias y estas a su vez a las células postmitóticas que migran a la epidermis contribuyendo a la regeneración de la epidermis interfolicular. Anteriormente se creía que la pérdida de los folículos pilosos en las heridas cutáneas era permanente pero hace muy poco tiempo se demostró que nuevos folículos pilosos pueden surgir a partir de células epidérmicas en heridas de ratones adultos. Este proceso es dependiente de señales *Wnt*, ya que la expresión de antagonistas como *DKK1*, bloquea el desarrollo de nuevos folículos pilosos provenientes de la protuberancia en el área lesionada mas no

así los desarrollados a partir de células epidérmicas las cuales son independientes de las señales mencionadas. En las heridas crónicas, la migración de los queratinocitos se ve comprometida cuando el oncogen c-Myc está sobre expresado en los folículos pilosos y la capa basal de la epidermis, lo cual contribuye a la persistencia de la herida. Existe la hipótesis de que la depleción de células madre epidérmicas es causada por el c-Myc^{2,8}.

Durante la homeostasis cutánea, las células madre de las unidades proliferativas epidérmicas y la protuberancia del folículo piloso funcionan como estructuras independientes, sin embargo, ante una herida ambos grupos de células madre migran hacia el área lesionada; las células madre de la protuberancia son eventualmente eliminadas mientras que las de la unidad proliferativa epidérmica pueden persistir hasta por 50 días. Estos hallazgos sugieren que un linaje distinto al de las células de la protuberancia contribuye al proceso de regeneración cutáneo (Figura 4)². Estudios recientes demuestran que folículos pilosos generados en el área lesionada simulan a los desarrollados durante la etapa embriogénica, lo cual se complementa con la presencia de moléculas implicadas durante el desarrollo embriogénico del folículo piloso halladas en la neogénesis del adulto^{2,8}.

Figura 4. Células madre epidérmicas durante la homeostasis y después de heridas. Modificado de Cotsarelis G. Epithelial stem cells: a folliculocentric view



Un nuevo aspecto en la regeneración epidérmica es la contribución de las células madre CD34 + de la médula ósea, las cuales se pueden

injetar en la protuberancia del folículo piloso para generar queratinocitos epidérmicos; estas células son capaces de generar folículos pilosos y glándulas sebáceas durante la cicatrización de heridas en ratones^{2,8}.

Células Madre y Carcinomas Cutáneos

Las células madre poseen varios rasgos importantes que las hacen objetivos atractivos para la transformación maligna, a saber: tienen la capacidad de autorrenovación, necesaria para el desarrollo de cáncer y un mayor riesgo de acumular mutaciones debido a su larga vida útil, esto podría explicar el aumento de la incidencia de cáncer conforme aumenta la edad. Un argumento importante para la formación de cáncer de piel a partir de células madre epidérmicas es la correlación entre varios linajes epidérmicos (epidermis interfolicular, folículos de pelo y glándulas sebáceas) y los fenotipos diferenciados de los tumores epidérmicos (carcinoma de células escamosas, carcinoma de células basales, pilomatricoma, tricofolliculoma y adenoma sebáceo)^{2,4,8}.

La pérdida del estado de reposo de las células madre de la protuberancia posterior a la inhibición del receptor de proteína morfogenética ósea (BMP) da como resultado la proliferación de células madre y el desarrollo de tumores cutáneos^{2,4,8}.

La mayoría de los tumores malignos contienen pequeñas poblaciones de células madre cancerígenas que mantienen la masa tumoral, dichas células madre han sido identificadas en leucemia, carcinoma de colon, cáncer de mama, próstata, páncreas, glioblastomas y carcinoma de células escamosas^{2,4,8}.

Las queratinas 15 y 19 son expresadas por los carcinomas sebáceos y del folículo piloso,

sugiriendo un origen en la protuberancia del folículo piloso^{2,4,8}.

El carcinoma de células escamosas expresa altos niveles de integrina $\alpha 6$, c-Myc y p63, siendo este último necesario para el mantenimiento y proliferación de los queratinocitos epidérmicos^{2,4,8}.

Mutaciones de β catenina y el gen *patched* se asocia a tumores de glándulas sebáceas, carcinomas de células basales y pilomatricoma^{2,4,8}.

Células Madre y Melanoma

El estudio de células del melanoma ha demostrado la presencia de una subpoblación celular CD20+ con características de células madre, también se han asociado dichas células a mutaciones de β catenina y la presencia del transportador ABCB5 el cual se ha relacionado a la resistencia al tratamiento con agentes quimioterapéuticos^{2,4,8,9}.

