



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE QUÍMICA

“Factibilidad Biológica en los Procesos de Regeneración de la Piel”

Trabajo Escrito Vía Cursos de Educación Continúa

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

QUÍMICA FARMACÉUTICA BIÓLOGA

PRESENTA

Lucía Daniela Aguirre Díaz



MÉXICO, D.F.

AÑO 2013



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

JURADO ASIGNADO:

PRESIDENTE: Profesor: RODOLFO PASTELIN PALACIOS

VOCAL: Profesor: JESUS FERNANDO MONTIEL AGUIRRE

SECRETARIO: Profesor: EVA DELIA CALDERON GARCIDUEÑAS

1er. SUPLENTE: Profesor: JULIO CESAR MARTINEZ ALVAREZ

2° SUPLENTE: Profesor: JORGE RAFAEL MARTINEZ PENICHE

**SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA: Cursos de Educación
Continua**

ASESOR DEL TEMA:

EVA DELIA CALDERON GARCIDUEÑAS

SUSTENTANTE:

LUCIA DANIELA AGUIRRE DIAZ

Índice

1.- Introducción.....	1
2.- Generalidades.....	3
2.1 Piel.....	3
2.2 Arquitectura de la piel.....	4
2.2.1 Epidermis.....	4
2.2.2 Dermis.....	8
2.2.3 Hipodermis.....	10
2.3.- Células Madre.....	11
2. 3.1 Nichos de Células Madre en la piel.....	12
2.4.- Renovación de la Epidermis.....	14
2.5.- Comunicación celular.....	18
2.5.1.- Vías de comunicación celular.....	20
2.6.- Factores de crecimiento.....	21
2.6.1.- Factores de crecimiento en la regeneración de la piel.....	23
2.6.2.- Función de los factores de crecimiento.....	27
2.7.- Células Mesenquimales.....	30
2.8.- Medicina Regenerativa y Terapia Celular.....	32
2.8.1.-Terapias en la Regeneración de la Piel.....	33
2.8.2.- Consideraciones en la utilización de células madre.....	44
3.- Análisis.....	47
4.-Conclusiones.....	51
5.-Referencias.....	52

1.- Introducción

La importancia de la piel en el organismo radica en su papel esencial en el mantenimiento de la homeostasis. La amplia variedad de funciones realizadas por la piel han sido preservadas a lo largo de la evolución al proporcionar a este órgano una extraordinaria capacidad regeneradora en respuesta a la pérdida de su propia masa, sin que con ello resulte afectada la viabilidad del organismo. Un medio para vislumbrar los mecanismos implicados en la regeneración de la piel, es caracterizar las moléculas críticas (factores de crecimiento) que regulan este proceso. Las células madre de la piel se encuentran en estado quiescente o de reposo, pero ante la pérdida de una parte de ellas mismas, por una enfermedad, lesión o heridas cutáneas, las células que permanecen, experimentan un cambio rápido hacia el estado proliferativo en respuesta a determinadas señales, que se transmiten al interior del núcleo en las etapas iniciales de la regeneración de la piel, y activan una serie de genes de respuesta al crecimiento.

La terapia celular, definida como la transfusión o el trasplante de células vivas a un paciente con el propósito de reparar tejido y funciones perdidas, es prometedor para tratar una gran variedad de enfermedades humanas.

El esclarecimiento de las propiedades de las células madre, tanto embrionarias como adultas, así como el entendimiento de las vías de señalización celular y factores de crecimiento que intervienen en la regeneración de la piel serán importantes para crear nuevos tratamientos.

Los tratamientos hoy en día disponibles, carecen de satisfacción tanto funcional como cosmético, lo que ha conducido a crear nuevas estrategias terapéuticas para tratar enfermedades de la piel, la mayor parte de ellos realizados en animales de laboratorio.

Determinar que células son las más idóneas para reparar un daño tisular particular y cual es la fuente más adecuada para conseguir estas células, así como determinar los efectos secundarios y seguridad a largo plazo del uso de estas células, son importante para determinar si una nueva intervención terapéutica puede funcionar para una determinada enfermedad o daño y poder ser trasplantadas con seguridad y eficacia.

2.- Generalidades

2.1 Piel

La piel es el órgano más grande del organismo que recubre al cuerpo en su totalidad, cubre un área de aproximadamente de 1,5-2 m² en un adulto y representa aproximadamente el 10% del peso corporal (1). Realiza una gran variedad de funciones vitales para el mantenimiento de la homeostasis corporal. La piel es una estructura muy compleja, que consiste de varios componentes y anexos tales como folículos pilosos, glándulas sebáceas y glándulas sudoríparas, que se desarrollan a partir de ella (1,2).

La principal función de la piel es la de actuar como barrera protectora, compuesta de diversas estructuras y células de sostén que controlan las pérdidas de agua y electrolitos; brinda protección frente a agentes físicos, químicos y biológicos; su flexibilidad y resistencia protegen al cuerpo de la fricción y del daño mecánico; regulación de la temperatura corporal mediante la circulación sanguínea y la evaporación de la transpiración; es un órgano sensorial por sus numerosos nervios y terminaciones nerviosas que se encuentran en él; también es importante en la producción de vitamina D (molécula crítica en el metabolismo del calcio) en presencia de rayos solares (1, 2, 3).

La piel puede considerarse como un gran órgano constituido por dos tipos principales de tejidos distinguibles en cuanto a su anatomía, función y desarrollo: la epidermis y el tejido conjuntivo subyacente, que consiste en la dermis y la hipodermis. A su vez, estas capas están compuestas por distintos tipos celulares y tienen grandes diferencias en estructura y función (1).

2.2. Arquitectura de la piel

2..2.1 Epidermis

La epidermis, se origina del ectodermo durante el periodo de desarrollo embrionario (4) y forma la capa externa de la piel, constituye una barrera impermeable que se autorrepara y renueva de forma continua, esta expuesta a una amplia variedad de agresiones químicas, físicas y biológicas (3, 4). No se trata de una estructura físicamente fuerte, se protege secretando sustancias de protección de manera continua (2). La epidermis, es el componente fundamental de la piel, es decir, el tejido más característico de este órgano, aunque no constituye la mayor parte de su volumen. En ella, se desarrollan formaciones especializadas de la epidermis, como son, los pelos, uñas, glándulas sebáceas y glándulas sudoríparas. La distribución de dichas estructuras y de sus patrones característicos de crecimiento y renovación, están regulados por complejos mecanismos (3). La epidermis, se apoya en la membrana basal, que le proporciona una sólida unión, entre la dermis y la epidermis y permite el paso de moléculas entre estas dos estructuras (2). Es uno de los tejidos humanos mas activos, en términos de regeneración, que se mantiene, por población de queratinocitos, células madre y células progenitoras (células amplificadoras transitorias) (5).

Las regiones del epitelio más o menos grueso y poco especializado que recubren la superficie del cuerpo, entre los folículos pilosos y otros apéndices, reciben el nombre de epidermis interfolicular. La epidermis interfolicular, es un epitelio de varias capas de células (pluriestratificado) con características diferentes, las cuales son:

- *Estrato basal
- *Estrato espinoso
- *Estrato granular
- *Estrato córneo

La capa de células más interna, adheridas a la lámina basal, se denominan células basales y habitualmente son las únicas que se dividen (7). Por encima de las células basales, se encuentran varias capas de células espinosas, formadas por haces de filamentos de queratina, que atraviesan el citoplasma y se insertan en los desmosomas que unen a las células espinosas entre sí. Junto a las células espinosas, se halla otra fina capa de células granulares, que se encuentran unidas con fuerza formando una barrera impermeable (3). Estas células, son caracterizadas por la presencia de gránulos de queratohialina, estos gránulos, contienen un precursor de proteína, la profilagrina que, cuando se desfosforila a filagrina, se inicia la agregación de acúmulos de queratina (2). La capa granular, es una barrera que permite el desplazamiento de agua y de solutos y marca el límite entre el estrato interno metabólicamente activo y la capa externa de la epidermis formada por células muertas, cuyos orgánulos intracelulares han desaparecido (3). Las células más externas, localizadas en el estrato córneo, están en contacto directo con el ambiente externo, las cuales se hallan reducidas a láminas aplanadas, o escamas, que están compuestas principalmente de filagrina y queratina, esta última se compone de una porción proteinacea interna, compuesta de proteínas de envuelta (involucrina, cistatina A, loricrina, tricohialino, filagrina y otros), que son unidas por enzimas transglutaminasas para formar una envuelta insoluble. Estas células, se desprenden continuamente de la superficie de la piel por un proceso llamado descamación (2). Figura 2

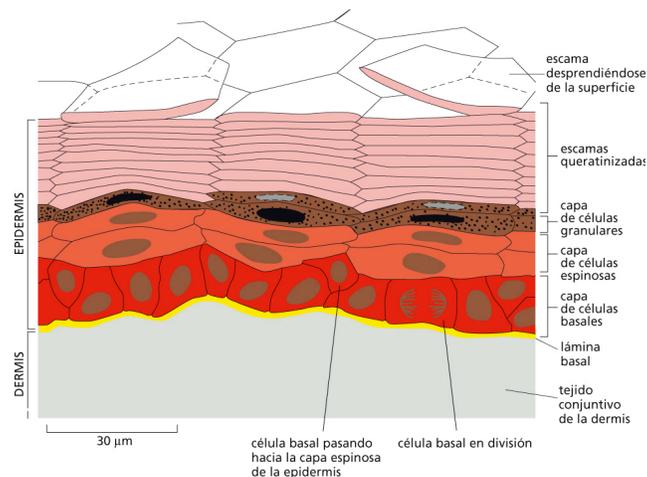


FIGURA 2.- Estructura pluriestratificada de la epidermis

Los folículos pilosos, constituyen junto con las glándulas sebáceas y sudoríparas los anexos epidérmicos, los cuales, se forman durante la embriogénesis a partir de la epidermis. De ellos, los folículos pilosos son los más importantes, debido a su compleja estructura y su relevante función para residir en ellos uno de los componentes más importantes de células madre epidérmicas. La morfogénesis del folículo piloso, comienza en etapas tempranas del desarrollo embrionario, como una población de células dérmicas (7), que a través de un intercambio de señales entre células de la dermis y epidermis forman un epitelio de una sola capa. La primera estructura en formarse es la placoda, que consiste en una invaginación de la epidermis, en cuya base se condensa un grupo de células dérmicas que constituye el precursor de la papila dérmica, que es el componente mesenquimal permanente del folículo piloso y juega un papel crucial en el crecimiento de este y, por lo tanto, del pelo. Una vez formadas estas placodas, entran en un complejo programa de proliferación, crecimiento hacia la dermis y diferenciación, dando lugar a los folículos pilosos, con una estructura de capas capaces de generar pelo y glándulas sebáceas formadas como un apéndice. A lo largo de la vida, los folículos pilosos atraviesan ciclos constituidos por: a) una fase de involución (catágeno), durante la cual, se pierde la parte inferior del folículo piloso y se desplaza la papila dérmica hacia la base permanente del folículo, justo debajo de la protuberancia (bulge) característica del folículo; b) un periodo de latencia (felógeno); c) una fase de crecimiento (anágeno), durante la cual, la comunicación entre las células de la papila dérmica y las células progenitoras de la región del bulge, dan lugar a la reconstitución de un folículo piloso completo y al crecimiento de un nuevo pelo (1). Figura 3

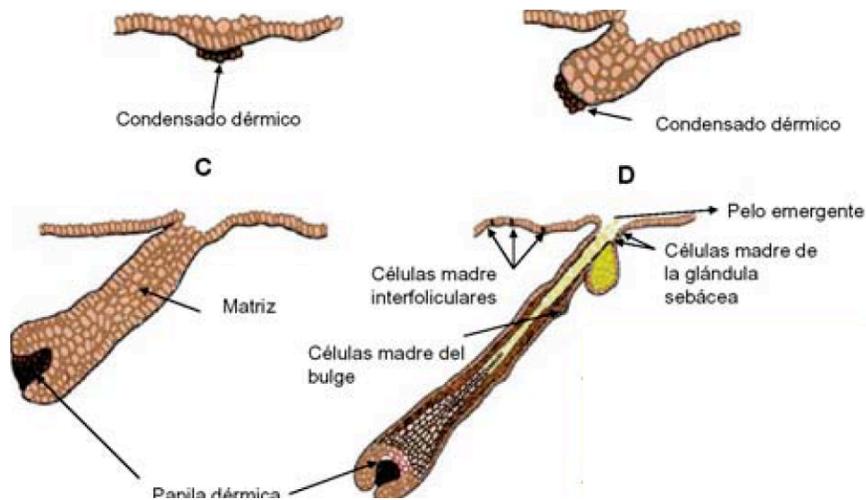


FIGURA 3.- Esquema del desarrollo del folículo piloso

La membrana basal, es una estructura compleja constituida por proteínas especializadas que son importantes en el anclaje dermi-epidérmico y delimita el área epitelial y mesenquimal. Las células madre epidérmicas están en contacto con la membrana basal, previendo el nicho o medio ambiente necesario, para que, por una parte, se mantenga estas células en estado quiescente y, por otra, permitirles activarse, primero proliferando y luego diferenciándose, para mantener la homeostasis del tejido y dar lugar al nuevo pelo o reparar una herida (3).

2.2.2 Dermis

La dermis, es el mayor componente estructural de la piel, proporciona una matriz para las estructuras de soporte y las secreciones que mantienen e interaccionan con la epidermis. Es una estructura termorreguladora y sensorial importante, que contribuye significativamente al almacenamiento del agua en el cuerpo (2).

La dermis, esta constituido de tejido conjuntivo relativamente grueso y consistente, rico en colágeno, que le confiere a la piel resistencia, elasticidad y flexibilidad (3).

Consta de dos capas: una profunda o reticular (tejido conjuntivo denso) y otra superficial o papilar (tejido conjuntivo laxo). La capa reticular, está formada por haces de colágeno tipo I, que se disponen en conjunto de fibras paralelas que se entrecruzan, y por fibras elásticas que soportan tensiones, evitan desgarres y dotan a la piel de distensibilidad. La capa papilar, está compuesta por tejido conectivo laxo con tipos celulares como fibroblastos, macrófagos y mastocitos. Esta capa se encuentra constituida por papilas dérmicas, que son profusiones cónicas a modo de relieves, que se interdigitan con la epidermis. Los fibroblastos dérmicos, son un componente esencial de la piel, ya que son los encargados de la producción y organización de la matriz extracelular de la dermis, juegan un papel crucial en la fisiología de la piel, ya que son los encargados de liberar factores de crecimiento y citocinas en los procesos de reparación, así como modular la actividad de los queratinocitos (6). El tejido conjuntivo junto con los vasos y nervios que lo atraviesan, son los responsables de la mayoría de las funciones de soporte (3). Figura 4

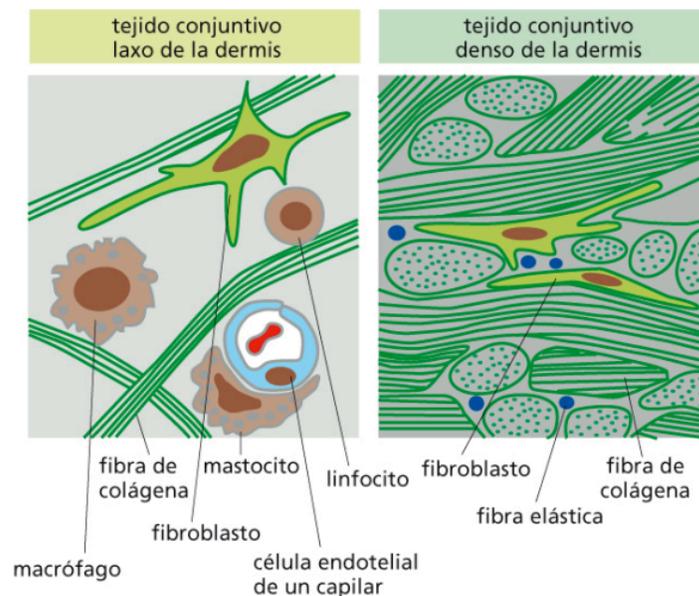


FIGURA 4.- Estructura de la dermis

La matriz del tejido conjuntivo dérmico, consiste principalmente en fibras elásticas y de colágeno, componentes no fibrosos, como son, los proteoglicanos y glicoproteínas. El colágeno, es la mayor proteína extracelular de la dermis, que proporciona fuerza, elasticidad y es secretada por los fibroblastos. La renovación del colágeno en la dermis es lenta y se controla por componentes celulares dérmicos, en concreto fibroblastos (2). Las fibras elásticas forman una red en toda la dermis, esta compuesta por dos componentes principales: elastina y microfibrillas proteicas. Los glicosaminoglicanos y proteoglicanos, forman parte de la matriz extracelular, que forman un gel viscoso que rodea y sostiene los demás componentes de la dermis (2, 3).

2.2.3 Hipodermis

La hipodermis, es una capa subcutánea subyacente de grasa. La grasa subcutánea, es otro importante componente de la piel, ya que sirve como almohadilla absorbente de golpes, protegiendo estructuras vitales; mantiene el calor corporal, actúa de aislante y reservorio de energía en caso de ayuno. Esta constituido por células especializadas en la acumulación y almacenamiento de grasa llamados adipocitos, los cuales se disponen formando lobulillos que están separados por tabiques fibrosos por donde circulan vasos y nervios. El grosor de la hipodermis, varía de una zona a otra (8).

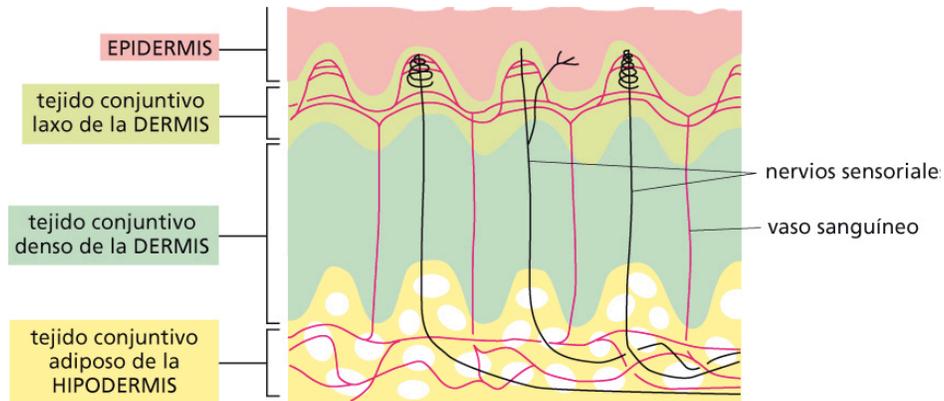


FIGURA 5.- Estructura completa de la piel

2.3.- Células madre

Las células madre, también denominadas células troncales, estromales o stem cell en inglés, son células que tienen la capacidad no solamente de poder cultivarse y reproducirse así misma, si no también, de producir células adultas de diferente progenie, es decir, de diferentes tejidos (plasticidad celular) (9, 10, 11).

Las propiedades que definen una célula madre son las siguientes:

1. Ser indiferenciada: Estadio celular en que la célula no está especializada, es decir es inmadura.
2. Autorrenovación: Reproducirse muchas veces sin diferenciarse.
3. Diferenciación: Capacidad de dar origen a células amplificadoras transitorias, con capacidad limitada de proliferar y dar lugar a células altamente diferenciadas.

Las células madre pueden ser clasificadas de acuerdo a:

1.- Su origen en:

1.1.-Células madre embrionarias (se obtiene de la masa celular interna del embrión en estadio de blastocisto).

1.2.-Células madre obtenidas de tejidos adultos (se obtiene de médula ósea, piel, tejido adiposo, etc).

1.3.-Células madre obtenidas de cordón umbilical.

2.- Su potencialidad:

2.1.- Células madre totipotenciales: Pueden dar origen a un individuo completo de su especie.

2.2.-Células madre pluripotenciales: Pueden dar origen a células de todo tipo de tejidos.

2.3.-Células madre multipotenciales: Pueden dar origen a células de varios tejidos.

Las fuentes más comunes de obtención de Células madre son:

1.- Médula ósea

2.-Sangre Periférica

3.-Cordón Umbilical (10, 11).

2.3.1 Nichos de células madre en la piel

Unidades funcionales de células madre se han descrito a lo largo de todas las capas de la piel (epidermis, dermis e hipodermis), las cuales juegan un papel importante en el desarrollo, reparación y homeostasis de la piel.

El micromedioambiente dinámico o nicho de estas células madre que regulan la conducta celular, esta compuesto de, células adyacentes, células madres, moléculas de señalización, matriz extracelular, fuerza física y tensión de oxígeno. Por lo tanto, el definir estos nichos y determinar el comportamiento celular, será una herramienta importante en terapia celular.

En la epidermis, encontramos 3 poblaciones de células madre, localizadas en el bulge del folículo piloso, glándula sebácea y capa basal de la epidermis interfolicular, las cuales, son las responsables de la estratificación epitelial, foliculogénesis y reparación de heridas a lo largo de la vida.

En la dermis, poblaciones celulares dentro de la papila y regiones perivasculares, funcionan como nichos de células madre.

En la hipodermis, las células madre, han sido aisladas de la fracción estromal-vascular del tejido graso y del intersticio entre los adipocitos y el endotelio que derivan del nicho perivascular (12).

2.4.-Renovación de la epidermis

El proceso fisiológico, que mantiene un número constante de células en la renovación de los órganos, es denominado homeostasis. Las células madre localizadas en esos órganos, son las responsables del mantenimiento de la homeostasis y reparación de heridas, ya que tienen una alta capacidad de auto-renovación y diferenciación celular. La homeostasis en la piel, es llevada a cabo por células madre del tejido epitelial, quienes remplazan a los queratinocitos que se van perdiendo a través de la diferenciación normal, reparación de tejidos o por muerte de las células dañadas (4). Las capas más externas de la epidermis, se renuevan unas mil veces en el transcurso de la vida. Sin embargo, en la capa basal, algunas células permanecen indiferenciadas y se dividen, incorporándose a la población celular de la capa basal, mientras otras salen de la capa celular basal (descendientes destinados a la diferenciación,) y entran en la capa de células espinosas (desplazamiento ascendente), esta transición, se caracteriza por la pérdida del contacto con la membrana basal, pérdida de la capacidad de proliferar, pérdida de la expresión de marcadores como las queratinas K5 y K14 y la ganancia de otros como queratina K1 y K10 (1), cuando alcanzan la capa granular, las células empiezan a perder sus núcleos y orgánulos citoplasmáticos, mediante un mecanismo degradativo, que implica una activación parcial de la maquinaria de la apoptosis; de este modo, las células se transforman en escamas queratinizadas (principal componente de la barrera de protección de la piel), donde finalmente dichas células se descaman de la superficie de la piel (3). Ocurren grandes cambios en morfología, función y expresión de proteínas marcadoras, entre el paso de células de la capa basal a células de la capa espinosa y de células de la capa espinosa a células de la capa granular (7). El intervalo de tiempo, que transcurre desde el momento en el que se forma una célula en la capa basal de la piel humana, hasta que se pierde por desprendimiento de la superficie, es de orden de un mes, pero este tiempo varía según de la región del cuerpo que se trate (3).

El proceso de transformación celular, involucra una secuencia de distintos estadios de expresión génica, en donde se van sintetizando una sucesión de distintos componentes de la familia de las queratinas y proteínas como la involucrina, el cual da lugar a un programa coordinado de diferenciación terminal, que se inicia en la capa basal y es donde se decide el destino final de las células. Este proceso se puede mantener, si la población de células basales se autorrenueva y contiene células que generen una descendencia mixta, incluyendo células hijas que permanezcan indiferenciadas, como las células progenitoras y células hijas que se diferencien. Las células que poseen esta propiedad se denominan células madre (1,3).

La capacidad proliferativa de las células basales, se correlaciona de forma directa con la expresión de la subunidad $\beta 1$ de las integrinas, que actúan en la adhesión a la membrana basal, de manera tal que la pérdida de contacto con la membrana basal, desencadena el inicio de la diferenciación terminal de esta célula, mientras que el mantenimiento del contacto con la membrana basal, preserva el potencial de célula madre (3, 13). Las integrinas, son requeridas para el ensamble de la membrana basal, adhesión del sustrato celular (células madre), supervivencia y proliferación celular (7).

Diversos experimentos se han llevado a cabo para determinar la localización de las células madre en la epidermis, partiendo del hecho de que las células madre expresan $\beta 1$ y que las células diferenciadas tienen una alta cantidad de queratina, se utilizaron técnicas de tinción de integrina $\beta 1$ y tinción de queratina para identificarlas. Observando que las células madre se agrupan cerca de los extremos de las papilas dérmicas y que pocas veces se dividen, lo cual da lugar a través de desplazamiento laterales a las células amplificadoras transitorias, que ocupan las zonas intermedias, a menudo estas células se dividen un número determinado de ciclos y al final de estos, se empiezan a diferenciarse y se desplazan hacia afuera de la capa basal. Figura 6

Las células amplificadoras transitorias, se denominan “transitorias”, debido a que se encuentran en transito desde un carácter de célula madre a un carácter de célula diferenciada, y “amplificadora”, porque los ciclos de división ejercen un efecto de amplificación en el número de la progenie diferenciada, resultante de una sola división de una célula madre (1, 3, 7). Figura 7

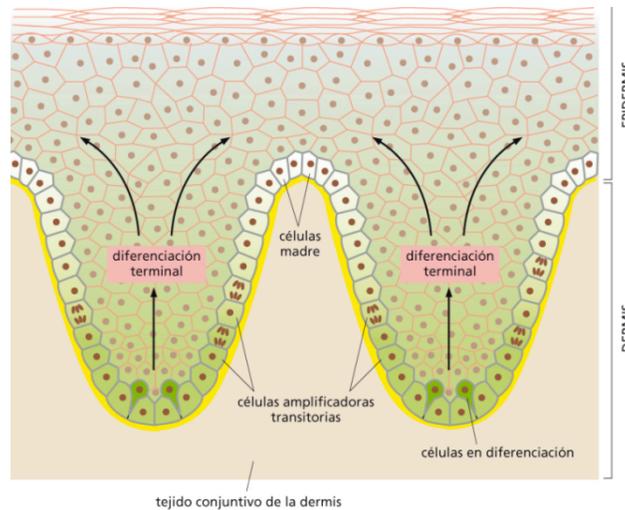


FIGURA 6.- Distribución de las células madre en la epidermis humana y modelo de producción de células epidérmicas

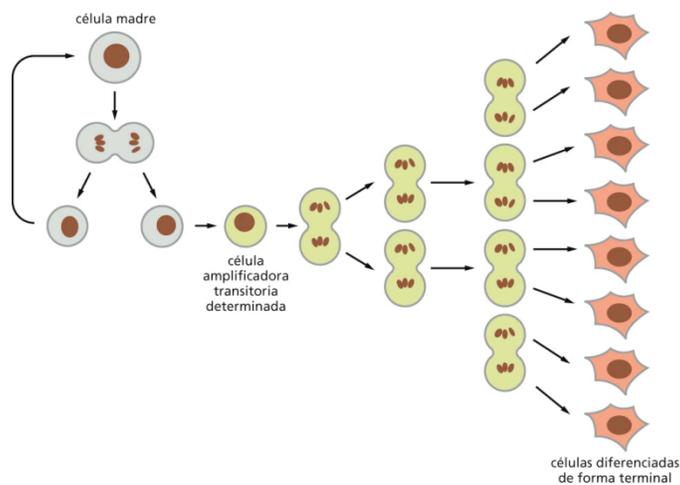


FIGURA 7.- Células Amplificadoras Transitorias

Para mantener la población celular de la epidermis, las células madre sufren una serie de divisiones asimétrica y simétrica, para asegurar la homeostasis (14). En la división asimétrica, la célula madre genera dos células hijas inicialmente similares, pero sus destinos están regidos por el microambiente en donde se encuentran, donde el 50% de la población de células hijas permanecería como célula madre y la otra heredaría factores que la obligan a seguir la vía de diferenciación terminal. En la división simétrica, la célula madre genera dos células madre o dos células amplificadoras transitorias. La membrana basal, que delimita a la dermis y epidermis, juega un papel crítico en la capacidad proliferativa de las células (7).