Células Madre y Alopecia

La localización de subpoblaciones de células madre en el folículo piloso está relacionada a la aparición de alopecias permanentes o transitorias, en las alopecias cicatrizales, el proceso inflamatorio compromete la porción superficial del folículo piloso incluyendo las células de la protuberancia por lo cual no son capaces de regenerarse, sin embargo, en la alopecia areata el proceso inflamatorio compromete las células del bulbo del folículo piloso sin afectar las células madre de la protuberancia por lo cual se observa regeneración capilar al controlarse el proceso inflamatorio².

Células Madre y Psoriasis

Se ha observado una sobreexpresión de integrina $\beta 1$, marcador C-Jun, queratina 1 y queratina 10, estimulantes de la proliferación de las células amplificadoras transitorias epidérmicas en las placas de psoriasis así como también la expresión de queratina 6 en la piel perilesional⁸.

Avances con Células Madre

Estudios realizados sugieren que células aisladas de la protuberancia del folículo piloso de ratón tienen el potencial de diferenciarse en múltiples tejidos no epiteliales como células de Schwann y neuronas, esto fue demostrado por Li y colaboradores en ratones transgénicos marcados con Nestina, que es un marcador de células madre neurales. Resultados similares utilizando células de folículos pilosos humanos fueron reportados por Yu y colaboradores, estas células pueden diferenciarse in vitro en queratinocitos, células gliales, células del músculo liso, adipocitos y

melanocitos; además cuando los precursores de los sebocitos se encuentran afectados las células madre de la protuberancia pueden contribuir en la regeneración de las glándulas sebáceas por lo que se cree que el folículo piloso podría servir como fuente de células para ingeniería de tejidos⁵.

Las aplicaciones terapéuticas utilizando tecnología basada en células madre adultas pluripotenciales son cada vez más cercanas⁵.

Estudios del proceso de regeneración la epidermis y el folículo piloso sugieren la posibilidad de implementar programas de regeneración del ectodermo para generar órganos ectodérmicos⁵.

La estimulación de la proliferación de células madre adultas podría ser una herramienta molecular para inducir la regeneración y el reemplazo de otros órganos por lo cual, los avances en los estudios de las mismas pueden proporcionar tratamientos para una amplia variedad de enfermedades que se pensaban incurables. Para la ingeniería de tejidos, las células madre pueden proporcionar una fuente casi inagotable de células⁵.

Como **Conclusión**, señalamos que la evidencia sobre las utilidad de las células madre para el tratamiento de diferentes patologías cutáneas es abrumadora, indetenible y cercana. Como bien lo señala Yu B y colaboradores, la investigación actual se centra en la promoción de la diferenciación de células madre en distintos linajes, la depuración celular, el descarte de potencial carcinogénico en la población celular y la implantación en el tejido que reemplazará o modificará.

Referencias

1. Polak J, Bishop A. Stem Cells and Tissue Engineering: Past, Present, and Future. Ann. N.Y. Acad. 2006. 1068: 352-366
2. Cotsarelis G. Epithelial stem cells: a folliculocentric view. J Invest Dermatol 2006, 126: 1459-1468
3. Alonso L, Fuchs E. Stem cells of the skin epithelium. PNAS 2003; 100 (1): 11830-11835
4. Aznar B. Epidermal stem cells in skin homeostasis and cutaneous carcinomas. Clin Transl Oncol (2007) 9:760-766
5. Yu B, Mukhopadhyay A and Wong C. Skin and hair: models for exploring organ regeneration. Hum Mol Gen, 2008, 17, Review Issue 1: 54-59
6. Jokubaitis et al. Angiotensin-converting enzyme (CD143) marks hematopoietic stem cells in human embryonic, fetal, and adult hematopoietic tissues. Blood 2008; 111:4055-63.
7. Liu et al. Characterization of angiotensin-converting enzyme expression during epidermis morphogenesis in humans: a potential marker for epidermal stem cells. British Journal of Dermatology 2009 160: 250-258
8. Kamstrup M, Faurschou A, Gniadecki R and Wulf H. Epidermal Stem Cells - Role in Normal, Wounded and Pathological Psoriatic and Cancer Skin. Cur St Cell Res & Ther, 2008, 3, 146-150
9. Houben R, Wischhusen J, Mena F, Synwoldt P, Schrama D, Bröcker E, Becker J. Melanoma stem cells: targets for successful therapy?. JDDG; 2008 • 6:541-546