Si se destruye un fragmento de la epidermis, la lesión se repara mediante las células epidérmicas de los alrededores, que proliferan recubriendo el área descubierta, así se establece un nuevo fragmento reparado de la epidermis, lo que implica que se han generado células madre adicionales. Estas células, tienen que ser producidas mediante divisiones simétricas, en el que una célula madre da lugar a otras dos células madre, de esta forma la población de células madre ajusta su número total y ocupa el nicho disponible. Durante este proceso, las propiedades tanto de la epidermis y dermis, deben ser restauradas por acciones de diversos tipos de células, que experimentan una proliferación, diferenciación, migración y apoptosis, que conducirán a la reconstrucción de la piel. La reparación normal de heridas cutáneas, se caracteriza por tres fases superpuestas: Homeostasis e inflamación, proliferación celular y remodelación (15).

En la renovación tisular, se deben controlar muchos aspectos del proceso, como son, velocidad de división de las células madre, probabilidad de que una célula hija con características de célula madre pueda permanecer como tal, número de divisiones celulares de las células amplificadoras transitorias, cronometraje de la salida de la capa basal y el tiempo que tarda la célula en completar su programa de diferenciación y desprenderse de la superficie.

La regulación de estas etapas, confiere a la epidermis la capacidad de reparar por sí misma las heridas y mantener la superficie del cuerpo recubierta de manera apropiada. Mediante el mantenimiento del contacto con la membrana basal, señalizada a través de integrinas en la membrana plasmática de las células, permitirá asegurar que el tamaño de la población de las células madre no aumente sin límites. La señalización entre las células de la propia epidermis, como la señalización entre la epidermis y la dermis, se hallan implicados una gran cantidad de mecanismos de comunicación celular, que son importantes en el desarrollo de la piel y reparación de heridas cutáneas, como son Wnt/ β -catenina, Notch, TGF- β , y Hedgehog (15). Las señales extrínsecas recibidas del micromedioambiente y translocadas a través de receptores de transmembrana, junto con propiedades intrínsecas de las células basales de la epidermis, son las que definen la capacidad de auto-renovación, mantenimiento de la homeostasis y reparación de heridas (7).

2.5.-Comunicación celular

La comunicación celular se establece por vías de transducción de señales, también conocidas como vías de señalización, que permiten intercambiar información entre células (endocrina, paracrina, autocrina, neuronal o por contacto directo) y coordinar señales de su entorno, controlando procesos de proliferación, diferenciación, morfología, muerte celular, síntesis de una proteína o adaptar un destino celular diferente (16, 17).

Las vías de comunicación celular son sistemas en cascada, con una serie de etapas secuenciales, donde la célula señalizadora produce una molécula señalizadora que se une a receptores de superficie celular (receptores acoplados a canales iónicos, receptores acoplados a proteínas G y receptores acoplados a enzimas), generando una o mas moléculas de señalización intracelular, proceso denominado transducción o de transformación de señal extracelular en una intracelular.

La diseminación de esas señales intracelulares (también denominadas segundos mensajeros) y su interacción con proteínas efectoras permite regular los procesos celulares básicos. Algunos de estos procesos pueden ser la activación o inactivación de proteínas mediante fosforilación o procesamiento proteolítico, control de la expresión genica, mediante la modificación de la actividad de los denominados factores de transcripción. Es importante recordar que estos sistemas, para ser eficaces, tienen que funcionar de forma transitoria y controlada. Además de los procesos de detección, transformación y amplificación de la señal, tienen que existir sistemas de terminación, adaptación e integración que aseguren en todo momento su activación y desactivación controlada, así como su interconexión con el conjunto de señales que en cada momento recibe cada célula. Cuando estos mecanismos de control sufren alguna alteración o funcionan mal, se producen situaciones patológicas (16, 18, 19). Figura 8

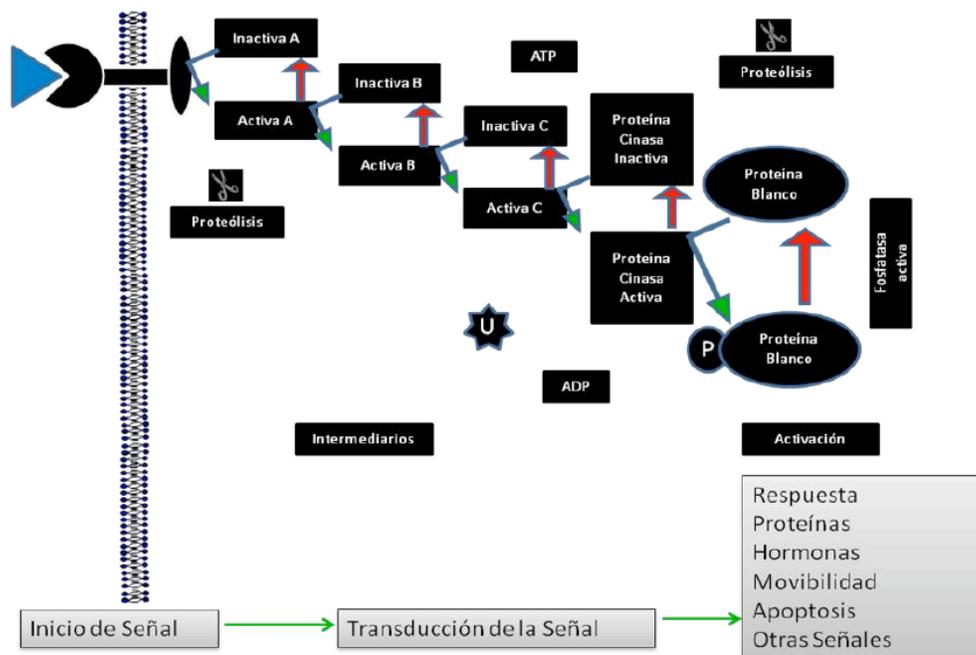


FIGURA 8.- Esquema general de la transducción de una señal. El triángulo azul representa a un ligando (molécula señalizadora), que después de activar al receptor inicia la transducción de la señal mediante la activación (flechas verdes) o inactivación (flechas rojas) de elementos involucrados en la vía, mediante proteólisis, fosforilación o ubiquitinación, para finalmente promover una respuesta por parte de la célula.

2.5.1 Vías de comunicación celular

El desarrollo y mantenimiento de las funciones en un organismo multicelular son procesos regulados por las vías de transducción de señales. La vía de señalización Notch, Wingless (Wnt), Factor de Crecimiento Transformante Beta (TGF- β), Hedgehog, son utilizadas de manera reiterada durante el crecimiento de los organismos de acuerdo al contexto o estadio de desarrollo. Estas vías difieren notablemente tanto en su complejidad como en su mecanismo bioquímico de señalización transduccional. Sin embargo, el objetivo final de la señalización es el mismo: regular la expresión de genes blanco específicos por factores de transcripción regulados por señales, conduciendo a la proliferación, diferenciación, muerte y crecimiento celular. Poco se sabe acerca de estas vías que controlan el comportamiento de las células madre. La vía Wnt corresponde a un grupo de glicoproteínas secretadas, que son importantes en muchos procesos celulares durante el desarrollo y mantenimiento de la homeostasis de la piel, regulando el crecimiento y el destino celular, en una gran variedad de tipos de células. Una pérdida de la señalización Wnt, provoca el bloqueo de desarrollo, mientras que una activación excesiva, conduce al crecimiento excesivo dando lugar a tumores. Esta señalización, mantiene a las células en estado proliferativo, para hacerlas competentes y alcanzar la serie completa de los tipos celulares diferenciados (3). La señalización Notch, es otra vía importante que participa en la coordinación del desarrollo celular y esta presente en todas las especies humanas estudiadas hasta la fecha. La señalización Notch, restringe el tamaño de la población de células madre, dirige la diversificación de la estirpe de células madre (3), regula la diferenciación epidérmica, asegura la correcta estratificación de la epidermis, participa en los procesos de angiogénesis y mantenimiento vascular (15, 20). La vía TGF- β , esta involucrada en la formación de apéndices de la piel, proliferación de fibroblastos, reepitalización, síntesis de componentes de matriz extracelular como colageno tipo 1 y fibronectina, así como media los mecanismos fibróticos necesarios para restaurar la dermis durante la reparación de heridas cutáneas.

La vía Hedgehog, juega un papel importante en el desarrollo de folículos pilosos y estructuras asociadas, como las glándulas sebáceas y papila dérmica; contribuye a la reepitalización y cicatrización dérmica (15, 21).

2.6 Factores de crecimiento

Los factores de crecimiento son proteínas sintetizadas por varios órganos, tejidos y células, cumplen funciones endocrinas, paracrinas, autocrinas y se liberan inmediatamente después de su síntesis. Tienen una actividad mitógena y estimuladora del crecimiento y diferenciación de células animales, tanto en el desarrollo embrionario como en los organismos adultos (22).

El papel crítico desempeñado por los factores de crecimiento en el control de la proliferación celular, hace que las anomalías en su expresión o mecanismo de acción conduzcan a diversas situaciones patológicas, como diversos tipos de cáncer.

Los factores de crecimiento son incapaces de atravesar las membranas plasmáticas. Para actuar en las células diana, tienen que interactuar con un receptor, que es una proteína integral de la membrana plasmática de esas células. La mayoría de los receptores de factores de crecimiento poseen actividad enzimática de tirosina quinasa, es decir, catalizan la fosforilación de residuos de tirosina en sus proteínas sustrato. Esa actividad catalítica se encuentra en un dominio intracelular del receptor, mientras que, el sitio de unión del factor de crecimiento está situado en el dominio externo y suele conocerse como ectodominio (23). Las investigaciones iniciales revelaron dos acontecimientos que ocurren tras la unión del factor de crecimiento: la dimerización del receptor y un notable incremento de su actividad tirosina quinasa. Aunque la dimerización puede ocurrir en algunos casos en ausencia del factor de crecimiento, el incremento de la actividad quinasa es estrictamente dependiente de su unión.

Esta conjunción de dimerización e incremento de la actividad de tirosina quinasa hace posible la autofosforilación del receptor, es decir, cada una de las subunidades fosforila residuos de tirosina de la otra. A su vez, la autofosforilación desempeña un papel fundamental en el funcionamiento de estos receptores. En primer lugar, tiene una función reguladora de la propia actividad tirosina quinasa del receptor. Por otro lado, la fosforilación de residuos de tirosina situados fuera del centro activo, hace que esta región del receptor adquiera la capacidad de unirse a otras proteínas citoplasmáticas. Las consecuencias funcionales de la unión de otras proteínas celulares es determinante para que la transducción de la señal iniciada por la asociación del factor de crecimiento con su receptor se lleve a término. Entre las proteínas reclutadas por el receptor, se encuentran proteínas que participan directamente en rutas de señalización celular, como quinasas y fosfatasa. La formación de un complejo con el receptor incrementa la actividad de estas enzimas, que inician de ese modo una cascada de fosforilación-desfosforilación hasta llegar al destino final intracelular. Los factores de crecimiento inducen la proliferación de células eucarióticas, de manera que la señal mitogénica, iniciada en el receptor, ha de llegar hasta el DNA, no sólo porque el DNA haya de replicarse para que las células se dividan, sino porque el crecimiento y la diferenciación implican la transcripción de múltiples genes que controlan la progresión del ciclo celular. Entre estos genes, hay algunos que se activan a los pocos minutos de haberse recibido la señal mitogénica, por lo que reciben el nombre de genes inmediato-tempranos. Normalmente, estos genes codifican factores de transcripción, necesarios para la activación de otra serie de genes, a veces llamados retrasados, porque su expresión es posterior a la de los genes inmediato-tempranos. Y estos genes retrasados suelen codificar otros factores necesarios para que los genes directamente implicados en la progresión del ciclo celular se activen (25). Figura 9

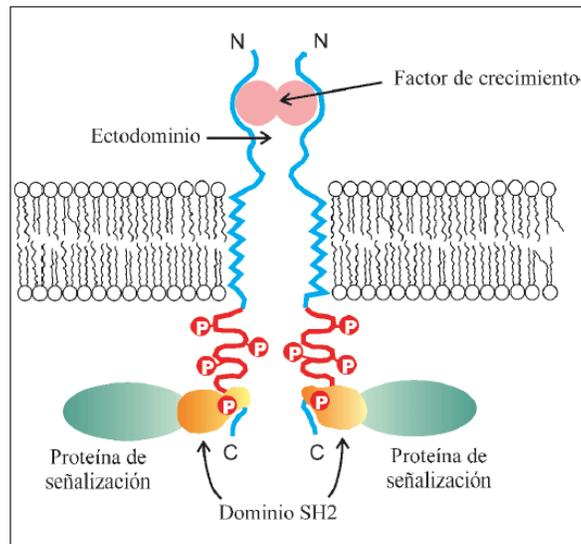


FIGURA 9.- Esquema de un receptor de factores de crecimiento

2.6.1 Factores de crecimiento en la regeneración de la piel

Los factores de crecimiento plaquetario son proteínas que produce nuestro organismo en forma natural, para promover la regeneración y reparación de los tejidos. Los factores de crecimiento son proteínas secretadas por las células (macrófagos, células endoteliales, monocitos, fibroblastos, matriz osea, plaquetas) que actúan sobre una célula blanco y tienen tres tipos de acción: autocrina, paracrina y endocrina (25).

El papel de los factores de crecimiento en modelos de heridas se ha venido estudiando en los últimos años, ya que han observado que las interacciones célula-célula y célula-matriz, en todas las etapas del proceso de reparación son controladas por diferentes factores de crecimiento y citosinas.

Las células de los mamíferos se multiplican si son estimuladas a hacerlo por señales extracelulares, denominados mitógeno, producidas por otras células. Las células de un organismo pluricelular son controladas de manera que una célula individual sobrevive sólo cuando es necesaria y se divide sólo cuando se requiere otra célula, lo que permite el crecimiento tisular o el reemplazo de células perdidas.

Una célula animal sobrevive, crece o se divide no solo por la presencia de nutrientes sino también al recibir señales químicas provenientes de otras células. La mayoría de las moléculas de señalización extracelular (factores de crecimiento) que influyen en la supervivencia, crecimiento y división de las células, son proteínas solubles secretadas por otras células, que estimulan uno o más procesos celulares (23, 24, 25)

Los factores de crecimiento aplicados en las lesiones o heridas de piel, previamente obtenidos del paciente (autólogas), tienen la capacidad de unirse a proteínas receptoras de la superficie de las células que se distribuyen en la membrana plasmática y se encuentran en el nicho de la herida como son células madre, queratinocitos y fibroblastos. Estos receptores de transmembrana detectan una señal del exterior (factor de crecimiento o molécula de señalización) y transmiten el mensaje, en una forma nueva, a través de la membrana hacia el interior de la célula y modifican el comportamiento de las células. La proteína receptora realiza el primer paso de la transducción de señales: se une el factor de crecimiento, lo que genera como respuesta nuevas señales intracelulares. La vía de señalización intracelular puede: 1) Transmitir la señal, lo que ayuda a propagarla por la célula, 2) Amplificar la señal recibida e intensificarla, 3) Recibir señales de más de una vía de señalización intracelular e integrarlas antes de transmitir una señal, 4) Distribuir la señal a más de una vía de señalización o proteína efectora provocando una respuesta compleja. Los factores de crecimiento regulan el crecimiento, proliferación, diferenciación y supervivencia de las células en los tejidos animales, funcionan como mediadores locales y pueden actuar en concentraciones muy bajas. Las respuestas a ellas suelen ser lentas y requieren muchos pasos de transducción intracelular que, finalmente, inducen cambios de la expresión génica. Los factores de crecimiento se unen a los receptores asociados a enzimas, que están compuestos de dominios citoplasmático que funcionan como una proteincinasa de tirosina, fosforila las cadenas laterales de tirosina de determinadas proteínas intracelulares, estos receptores son denominados receptores tirosincinasa.

Un receptor acoplado a enzimas debe poner en funcionamiento la actividad enzimática de su dominio intracelular. La unión del factor de crecimiento, determina que dos moléculas receptoras se aproximen entre sí en la membrana y formen un dímero. El contacto entre las colas intracelulares de los dos receptores adyacentes activan su función de cinasa y cada receptor fosforila al otro. Después, la fosforilación de las tirosinas desencadena el ensamblaje de un elaborado complejo de señalización intracelular en las colas de los receptores. Las tirosinas recién fosforiladas actúan como sitios de unión para toda una variedad de proteínas de señalización intracelular. Algunas de estas proteínas son fosforiladas y activadas al unirse al receptor y, después propagan la señal, lo que ayuda a construir el complejo de señalización activo. Los complejos proteicos ensamblados en las colas citosólicas de los receptores acoplados a enzimas pueden transmitir la señal a lo largo de varias vías en forma simultánea a muchos destinos dentro de la célula, lo que activa y coordina los numerosos cambios bioquímicos necesarios para desencadenar una respuesta compleja, como la proliferación celular. Para ayudar a terminar con la respuesta, las fosforilaciones de tirosinas son revertidas por tirosinfosfatasa, que eliminan los fosfatos que se habían agregado a las tirosinas de los receptores y otras proteínas de señalización en respuesta a la señal extracelular. Diferentes receptores reclutan distintos factores de crecimiento y provocan distintos efectos. Uno de los integrantes claves de estos complejos de señalización es Ras, una pequeña proteína de unión a GTP unida por medio de una cola lipídica a la cara citoplasmática de la membrana plasmática. Casi todos los receptores asociados a enzimas activan Ras, incluidos los receptores del factor de crecimiento derivado de plaquetas, que median la proliferación celular en la cicatrización de las heridas. Ras, fluctúa entre dos estados conformacionales: es activa cuando está unida al GTP e inactiva cuando está unida al GDP. La interacción con una proteína señalizadora activadora estimula a Ras a que intercambie su GDP por GTP y la activa. En su estado activo, Ras promueve la activación de una cascada de fosforilación en la que una serie de serina/treonina cinasas se fosforilan y se activan entre sí consecutivamente.

Este sistema de transmisión, que transporta la señal de la membrana plasmática al núcleo, incluye un módulo de tres cinasas denominado cascada de señalización de MAP-cinasa. En esta vía MAP-cinasa es fosforilada y activada por una enzima denominada, MAP-cinasa cinasa. Y esta proteína es activada por una MAP-cinasa cinasa cinasa. Al final de la vía, se fosforilan diversas proteínas efectoras, incluyendo ciertos reguladores de la transcripción, lo que modifica su capacidad para controlar la transcripción de genes. Este cambio del patrón de expresión génica puede estimular la proliferación celular, promover la supervivencia de la célula o inducir su diferenciación. El resultado preciso dependerá de qué otros genes estén activos en la célula y de qué otras señales reciba. Las proteínas señalizadoras que pertenecen a la familia del factor de crecimiento similar a la insulina estimulan a las células a sobrevivir, crecer y proliferar, al activar una vía de señalización que, depende de la enzima fosfoinositida 3-cinasa (PI-3cinasa), que fosforila fosfolípidos de inositol de la membrana plasmática. Estos lípidos fosforilados se convierten en sitios de acoplamiento para determinadas proteínas de señalización intracelular, que pasan del citosol a la membrana plasmática, donde pueden activarse entre sí, una de estas proteínas son la serina/treonina cinasa Akt, que también se denomina proteincinasa B o PKB, esta promueve el crecimiento y la supervivencia celular de muchos tipos celulares, a menudo por desactivación de las proteínas de señalización que fosforila. Por ejemplo Akt fosforila y desactiva una proteína citosólica llamada Bad. En su estado activo, Bad estimula la autodestrucción de la célula al activar, indirectamente, un programa de suicidio celular denominado apoptosis. Así, la fosforilación por Akt promueve la supervivencia celular al desactivar una proteína que, de lo contrario, promueve la muerte celular. La vía de señalización de IP-3-cinasa-Akt también estimula el aumento del tamaño de la célula, esto por la activación indirecta de una serina/treonina cinasa grande, denominada Tor. Tor estimula el crecimiento celular por aumento de la síntesis proteica y por inhibición de la degradación proteica (23, 25).

El resultado de la vía de señalización activada por los factores de crecimiento, regularan el comportamiento de las células que se encuentran en el nicho de la herida, contribuyendo a la curación a través de la generación de una respuesta apropiada: vivir o morir, dividirse o diferenciarse, cambiar de forma, activarse, trasladarse o enviar un mensaje químico propio. A través de la intercomunicación entre las vías de señalización, la célula puede unir dos o más fragmentos de información y reaccionar frente a esta combinación. La gran cantidad de redes de señalización permiten que las células combinen y procesen la información provenientes de distintas fuentes, almacenen información y respondan de manera apropiada que beneficie al organismo (24, 25). De manera tal que esto contribuirá a que las células madre presentes en la herida, se activen, proliferen y se diferencien en los diversos tipos de células que conforman al epitelio estratificado de la piel, que junto con las vías Notch, Wingless (Wnt), Factor de Crecimiento Transformante Beta (TGF- β) y Hedgehog, se llevara a cabo la regeneración de la piel.

Los mitógenos y factores de crecimiento, son proteínas de señalización que juegan un papel importante en el mecanismo de regeneración de la piel, ya que estimulan la división celular, al contrarrestar los mecanismos intracelulares de freno que tienden a bloquear la progresión a lo largo del ciclo celular (fosforilación de la proteína Rb) o por activación de distintas vías.

2.6.2 Función de los factores de crecimiento

Factor de Crecimiento Derivado de Plaquetas

El factor de crecimiento derivado de plaquetas, fue el primer factor de crecimiento conocido por tener un efecto quimiotáctico para células que migran a la herida en la curación de la piel, como neutrófilos, monocitos y fibroblastos.

Esta relacionado con el aumento de la proliferación de fibroblastos, producción de matriz extracelular por estas células e inducir el fenotipo de miofibroblastos en los fibroblastos. Es considerado como un factor importante en la cicatrización de las heridas. Tras una lesión, el factor de crecimiento derivado de plaquetas, es liberado en grandes cantidades por la degranulación de las plaquetas y de esta manera esta presente en el fluido de las heridas, particularmente al principio y después de la lesión. Los patrones de expresión del factor de crecimiento derivado de plaquetas y su receptor, sugieren un mecanismo paracrino de acción, ya que los ligandos se expresa predominantemente en la epidermis, mientras que los receptores se encuentran en la dermis y el tejido de granulación. Un nivel de expresión determinado de factor de crecimiento derivado de plaquetas y sus receptores es esencial para la reparación normal.

Factor de Crecimiento de Fibroblastos

La mayoría de los miembros de la familia del factor de crecimiento de fibroblastos tienen una amplia actividad mitogénica (estimulan la división celular, al eliminar los frenos moleculares intracelulares que bloquean la transición de la fase G1 del ciclo celular a la fase S); quimioatrayente de células endoteliales, fibroblastos y queratinocitos; estimula la proliferación de diversas células de origen mesodérmico, ectodérmico y endodérmico. El factor de crecimiento de fibroblastos regulan también la migración y diferenciación de sus células blanco y contribuye con la supervivencia celular bajo condiciones de estrés. Tiene un papel importante en la reparación de heridas, en particular, el factor de crecimiento de fibroblasto 1 y 2 estimulan la angiogénesis en diversos sistemas de ensayo. El factor de crecimiento de fibroblastos 7, estimula la reepitelización de la herida en una manera paracrina.

Factor de Crecimiento Epidérmico

El factor de crecimiento epidérmico, pertenece a la familia de mitógenos, tienen una actividad quimiotáctica para células endoteliales, contribuye a la reepitelización, migración de queratinocitos, proliferación y diferenciación de fibroblastos. Es importante en la progresión del ciclo celular, angiogénesis e inhibición de la apoptosis.

Factor de Crecimiento Endotelial Vascular

Factor de crecimiento endotelial-vascular, se ha identificado como un regulador principal de la vasculogénesis y la angiogénesis durante el desarrollo de la piel. Es un factor importante en estimular la proliferación y migración de las células endoteliales, formación de estructuras tubular-laminal, aumento de la permeabilidad vascular y formación de vasos sanguíneos.

Factor de Crecimiento Similar a Insulina

Factor de crecimiento similar a insulina son potentes estimuladores de la mitogénesis, la supervivencia de muchos tipos de células, y ejercen sus funciones de una manera autocrina, paracrina o endocrina. Está relacionado con el proceso de cicatrización de heridas a través de la re-epitelización y producción de colágeno y matriz extracelular.

Factor de Crecimiento Transformante Beta

Este factor desempeña un papel importante durante el desarrollo, la homeostasis, la enfermedad, y la reparación de las heridas. Se ha demostrado ser mitogénico para los fibroblastos, pero inhibe la proliferación de la mayoría de las otras células, incluyendo los queratinocitos. Son estimuladores muy potentes de la expresión de proteínas de matriz extracelular e integrinas; sirve como quimioatrayente de neutrófilos, macrófagos y fibroblastos; contribuye a la proliferación de fibroblastos, diferenciación a miofibroblastos; y deposición de matriz extracelular y bloquea la respuesta inflamatoria.

Factor de Crecimiento de Keratinocitos

El Factor de Crecimiento de Keratinocitos, contribuye a la proliferación, migración, diferenciación y supervivencia celular, que en conjunto actúan para reforzar la integridad del epitelio (acelerando la re-epitalización).

El efecto beneficioso de los factores de crecimiento exógenos en el tratamiento de la reparación de las heridas, así como la identificación de la actividad in vitro de muchos factores de crecimiento y citosinas, han implicado a estas proteínas como reguladores clave del proceso de cicatrización de heridas, debido a la expresión de múltiples factores de crecimiento y sus receptores en diferentes tipos de células que participan en el proceso de curación de heridas de piel. La expresión anormal de los factores de crecimiento, esta asociado con una curación de herida anormal o cicatrización excesiva, indicando que una correcta expresión temporal y espacial de estos es esencial para la reparación normal (23)

No se ha descrito aún la manera de interactuar de las principales vías de señalización. Será un gran desafío en el futuro estudiar las interacciones de los diferentes factores in vitro y en particular en la piel herida. Los resultados de tales estudios es probable que sean importantes para el desarrollo de nuevas estrategias para el tratamiento de la curación de heridas, ya que facilitará la comprensión de estas (25).

2.7 - Células Mesenquimales

Las células madre mesenquimales, son células autorrenovables (capacidad de reproducirse por sí misma), multipotenciales, adultas y con morfología fibroblastoide. Las células mesenquimales, son capaces de diferenciarse a una variedad de linajes celulares, incluyendo osteoblastos, condrocitos, adipocitos, fibroblastos, mioblastos, cardiomiocitos, hepatocitos, tenocitos, epitelio, células de pulmón, intestino, riñón, bazo e incluso neuronas (26, 27).

Algunos científicos, creen que la generación de células de origen diferente al mesodérmico, es debido a un proceso de reprogramación en la expresión de genes denominado plasticidad celular (capacidad de las células madre adultas de diferenciarse a una célula de otro linaje, sin que éstas tengan que revertir a la célula troncal o progenitora, a esta capacidad se le ha llamado transdiferenciación celular) (26, 27, 28, 29, 30, 31).

Existen tres criterios para definir a las células madre mesenquimales, propuesto por la Sociedad Internacional de Terapia Celular o ISCT, las cuales son: primero, éstas células deben ser adherentes y crecer en plástico en condiciones normales de cultivo; segundo, deben expresar antígenos CD73, CD90, CD105, STRO-1, CD44 y CD166 en ausencia de antígenos hematopoyéticos como CD34 y CD45, marcadores de monocitos, macrófagos y linfocitos B; y tercero, las células deben ser capaces de diferenciarse in vitro bajo los estímulos adecuados a diferentes linajes mesodérmicos, como son: osteoblastos, adipocitos y condrocitos. (30, 31)

Las células madre mesenquimales, no expresan antígenos de clase II ni moléculas co-estimuladoras, lo que las hace ser células potencialmente más tolerables e inductoras de tolerancia inmunológica en modelos de trasplante. (32)

Las células madre mesenquimales, son positivas para diversos receptores de factores de crecimiento y de matriz extracelular, como los receptores de las interleucinas, el receptor del factor de crecimiento derivado de plaquetas (rPDGF), el receptor del factor de crecimiento neuronal (rNGF), los receptores del factor de crecimiento transformante beta I y II (rTGF β I y II), los receptores del factor de necrosis tumoral I y II (TNF I y TNFII), el receptor del interferón gama (IFN γ) y transferrina, así como para las moléculas de adhesión, ICAM-1, ICAM-2, VCAM-1, L-selectina, LFA-3, ALCAM, endoglina (CD105) y CD72 (23).

Las células mesenquimales, producen y secretan una gran variedad de componentes de la matriz extracelular y factores de crecimiento (30, 31).

Las células mesenquimales, no solo se encuentran en la médula ósea, si no también las podemos encontrar en otros tejidos humanos, incluyendo tejido adiposo, ligamiento periodontal, hueso trabecular, membrana sinovial, sangre de cordón umbilical, periostio, músculo, piel y gelatina de Wharton´s (34). De entre todas estas fuentes, las más empleadas en terapia celular son: médula ósea, tejido adiposo y cordón umbilical (35).

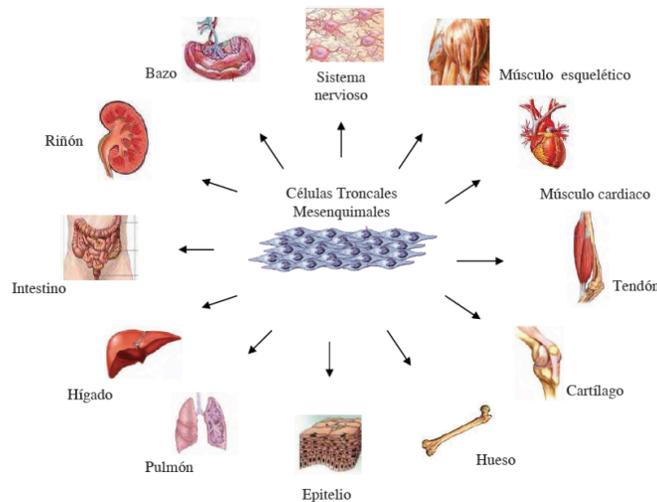


FIGURA 10.- Las células mesenquimales presentan la capacidad de diferenciación hacia células de origen mesodérmico, ectodérmico y endodérmico (plasticidad celular)

2.8 Medicina Regenerativa y Terapia Celular

La medicina regenerativa es un campo emergente que se define como cualquier intervención médica destinada a reparar, reemplazar, o restaurar tejidos y órganos del cuerpo humano. Tiene un enfoque interdisciplinar, y abarca áreas como: ingeniería de tejidos, biología del desarrollo y de las células madre, terapia génica, terapia celular, biomateriales, bioingeniería, etc (36).

La terapia celular, según la ASGCT (American Society of Gene and Cell Therapy) se define como la transfusión o el trasplante de células vivas a un paciente con el propósito de reparar tejido y funciones perdidas. Estas células reciben el nombre de células madre (37).

2.8.1 Terapias para regeneración de la piel

La piel humana, forma parte de una barrera física importante entre el cuerpo y su entorno. Las enfermedades de la piel, pueden tener varios efectos físicos y mentales sobre la calidad de vida de los pacientes, ya que conlleva a una estructura deficiente de la piel con consecuencias médicas y cosméticas muy importantes. Todos los organismos están expuestos a una gran cantidad de fuentes potenciales de daño y para hacer frente a estas amenazas, los organismos multicelulares están equipados con una fuerte barrera impermeable que los protege de cualquier daño físico, de manera que todos los organismos son capaces de responder y reparar el tejido en cierta medida. Con el fin de preservar la integridad del tejido, es importante y esencial que el organismo detecte pérdida de masa tisular y active la producción de células nuevas para organizarlas en tejidos funcionales. La diversidad en la restauración de tejidos, se debe al tipo de especie, tipo de tejido lesionado y a la edad, por lo que investigaciones actuales en la regeneración de la piel, se basan en la utilización de terapia con células madre para hacer frente a estas complicaciones (30).

Las Terapias con células madre, es un tratamiento que usa células madre o células que derivan de células madre, para reemplazar células dañadas de pacientes. Las células madre, podrían ser puestas en la sangre, trasplantadas directamente en el tejido dañado, o reclutadas de los tejidos del propio paciente, para su auto-reparación o disminución del daño, a partir de los diferentes mecanismos de acción de estas células (30, 34).

Las células madre actúan en regeneración tisular a través de dos mecanismos:

1. Diferenciación a célula progenitora y precursora del tejido afectado, que llevará al remplazo de las células muertas. Las células madre adultas, responderán a señales como hipoxia, radicales libres, estrés celular y sustancias pro-inflamatorias para iniciar procesos de división celular.

2. Capacidad para secretar una gran cantidad de factores de crecimiento celular, los cuales estimulan proliferación y diferenciación de las células blanco. Los factores de crecimiento celular, pueden ser sintetizados por las células madre adultas residentes en el tejido y/o por los fibroblastos, o administrados localmente mediante la utilización de:

1. Concentrado de factores de crecimiento plaquetario (el factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF), factor de crecimiento transformante beta (TGF- β), factor de crecimiento vascular (VGF), factor de crecimiento de fibroblastos (FGF) y el factor de crecimiento epidérmico (EGF)). Estos estimulan la angiogénesis, inducen quimiotaxis, proliferación y diferenciación de las células progenitoras y participan en la síntesis de colágeno.

2. Administración subcutánea de grasa rica en células madre adultas derivadas de tejido adiposo, las cuales tienen el potencial de secretar factores de crecimiento en estados de hipoxia, sangrado etc.

En el caso de una lesión tisular grave, la capacidad de regeneración local de las células madre no es suficiente para completar la regeneración del tejido (35). Las opciones de tratamiento disponibles actualmente para la reparación anatómica, fisiológica y en su caso estética de patologías asociadas a la piel carecen de satisfacción tanto estética como funcional. Estos incluyen: injertos de piel, las cuales son obtenidas de una zona no dañada del cuerpo del propio paciente (autoinjerto). Este método es de elección siempre que el daño no sea demasiado extenso y el paciente disponga de suficiente piel sana.

La piel se toma del mismo sitio donante varias veces y se permite que se regenera entre tomas, este procedimiento es lento y da como resultado una piel con un defecto cosmético muy deficiente en el sitio de implantación.

Howard Green y colaboradores desarrollaron métodos para el cultivo en serie y la expansión de queratinocitos epidérmicos, basados en el uso de un cocktail de factores de crecimientos específicos y la presencia de fibroblastos de ratón letalmente irradiados como feeder layer, reportando que los queratinocitos en estos cultivos tienen capacidades proliferativas características de las Células Madre Epidérmicas. Con ello se constituyó un importante avance técnico que convirtió en realidad el injerto de láminas epidérmicas obtenidas mediante el cultivo de queratinocitos primarios, sin embargo esta estrategia mostró varios problemas tales como, fragilidad del producto, limitada eficacia de los injertos y la ultraestructura anormal de la unión demo-epidérmica. Esto probablemente, a que los cultivos generaban una monocapa de queratinocitos, estructura que dista mucho de la complejidad de la piel interfolicular (1).

El siguiente paso consistió en generar cultivos in vitro que tuvieran los dos compartimentos característicos de la piel, la epidermis y la dermis, y se denominaban equivalentes o sustitutos cutáneos. Jorcano Noval y colaboradores lograron sintetizar un sustituto cutáneo ideal basándose en el proceso de cicatrización de heridas, constanding de: 1) un componente celular formado por queratinocitos y fibroblastos, bien de origen autólogo (del propio paciente) o alogénico (de un donante) y, 2) compartimento dérmico formado por una matriz rica en fibrina, obtenido a partir del plasma del propio paciente o de donante. De esta manera la matriz generada a base de plasma, tiene la particularidad de recrear el proceso fisiológico de reparación de heridas, en donde el coagulo de fibrina rico en citosinas dispara la respuesta reparadora que se traduce a nivel del epitelio, en proliferación y migración de los queratinocitos hasta cubrir el lecho temporal y llevar a cabo la regeneración cutánea en clínica.

Sin embargo a pesar de los resultados alentadores obtenidos, la tasa de infecciones y la deficiente vascularización son uno de los obstáculos que se tienen que seguir estudiando (1,2) Figura 11.

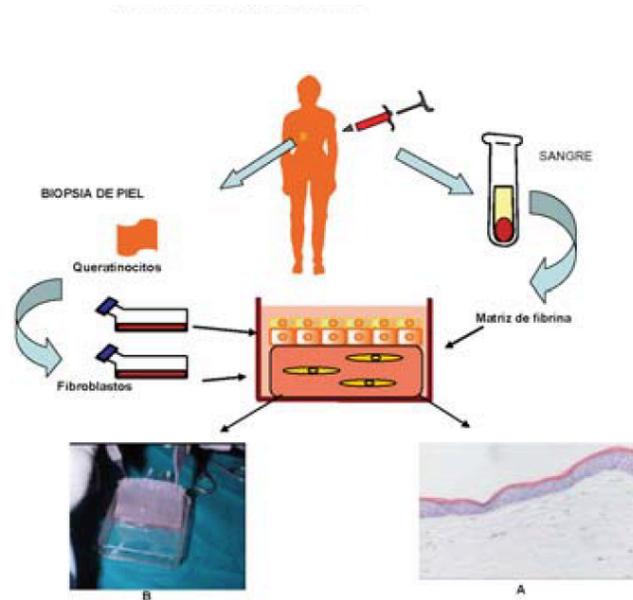


FIGURA 11.- Esquema de la generación de sustitutos o equivalentes cutáneos humanos a partir de una pequeña biopsia de piel de un paciente o donante. Este método permite producir, en tiempos relativamente cortos, grandes superficies de piel para su aplicación clínica. El recuadro A contiene una histología de un equivalente en su estadio final de diferenciación, mostrando su gran semejanza con la piel humana. El recuadro B contiene un equivalente montado sobre una gasa, en el momento de ser extraído del cultivo para ser trasplantado y muestra la buena resistencia mecánica de estos equivalentes, lo que facilita su uso.

En 1998 James Thomson desarrollo la primera línea de células madre embrionarias, a partir de la masa celular interna de un embrión en estadio de blastocisto. En condiciones apropiadas se puede lograr la proliferación indefinida de estas células en cultivo, con la conservación del potencial de desarrollo ilimitado y dar lugar a diferentes tipos celulares. Sí las células contenidas en una placa de cultivo se vuelven a colocar en un embrión temprano, pueden dar origen a todos los tejidos y todos los tipos de células del organismo.

Por lo tanto, las células madre embrionarias constituyen fuentes potencialmente ilimitadas de células diferenciadas para utilizarse como terapia. Sin embargo, el uso de blastocistos humanos, generalmente procedentes de remanentes de fertilizaciones *in vitro*, despertó una gran controversia ética en la sociedad, por lo que su uso es ilimitado (1, 10). Figura 12

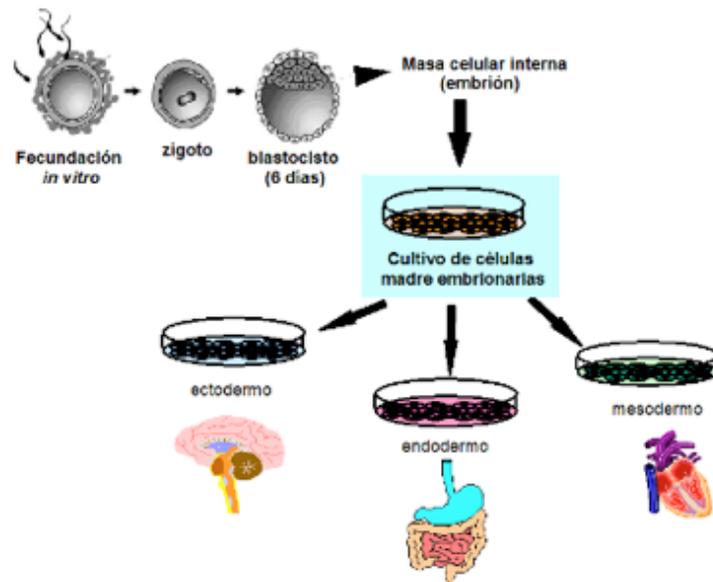


FIGURA 12.- Las células madre embrionarias provenientes de un embrión pueden originar todos los tejidos y los tipos de células del cuerpo.

La clonación de células, implica tomar una sola célula madre epidérmica de la piel, dejarla crecer y dividirse en cultivo para obtener un gran clon de células epidérmicas genéticamente idénticas y después usarlas. Es un tipo de clonación que produce una extensión en los procesos de proliferación y reparación celular, usando métodos artificiales (1,4)

La clonación reproductiva, implica el trasplante nuclear utilizando oocitos a los cuales se les elimina por aspiración el núcleo y en su lugar se les introduce un núcleo de una célula diploide común (proveniente de un tejido adulto).

Se permite el desarrollo de la célula híbrida compuesta de un núcleo diploide de un donante alojado en el citoplasma de un oocito hospedador, durante un periodo breve en cultivo. En un pequeño porcentaje de casos este cultivo puede originar un embrión temprano, que luego se inserta en el útero de una madre sustituta y dará origen a un animal completo. En la clonación terapéutica, las células del embrión se mantienen en cultivo con el objetivo de producir varios tipos celulares que puedan emplearse para la reparación tisular. Estas técnicas son complejas, sin embargo podrían injertarse en el adulto del que se obtuvo el tejido donante sin temor al rechazo inmunitario, pero el trasplante nuclear es muy difícil desde el punto de vista técnico y todavía no ha sido exitoso en oocitos humanos, además el trasplante nuclear está prohibido en algunos países. (1,2,4) Figura 13.

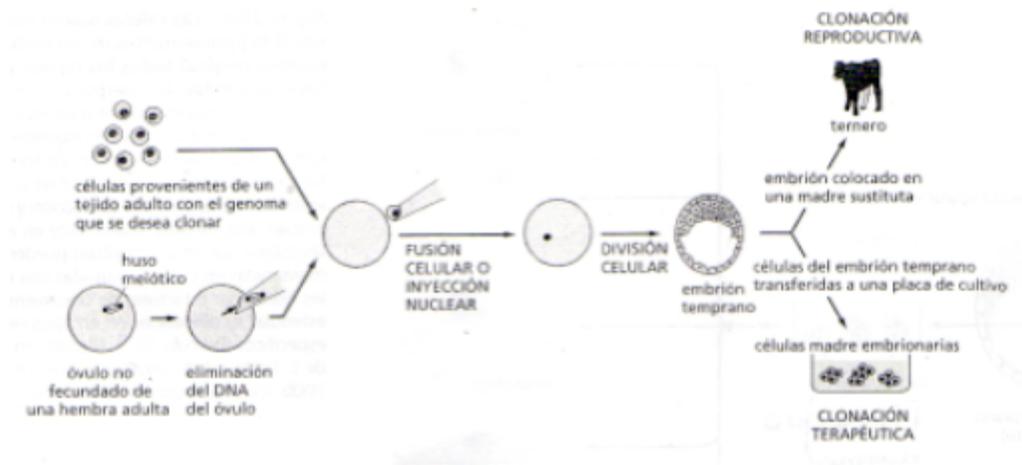


FIGURA 13.- Las células del tejido adulto pueden usarse para “clonación”

Debido a todos los problemas éticos ocasionados por el uso de células madre embrionarias o el trasplante nuclear, técnicas alternativas han llevado a los científicos a trabajar con las células de tejidos adultos, las cuales se hacen crecer en cultivo y se reprograman en un estado similar al de las células madre embrionarias mediante la introducción artificial de un conjunto específico de genes que utiliza como vectores, virus manipulados en forma genética.

En el 2006 el equipo de Shinya Yamanaka encontraron que la expresión de un conjunto de sólo tres genes (denominados Oct3/4, Sox2 y Klf4) es suficiente para convertir fibroblastos en células que poseen prácticamente todas las propiedades de las células madre embrionarias, incluso la capacidad de diferenciarse de maneras diversas y de contribuir a cualquier tejido. Estas células similares a las células madre embrionarias se denominan células madre pluripotentes inducidas (Células IPS). Sin embargo, la tasa de conversión es baja, sólo una pequeña proporción de fibroblastos hacen el cambio, y hay graves temores acerca de la seguridad de implantar derivados de estas células infectadas por virus en pacientes. Deben de realizarse muchas investigaciones antes de que este enfoque pueda utilizarse para tratar enfermedades humanas. Figura 14

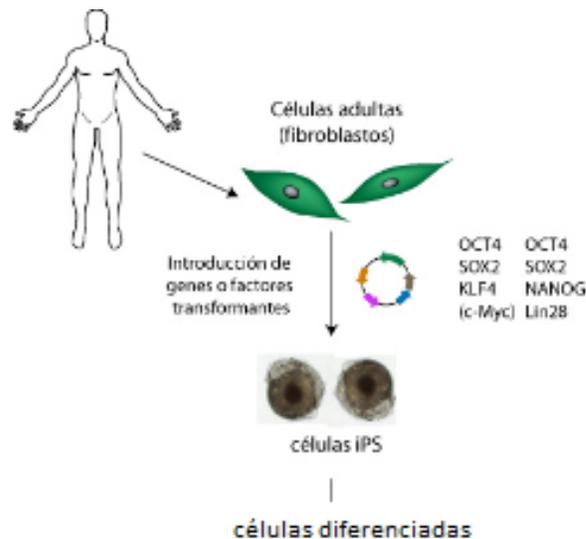


FIGURA 14.-Las células madre pluripotenciales inducidas (IPS) pueden generarse por transformación directa de células provenientes de tejidos adultos.

El uso de células Mesenquimales en el tratamiento de regeneración de piel, hoy en día es un tema de gran discusión, que ha permitido llevar a cabo una gran cantidad de investigaciones, en donde los resultados obtenidos muestran gran esperanza en la utilización de estas células en diversas patologías, así como en la medicina regenerativa.

El concepto de Medicina regenerativa, usando células madre y factores de crecimiento de nuestro propio cuerpo, es una alternativa terapéutica para la reparación de tejidos dañados, que se está convirtiendo en un importante candidato para la terapia celular (35). En los últimos años, se ha llevado a cabo una intensa investigación en este campo, en donde la mayor parte de estos estudios ha sido hecha en ratones de laboratorio. Por razones éticas, los estudios en humanos han progresado menos (39). Diversas técnicas de obtención, fuentes, volumen de sangre o tejido adiposo necesario para obtener un número adecuado de células madre, dosis, métodos y sitios de aplicación de células mesenquimales, se han utilizado para poder determinar cual es el mejor esquema de tratamiento y obtener el beneficio deseado, para ser aplicados en terapia celular (1, 31). Las células mesenquimales junto con los factores de crecimiento que esta secreta pueden estimular la síntesis de colágeno y migración de fibroblastos durante el proceso de cicatrización de una herida, (39) estudios en Seoul, Corea del Sur hacen uso de las células mesenquimales, en el tratamiento de la regeneración de la piel de ratón, mostrando que el tejido adiposo, es una buena fuente de obtención de células mesenquimales. La citometría de flujo (técnica de selección clonal mediante detección de poblaciones celulares en función de los marcadores de superficie) mostro que la mayoría de las células que se encontraban en la muestra, presentaban marcadores CD44, CD90 y CD73 positivos. La cuantificación de los diversos factores que secretan estas células (citosinas y proteínas de matriz extracelular) se muestran en la tabla 1, los cuales son importante en el mecanismo de regeneración de la piel (31, 39). Los resultados obtenidos mediante el análisis histológico mostraron un pequeño aumento en el espesor dérmico, así como un incremento de la expresión de colágeno utilizando Western Blot. Figura 15



FIGURA 15.-. Incremento en la expresión de Colágeno utilizando las células mesenquimales, en comparación al control (piel sana).

Tabla 1: Se muestra los Factores que secretan las Células mesenquimales y la concentración de estos, que son importantes en el proceso de regeneración de la piel.

Tabla 1. Concentración de Citosinas y Proteínas de Matriz extracelular

Proteínas	Concentración
PDGF	44.41 +/- 2.56 pg/mL
bFGF	131.35 +/- 30.31 pg/mL
KGF	86.28 +/- 20.33 pg/mL
TGF β	103.33 +/- 1.70 pg/mL
HGF	670.94 +/- 86.92 pg/mL
VEGF	809.53 +/- 95.98 pg/mL
Colágeno tipo 1	921.47 +/- 49.65 pg/mL
Fibronectina	1466.48 +/- 460.21 pg/mL

El desarrollo de bioestructuras inteligentes a través del uso de biomateriales de origen natural o sintético apropiadamente modificadas, así como la incorporación de elementos de señalización celular tales como factores de crecimiento y/o células madre, promueven activamente la regeneración de tejidos, ya que esto favorece la adhesión, proliferación y diferenciación celular al imitar la matriz extracelular natural.

Las células sintetizan proteínas necesarias para el desarrollo de la matriz extracelular, mientras que la matriz extracelular proporciona un ambiente adecuado para la proliferación de las células. Finalmente, la función de los factores de crecimiento es facilitar y promover la regeneración del nuevo tejido. Shokrgozar Ali Mohammad, et al hicieron uso de una bioestructura formada de colágeno-quitosano (40, 41, 42), donde cultivaron células mesenquimales sobre ella y se implantaron en heridas de piel de ratas. Los resultados obtenidos, indicaron grandes diferencias en la cantidad de curación, entre la muestra control y las ratas que utilizaron células mesenquimales cultivadas sobre una bioestructura. Mediante el uso de técnicas histológicas, se realizó una comparación de pieles normales, quemadas, implantadas, y curadas (Fig 16). En la piel normal (Fig 16 a y b), la capa epidérmica se observa como una capa compacta y oscura con células muertas en su superficie, la capa dérmica que se encuentra debajo de la capa epidérmica, consiste en células, vasos sanguíneos y fibras de colágeno. En la piel quemada (Fig 16 c y d), no hay ninguna señal de capa epidérmica. Una capa gruesa, compacta de células, se puede observar como una epidermis recién formada en la piel implantada (Fig 16 e y f). En piel cicatrizada (Fig 16 g y h), las capas epidérmica y dérmica, parecen estar en una condición normal. Natesan et al. utilizaron tejido adiposo obtenido de las pieles desbribadas, como fuente de obtención de células mesenquimales y estas eran sembradas en matrices biodegradables (mezcla de proteínas de matriz extracelular, que se utiliza como sustrato para el cultivo celular) para el tratamiento de lesiones de piel. Los resultados obtenidos, mostraron que los animales que recibieron terapia con células mesenquimales, favoreció la cicatrización de las heridas, recuperación de la epidermis con una apariencia de múltiples capas similar a la piel sana, una fuerte actividad hiperproliferativa de los queratinocitos y la liberación de factores de crecimiento contribuyo a un aumento en la vascularización (40, 41, 42, 43, 44).

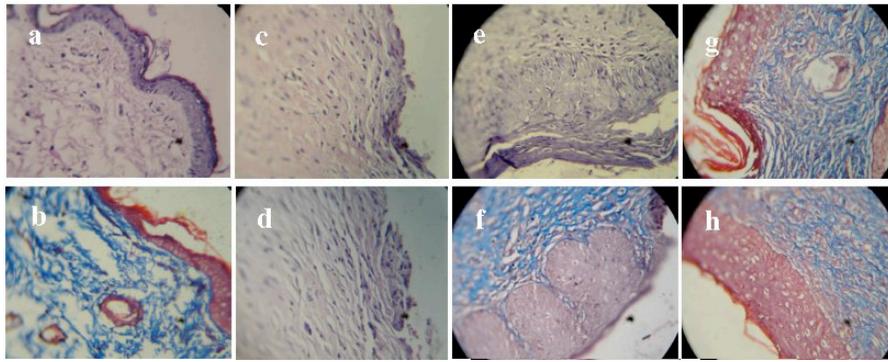


FIGURA 16.- Resultados histológicos obtenidos. (a y b) piel normal, (c y d) piel quemada, (e y f) piel implantada y (g y h) piel curada.

Zografou et al. reportaron que el trasplante autólogo de células madre derivadas de tejido adiposo, aumentan el espesor de la piel, diferenciación in situ en células endoteliales, incremento del factor de crecimiento vascular-endotelial, incremento del factor de crecimiento transformante β , proliferación de fibroblastos dermales por contacto directo célula a célula o por activación paracrina a través de factores de secreción. Maharlooei et al. reportaron que las células madre derivadas de tejido adiposo, incrementan la tasa de cicatrización de las heridas, debido a la acumulación de colágeno. Kim et al. informaron que los mecanismos potenciales de las células madre derivadas de tejido adiposo, promueven la cicatrización de las heridas de la piel, a través de la producción de factores angiogénicos, que contribuyen al mecanismo de angiogénesis y promueven la diferenciación de fibroblastos dermales. Nakagami et al. demostraron que se puede promover la proliferación de vasos sanguíneos, mediante la regulación de la expresión y secreción de citocinas angiogénicas por acción autocrina o paracrina, mejorando la angiogénesis y el flujo sanguíneo periférico, al inyectar estas células directo en la lesión isquémica (45, 46, 47, 48).

2.8.2.- Consideraciones en la utilización de células madre

Las células madre, representan una gran esperanza para la medicina regenerativa. En la vida adulta, las células madre están depositadas en nichos orgánicos, que se necesitan para la regeneración de órganos y tejidos.

La constante regeneración de la piel, es llevada a cabo por la diferenciación de las células madres que se encuentran dentro de las diferentes capas de la piel.

El gran interés del uso de células madre, esta relacionado por su capacidad de auto-renovación y diferenciación a otras células que construyen diferentes tejidos y órganos. En el futuro, las células madre podrán ser usadas en el tratamiento y regeneración de órganos y tejidos, en lugar del trasplante de órganos sólidos, lo que podrá ser un enorme paso en la medicina regenerativa (31, 34).

La Sociedad Internacional para la Investigación con Células Madre, es conciente que terapias con células madre están siendo usadas y vendidas en todo el mundo, antes de que hayan sido probadas como seguras y efectivas. Las terapias con células madre, son prácticamente todas nuevas, experimentales y aun faltan muchas cosas que aprender de ellas. En estas primeras fases, pueden que no funcionen, y podrían incluso mostrar efectos negativos. Por lo tanto, debemos estar seguros de que entendemos lo que estamos buscando, antes de considerar la aplicación terapéutica con células madre. Debemos de recordar, que la mayoría de descubrimientos médicos se basan en años de investigación, involucrando un largo proceso que comienza con un trabajo de laboratorio y luego con una investigación clínica, para demostrar que el proceso es seguro y funciona. Las terapias son células madre, deberan ser evaluadas como seguras, efectivas y estar regulado bajo el control de GMP (para alcanzar los estándares de calidad) antes de su aprobación por las agencias reguladoras nacionales y poder ser usadas en el tratamiento de pacientes.

Aún se está determinando que células son las más idóneas para funcionar en su capacidad de reparar un daño tisular particular y cual es la fuente más adecuada para conseguir estas células, así como determinar los efectos secundarios y seguridad a largo plazo del uso de estas células, por lo que será extremadamente importante una cuidadosa monitorización y un seguimiento clínico de los pacientes que vayan a recibir terapias con células madre (34).

El proceso de investigación, comienza determinando la biología y funcionamiento de los tejidos y células en un determinado proceso patológico o daño tisular. Esta información podrá ser usada para diseñar, desarrollar métodos de diagnóstico y para o reparar aquellos procesos que son erróneos o tienen una actividad defectiva.

Para determinar si una nueva intervención terapéutica puede funcionar para una determinada enfermedad o daño, los estudios se realizan primero *in vitro* (en una placa de cultivo), y cuando es posible en animales de experimentación con una enfermedad o daño similar al que estamos estudiando. Esto se denomina estudio pre-clínico.

Tras demostrar que los tratamientos pueden funcionar y ser seguros, es necesario solicitar los permisos adecuados para poder llevar a cabo el estudio clínico en humanos, empezando con un número limitado de pacientes, con esto se permitirá un mejor conocimiento de los mecanismos de seguridad biológica, de los posibles efectos secundarios y los métodos para conseguir que el tratamiento llegue a la parte adecuada del cuerpo. En este momento, el número de pacientes se incrementa gradualmente y la nueva intervención terapéutica se compara directamente con los tratamientos existentes (31).

Cuando la seguridad y efectividad del tratamiento haya sido demostrada a través del ensayo clínico, la agencia regulatoria o nacional podrá aprobar el uso de este tratamiento para las condiciones y enfermedades que se han estudiado.

Por lo tanto, lo primero que se debe de considerar antes de someterse o utilizar un tratamiento con células madre, es estar seguro de que existe buena evidencia científica de que el tratamiento es seguro y efectivo. (31).

Hoy en día, la industria cosmética y farmacéutica, han invertido una gran cantidad de dinero en investigaciones, para conocer conceptos básicos sobre las células madre y sus derivados; su capacidad regenerativa y como los factores que esta secreta, son importantes en procesos de auto-renovación celular y poder ser utilizadas en cosmética.

Las características que deben tener las células madre para su uso son:

1. Autóloga: Son células obtenidas de la misma persona.
2. Indiferenciada: A mayor grado de inmadurez, mayor oportunidad de regeneración a largo plazo, por una mayor capacidad de división.
3. Fácil acceso a la fuente de Célula madre: Un concepto básico, es que a menor número de procedimientos invasivos y mayor accesibilidad a la fuente de célula madre, más factibilidad de éxito en el tratamiento. Actualmente las fuentes que son descartadas como desechos biológicos, son muy prometedoras para la regeneración. De esta manera la sangre de cordón umbilical y el material de liposucción post-cirugía son considerados desechos biológicos que cumplirían esta característica.
4. Abundancia: La fuente de obtención de la Células madre, debe garantizar un número suficiente de Células para realizar la terapia celular.

3. Análisis

Debido a que las heridas de la piel, se consideran entre las de mayor incidencia y que los tratamientos actuales no siempre dan resultados satisfactorios en lo funcional y sobre todo en lo cosmético, la comprensión gradual de la naturaleza de la comunicación celular (vías de comunicación celular), ha estimulado a los científicos a investigar los factores de crecimiento y células madre en la administración de heridas de piel, con el intento de acelerar la curación y mejorar la apariencia de la piel. La piel, como se ha mencionado, cumple la función de proteger a nuestros órganos y tejidos internos de agresiones externas, potencialmente peligrosas para la vida. La pérdida de gran parte de esta barrera, ya sea relacionada a una enfermedad, puede hacer al individuo susceptible a la discapacidad o muerte.

Las células madre, han sido fundamentales en el campo de la Medicina Regenerativa y Terapia Celular, debido a su capacidad para inducir su diferenciación en cualquier tipo de célula, autorrenovación, relativa facilidad de acceso (células madre obtenidas de tejido adiposo y médula ósea) y liberar factores de crecimiento. A través de diferentes investigaciones, se ha demostrado que las células mesenquimales tienen la capacidad de diferenciarse hacia células de las distintas capas embrionarias (ectodermo, mesodermo y endodermo) a través de la reprogramación en la expresión de genes denominado plasticidad celular (capacidad de las células madre adultas de diferenciarse a una célula de otro linaje, sin que éstas tengan que revertir a la célula troncal o progenitora, a esta capacidad se le ha llamado transdiferenciación celular). Se ha demostrado en modelos animales, que las células mesenquimales tienen la capacidad de regenerar la piel después de su aplicación, por lo que constituyen una herramienta promisoría para su uso terapia celular.

Los mecanismos por los cuales las células mesenquimales obtenidas de tejido adiposo contribuyeron a la regeneración de la piel, son: diferenciación a célula progenitora o precursora del tejido afectado para el remplazo de células muertas o dañadas; capacidad de secretar una gran cantidad de factores de crecimiento que estimulan la proliferación y diferenciación de la célula blanco. Los mecanismos antes mencionados contribuyeron a, una mayor cantidad de colágeno nuevo, incremento de la densidad de vasos sanguíneos, aumento del espesor de la piel, completa cicatrización debido a la acumulación de colágeno, incremento del factor de crecimiento vascular-endotelial, incremento del factor de crecimiento transformante β , proliferación de fibroblastos dermales por contacto directo célula a célula y activación paracrina a través de factores de crecimiento, producción de factores angiogénicos que contribuyen al mecanismo de angiogénesis y promoción de la diferenciación de fibroblastos dermales. Las células mesenquimales derivadas de tejido adiposo están ganando una mayor atención, debido a su facilidad de obtención por métodos menos invasivos como liposucción o aspirados de grasa, aislamiento y viabilidad celular mayor, abundancia relativa, fácil de cultivar, potencial de diferenciación y conservación de sus características después de varios pasajes de expansión celular.

Los factores de crecimiento, por su parte son proteínas reguladoras que ejercen una función mediadora en las vías de señalización entre las células y al interior de las mismas. Estas proteínas naturales, son capaces de alterar el crecimiento, la proliferación y la diferenciación celular bajo condiciones controladas y cumplen la importante tarea de mantener la estructura y función de una piel sana. Todos los tipos de células que constituyen los componentes estructurales de la epidermis y de la dermis, entre los que se encuentran los fibroblastos, queratinocitos y melanocitos, producen factores de crecimiento. Los factores de crecimiento, actúan como moléculas mensajeras, desempeñan una función crítica en la modulación de la inflamación que sigue a una lesión en la piel y, en coordinación con otras proteínas, estimulan las vías bioquímicas que producen la reparación y regeneración del tejido cutáneo.

Se consideran mitógenos que estimulan la división celular, al contrarrestar los mecanismos intracelulares de freno que tienden a bloquear la progresión a lo largo del ciclo celular, promueven el reclutamiento de nuevas células y la producción de la matriz extracelular, así como el reacomodo de todos los componentes necesarios para llevar a término el proceso de reparación.

La comprensión gradual de los procesos biológicos implicados en la cicatrización, vías de señalización (Wnt, Notch, Hedgehog, TGF- β), comprensión de la comunicación bioquímica intracelular, determinar el comportamiento de las células y la interacción de estas células con su nicho celular, permitira elucidar los mecanismos moleculares en la regeneración de la piel y de esta manera desarrollar tratamientos que promuevan la regeneración. La baja vascularización, es un factor crítico que limita la regeneración de la piel, debido a un suministro insuficiente de nutrientes, oxígeno y acumulación de productos de desecho. Los estudios actuales, se basan en la regeneración en lugar del remplazo. Integrando conocimientos de ingeniería de tejidos, se podrá promover activamente la regeneración, mediante la incorporación de elementos de señalización celular, tales como factores de crecimiento y células madre para crear un microambiente favorable. La terapia combinada usando factores de crecimiento y células madre incorporadas a bioestructuras naturales o sintéticas, son las que han ganado mayor atención en este campo, ya que la bioestructura promueve la adhesión celular, diferenciación y proliferación al imitar la matrix extracelular que contribuye a dirigir la formación de tejidos. La entrega de los factores de crecimiento modulan los eventos de señalización celular, permitiendo una regeneración ordenada. Las células mesenquimales con las características antes mencionadas contribuirán también a este proceso. El uso de estos biomateriales, son importantes porque las células aisladas muchas veces son incapaces de reestablecer estructuras, debido a la falta de orientación extracelular (interacción célula- nicho celular).

Los resultados confiables y consistentes en modelos animales, deben ser confirmados para garantizar la seguridad del uso de estas células. Son necesarios ensayos a gran escala en humanos, para confirmar la seguridad y eficacia, así como aclarar el verdadero riesgo/beneficio de la terapia con células madre.

Se debe ser consciente que las terapias con células madre en la regeneración de la piel, están siendo usadas y vendidas en todo el mundo antes de que hayan sido probadas como seguras y efectivas. Las terapias con células madre, son prácticamente todas nuevas, experimentales y aun faltan muchas cosas que aprender de ellas. Debemos de recordar que la mayoría de descubrimientos médicos se basan en años de investigación, involucrando un largo proceso que comienza con un trabajo de laboratorio y luego con una investigación clínica para demostrar que el proceso es seguro y funciona. Las terapias con células madre, deben ser evaluadas como seguras, efectivas y seguir con las buenas prácticas, para alcanzar ciertos estándares de calidad antes de su aprobación. El determinar que células son las más idóneas para funcionar en su capacidad de reparar un daño tisular particular y cual es la fuente más adecuada para conseguir estas células, así como determinar los efectos secundarios y seguridad a largo plazo del uso de estas células, son importante para determinar si una nueva intervención terapéutica puede funcionar para una determinada enfermedad o daño y poder ser trasplantadas con seguridad y eficacia. Por lo tanto, lo primero que se debe de considerar antes de someterse o utilizar un tratamiento con células madre, es estar seguro de que existe buena evidencia científica de que el tratamiento es seguro y efectivo.

El concepto de Medicina regenerativa, usando células madre y factores de crecimiento de nuestro propio cuerpo, es una alternativa terapéutica para la reparación de tejidos dañados que se está convirtiendo en un importante candidato para la terapia celular. La medicina regenerativa tiene como objeto recuperar tejidos perdidos, guiando el crecimiento celular y restauración de la arquitectura del tejido original.

4.- Conclusión

Los tratamientos basados en el uso de células madre y factores de crecimiento constituyen una novedosa y prometedora alternativa terapéutica para algunas enfermedades. Los tratamientos que se están desarrollando para nuevos fines terapéuticos, deberán ser evaluados como seguros y demostrar evidencia clínica antes de su utilización en seres humanos. La cantidad de células que se requiere en terapia celular son muy variables y depende del proceso terapéutico en particular. El determinar las dosis óptimas de utilización, la ruta de administración, el uso de la combinación de factores de crecimiento, el uso de células madres con factores de crecimiento, es importante para alcanzar el efecto terapéutico deseado.

Las células madres son capaces de promover la regeneración y la reparación de los tejidos dañados, por ello, tienen un inmenso potencial en medicina regenerativa y terapia celular. Las principales características que deberán mostrar las células madre para su utilización en este tipo de terapias son: autóloga, indiferenciada, fácil acceso a la fuente de célula madre y abundancia.

Se sabe que la utilización de factores de crecimiento y células madre juegan un papel importante en la regeneración de la piel, sin embargo aún falta mucho por saber acerca de las vías de comunicación celular claves, que están relacionadas con la regeneración de tejidos, por lo que lograr la comprensión de estas vías permitirá generar nuevas terapias y evitar complicaciones.

5.- Referencias

- 1,- Jorcano Noval José Luis (2008), “Aplicaciones biotecnológicas: Aplicaciones preclínicas y clínicas de piel generadas a partir de células madre epidérmicas”, *Cell Stem Cell*, 223-53.
- 2,-H. Lloyd David y P. Patel Anita (2008), “Estructura y funciones de la piel”, *Manual de dermatología en pequeños animales y exóticos*. 1-12.
- 3,- *Biología Molecular de la Célula*, quinta edición (Garland Science 2008 y Ediciones Omega 2010)
- 4,-Blanpain Cédric (2010), “Skin Regeneration and repair”, *E. Nature Rev. Mol Cell Biol*. Vol 464. No 10, pp 686-687.
- 5, -Zobiri Olivia, Deshayes Nathalie y Rathman Michelle (2012) “Evolution of the clonogenic potencial of human epidermal stem/progenitor cell with age”, *Stem Cell and Cloning*. 1-4
- 6.- Puerta Velásquez Diego A., -molina Pineda Catalina, Cardona Cano María E., Gómez Suarez Nicholas E., Grete J. Gartz Moises, Úsua Gómez Isabel C., Tróchez Wilchez Diana F. y Londoño Peláez Carolina (2008). “Soluciones terapéuticas para la reconstrucción de la dermis y la epidermis. Oportunidades en el medio antioqueño”, *Revista de Ingeniería Biomédica*, ISSSN 1009-9762, vol 2, número 3 págs. 77-83.
7. - Fuchs Elaine (2008), “Skin stem cell: rising to the surface”, *The journal of Cell Biology*”, vol.180, No 2, pp 273-281.
- 8.- Cedano Tirado Jorge y Martínez Raygada Sandra (2009), “Cuidados de la piel del anciano”, vol 18, No 2, pp 106-110.

9. - Pérez Millán María Inés y Lorenti Alicia (2006), “Células Troncales (Stem Cells) y regeneración Cardíaca”, Artículo especial medicina, ISSN 0025-7680, Volumen 66, No 6, pp 584-580.

10.- Jaime Pérez José Carlos, Garza Veloz Idalia y Ortiz López Rocío (2007), “Células madre”, medigraphic Artemeni Isina, Medicina Universitaria; Vol. 9, No. (36), pp 130-140.

11.- Rendón Jiménez, Jaime y Urrego Paola (2011), “Células madre en odontología”, Revista CES Odontología Vol. 24 - No. 1, pp 51-56.

12.- Wong Victor W., Levi Benjamin, Rajadas Jayakumar,⁴ Longaker Michael T., and Gurtner Geoffrey C (2012), “Stem Cell Niches for Skin Regeneration”, International Journal of Biomaterials Volume, Article ID 926059, 8 pages doi:10.1155/2012/926059.

13.- Staniszewska Marzena, Sluczanska-Glabowska Sylwia, Drukala Justyna (2011), “Stem cells and skin regeneration” Folia Histochemica ET Cytobiologica, Vol. 49, No. 3, 2011 pp. 375–380.

14.- Clayton Elizabeth, Doupe P. David, M. Klein Allon, Winton J. Douglas, Simons D. Benjamin y Jones h. Philip (2007), “A single type of progenitor cell maintains normal epidermis”, Nature Publishing Group, vol 446, No8, pp 185-188.

15.- A. Bielefeld Kirsten, Amini-Nik Saeid y Benjamin A. Alman Benjamin, (2012) “Cutaneous wound healing: recruiting developmental pathways for regeneration” Cell. Mol. Life Sci., pp 1-23.

16.- Acevedo Toro Paola Andrea y Cortés Márquez Mónica María (2008), “Células madre: generalidades, eventos biológicos y moleculares”, IATREIA VOL 21, No. 3,

pp 292-302.

17.- Mera Reina Claudia, Roa Lara Angélica y Ramírez Clavijo Sandra (2007), "Células Madre Hematopoyéticas, generalidades y vías implicadas en sus mecanismos de autorenovación", Rev. Ciencia Salud, Vol. 5, No 1, pp 67-89.

18.- Bobis S, Jarocha D, Mejaka M. (2006), "Mesenchymal Stem Cells: characteristics and clinical applications", Folia Histochem Cytobiol, Vol. 44, No 4, pp 215-218.

19.-Rida P. C., Le Minh, N. y Jiang, Y. J. (2006), "A Notch Keeling of somite segmentation and beyond", Devel. Biol, vol 265, No 1, pp2-12.

20.- Bravo Patiño Alejandro y Baizabal Aguirre Víctor M (2006), "La vía de señalización Notch y el desarrollo embrionario ", REB, vol. 24, No 3, pp 87-96.

21.- Valdespino Gómez Víctor Manuel, Valdespino Castillo Víctor Edmundo y Márquez Holmberg Marcela (2007), "Alteraciones en los señalamientos Intracelulares en el cáncer", Cir Ciruj, vol 77, No 1, pp 329-339.

22.- Schwartz Adriana, Martínez Sánchez Gregorio y Re Lamberto (2011), "Factores de crecimiento derivados de plaquetas y sus aplicaciones en medicina regenerativa. Potencialidades del uso del ozono como activador", Revista Española de Ozonoterapia vol. 1, nº 1. Pp .54-73, 2011

23.- Guerrero Del Ángel Fermín, Brambila Camacho Anaid, Téllez Jiménez Lozano, Alcocer Grego Patricia (2011), "Uso de plasma rico en factores de crecimiento (PRFC) en combinación con biomateriales como coadyuvantes en la regeneración periodontal en defectos intraóseos", Revista Mexicana de Periodontología , vol.2, No 2, pp 57-64

24.- Mazzucco L, Balbo V, Cattana E, Borzini P (2008), "Platelet-rich plasma and platelet gel preparation using PlateltexR. Vox Sang", Vol 3, no2, pp 202-203.

25.- Franco Vera Luis (2011), "¿POR QUÉ PROLIFERAN LAS CÉLULAS? ", Rev.R.Acad.Cienc.Exact.Fís.Nat, Vol. 101, N°. 1, pp 111-126.

26.-Baks D, Song L, Tuan R. (2006), "Adult Mesenchymal Stem Cells: characterization, differentiation and application in cell and gene therapy", J. Cell Mol Med, Vol 4, pp 301- 306.

27.- Thowfeequ S., Myatt E.J., Tosh D. (2007), "Transdifferentiation in developmental biology, disease and in therapy", Dev Dyn, Vol. 236, pp 3208-3217.

28.- Tsai R. Y., Kittappa R., McKay R. D. (2002), "Plasticity, niches and the use of stem cells", Dev. Cell., Vol 2, No 6, pp 707-712.

29.- Sato N, Araki H, Kato J, Nakamura K, Kawano Y, Kobune M, Sato T, Takayama T, Takashashi M y Takimoto R. (2006), " Human Mesenchymal Stem Cell Xenografted directly to rat liver differentiation into human hepatocytes without fusion", Blood, vol 106, pp 756-759.

30.- Arévalo Romero, Jenny Andrea, Páez Guerrero Diana Marcela y Rodríguez Pardo Viviana Marcela (2007), "Células madre mesenquimales: características biológicas y aplicaciones clínicas", NOVA - PUBLICACIÓN CIENTÍFICA EN CIENCIAS BIOMÉDICAS - ISSN:1794-2470 VOL.5 No. 8, pp 177-184.

31.- Nakagami Hironori, Morichita Ryuichi, Maeda Kazuhisa, Kikuchi Yasushi, Ogihara Toshio y Kaneda Yasufumi (2006), "Adipose Tissue-Derived Stromal Cells as a Novel Option for Regenerative Cell Therapy", Journal os Atherosclerosis and

Thrombosis Vol.13, No.2. pp 77-81.

32.- Hakan Orbay, Morikuni Tobita y Hiroshi Mizuno (2012), "Mesenchymal Stem Cells Isolated from Adipose and Other Tissues: Basic Biological Properties and Clinical Applications", Hindawi Publishing Corporation Stem Cells International, Article ID 461718, 9 pages doi:10.1155/2012/461718.

33.- Flores Figueroa Eugenia, José Montesinos Juan, Mayani Héctor (2006), "Células troncales mesenquimales: historia, biología y aplicación clínica", revista de Investigación clínica, vol. 58, No5 pp 498-511.

34.- González Silva Augusto (2008), Manual del paciente sobre terapias con células madre ISSCR.

35.- Valcz Gábor, Krenács Tibor, Sipos Ferenc, Leiszter Katalin, Tóth Kinga, Balogh Zsófia, Csizmadia Annamária, Múzes Györgyi, Molnár Béla y Tulassay Zsolt (2011), "The Role of the Bone Marrow Derived Mesenchymal Stem Cells in Colonic Epithelial Regeneration", Pathol. Oncol. Res., Vol 17, pp 11–16

36.- Lysaght M.J., O'Loughlin J.A., (2007), "Demographic scope and economic magnitude of contemporary organ replace therapies", ASAIOJ, vol. 45, No. 5, pp 515-521.

37. Mimeault M., Hauke R., Batra S. K. (2007), "A revolution in therapeutics-recent advances in stem cell biology and their therapeutic applications in regenerative medicine and cancer therapies" Clin Pharmacol Ther, Vol. 82, pp 257-260.

38.-Web de la Sociedad Americana de Terapia Celular (ASGCT American Society of Gene y Cell Therapy.

39.- Byung Park Soon, et al (2008) "Adipose-Derived Stem Cells and Their

Secretary Factors as a Promising Therapy for Skin Aging”, by the American Society for Dermatologic Surgery, 34:1323–132 Sungkyunkwan University School of Medicine, Seoul, South Korea

40.-Shokrgozar Ali Mohammad, et al. “Healing Potential of Mesenchymal Stem Cells Cultured on a Collagen-Based Scaffold for Skin Regeneration”, Iranian Biomedical Journal 16 (2): 68-76 (April 2012) University of Medical Science, Ahvaz, Iran.

41.- Forcheron F, Agay D, Scherthan H, Riccobono D, Herodin F, et al. (2012) “Autologous Adipocyte Derived Stem Cells Favour Healing in a Minipig Model of Cutaneous Radiation Syndrome”, Plos ONE 7(2): e31694. Journal. 003169, University Health Network, Canada.

42.- Natesan Henmugasundaram, Wrice L. Nicol, Baer G. David, Christy J. Robert, (2011) “Regenerative Medicine”, **Stem Cell**, 2011;29:1219–1230. Pp 1219-1230.

43.- Yildirimer Lara, T.K. Thanh Nguyen, and M. Seifalian Alexander (2012), “Skin regeneration scaffolds: a multimodal bottom-up approach” TIBTEC-996; pp 1-11.

44.- Estrada Roberto y Venegas Alicia, (2007), “Comparación de diferentes protocolos para el cultivo de células mesenquimales de origen adiposo”, Revista Costarricense de ciencias Médicas, Vol.28, No.1 y 2, pp 21-28.

45.- De Ugarte D.A., Alfonso Z., Zuk P.A., Elbarbary A., Zhu M., Ashjian P., Benhaim P., Hedrick M.H. y Fraser J.K. (2003), Differential expression of stem cell mobilization associated molecules on multilineage cells from adipose tissue and bone marrow, *Inmunol. Lett*, 89:267-270.

46.- Ishii Masakazu, Shibata Rei, Numaguchi Yasushi, Kito Tetsutaro, Suzuki Hirohiko, Shimizu Kazunori, Ito Akira, Honda Hiroyuki, Murohara Toyooki (2011),

“Enhanced Angiogenesis by Transplantation of Mesenchymal Stem Cell Sheet Created by a Novel Magnetic Tissue Engineering Method”, *Arteriosclerosis, Thrombosis and Vascular Biology*, Vol 31 No 10, pp 2210-2215.

47.- Matsumoto T., Kano K., Kondo D., Fukuda N.m, Iribe Y., Tanaka N., Matsubara Y., Sakuma T., Satomi A., Otaki M., Ryu J., Mugishima H. (2008). Mature adipocyte derived differentiated fat cell exhibit multilineage potential, *J. Cell Physiol.*, 215:210-222.

48.- Meruane Manuel y Rojas Mariana (2010), “Células Troncales Derivadas del Tejido Adiposo”, *Int. J. Morphol.*, Vol. 28, No3, pp 879-889.