

EFFECTO PARACRINO DE CELULAS MADRE MESENQUIMALES (MSCs) Y FACTORES DE CRECIMIENTO SECRETADOS.

Recientemente, el estudio de células madre mesenquimales (MSCs) ha sido ampliado para incluir la secreción biológica de moléculas activas que ejercen efectos benéficos en otras células.

Recientes trabajos sugieren un mecanismo alternativo de reparación denominado efecto paracrino, el cual postula que los factores de crecimiento, factores neurotróficos, citoquinas y moléculas de señalización secretadas por las MSC, son suficientes para ejercer efectos terapéuticos al activar vías que promueven la angiogénesis y regeneración tisular e inhibir la fibrosis, apoptosis e inflamación (*Chen, L. et al. 2008; Patel, K. M. et al. 2007; van Poll, D. et al. 2008; Walter, M. N. et al. 2010*).

Los efectos paracrinos de las MSCs pueden dividirse en tróficos (nutricionales), inmunomoduladores, anti-cicatrización y quimio atrayentes. Los efectos tróficos de las MSCs pueden subdividirse más adelante en; anti-apoptóticas, de soporte (estimulación de mitosis, proliferación y diferenciación de precursores orgánicos intrínsecos o de células madre) y Angiogénico (*Lindolfo Da silva Meirelles, Aparecida María Montes, et al. 2009, "Mechanisms involved in the therapeutic properties of mesenchymalstemcells"*).

TABLA 1. Factores de crecimiento y citoquinas que han sido detectados en excreciones paracrinas de MSCs sin importar su origen

RECOPIACIÓN BIBLIOGRAFICA	
Epithelial-neutrophil activating peptide (ENA-78)	Growth-related oncogene a, (CXCL1 GRO-a)
Granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF)	CCL1 (I-309)
Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF)	Interleukin-1a (IL-1a)
Growth-related oncogene (GRO)	Interleukin-1b (IL-1b)
	Interleukin-2 (IL-2)
	Interleukin-3 (IL-3)
	Interleukin-4 (IL-4)
	Interleukin-5 (IL-5)

LCELLS S.A. DE C.V.

Longinos Cadena 1031, Col. Echeverría
Guadalajara, Jal. México C.P. 44970.

Call center +52 (33) 3813-0570
+52 (33) 3144-9816

Interleukin-6 (IL-6)
Interleukin-7 IL-7
Interleukin-8 IL-8
Interleukin-10 IL-10
Interleukin-12 IL-12
Interleukin-13 (IL-13)
Interleukin-15 (IL-15)
Interferon c (IFN-c)
Monocyte chemoattractant protein-1, CCL2 (MCP-1)
Monocyte chemoattractant protein-2, CCL8 (MCP-2)
Monocyte chemoattractant protein-3, CCL7 (MCP-3)
macrophage colony-stimulating factor (M-CSF)
Macrophage Derived Chemokine (MDC)
Monokine induced by IFN-Gamma, CXCL9 (MIG)
Macrophage inhibitory protein-1b, (CCL4 MIP-1b)
Macrophage inhibitory protein-1d (MIP- 1d)
Regulated on activation normal T cell- expressed and secreted, (CCL5 RANTES)
Stem cell factor (SCF)
Stromal cell-derived factor 1 (SDF-1)
Thymus- and activation-related chemokine, (CCL17 TARC)
Transforming Growth Factor-b1 (TGF- b1)
Tumor necrosis factor-a (TNF-a)
Tumor necrosis factor-b (TNF-b)
Epidermal growth factor (EGF)
Insulin-like growth factor-1 (IGF-1)
Angiopoietin (Ang)
Oncostatin M (OSM)
Thrombopoietin (TPO)

Vascular endothelial growth factor (VEGF)
Platelet derived growth factor-BB (PDGF-BB)
Leptin (Leptin)
Brain derived neurotrophic factor (BDNF)
B Lymphocyte Chemoattractant, (CXCL13 BLC)
CCL23 (Ckb 8-1)
Eotaxin (Eotaxin)
Eotaxin-2 (Eotaxin-2)
Eotaxin-3 (Eotaxin-3)
Fibroblast growth factor-4 (FGF-4)
Fibroblast growth factor-6 (FGF-6)
Fibroblast growth factor-7 (FGF-7)
Fibroblast growth factor-9 (FGF-9)
FMS-related tyrosine kinase 3 (ligand Flt-3 ligand)
Fractalkine(Fractalkine)
granulocyte chemotactic protein-2 (GCP-2)
Glial cell line-derived neurotrophic factor (GDNF)
hepatocyte growth factor (HGF)
IGF binding protein-1 (IGFBP-1)
IGF binding protein-2 (IGFBP-2)
IGF binding protein-3 (IGFBP-3)
IGF binding protein-4 (IGFBP-4)
interleukin 16 (IL-16)
Interferon-inducible protein of 10 kDa, CXCL10 (IP-10)
Leukaemia inhibitory factor (LIF)
Tumor necrosis factor (ligand) super family, member 14 (LIGHT)
CCL13 (MCP-4)
Macrophage migration inhibitory factor (MIF)
macrophage inflammatory protein-3a (MIP-3a)

LCELLS S.A. DE C.V.

Longinos Cadena 1031, Col. Echeverría
Guadalajara, Jal. México C.P. 44970.

Call center +52 (33) 3813-0570
+52 (33) 3144-9816

Neutrophil-activating peptide-2 (NAP-2)	b3)
Neurotrophin 3 (NT-3)	Metalloproteinase inhibitor-1 (TIMP-1)
Neurotrophin 4 (NT-4)	Metalloproteinase inhibitor-2 (TIMP-2)
Osteoprotegrin(OPTGRN)	Monocyte chemoattractant protein-5, CCL12 (MCP-5)
CCL18 (PARC)	<i>(Liwen Chen, Edward E. Tredget, et al. 2008 "Paracrine Factors of Mesenchymal Stem Cells Recruit Macrophages and Endothelial Lineage Cells and Enhance Wound Healing")</i>
Placenta growth factor (PIGF)	
Transforming Growth Factor-b2 (TGF-b2)	
Transforming Growth Factor-b3 (TGF-b3)	

Definición de Factor de crecimiento: Proteína que, mediante su unión a receptores en la membrana celular desencadena vías intracelulares de señalización-traducción guiando a la diferenciación, proliferación, u otra respuesta celular. [http://www.uniprot.org/keywords/KW-0339, (Consultado: 06/05/13 4:30pm)]

EXCRECIÓN PARACRINA: MSCs provenientes de Tejido Adiposo (ASCs)

El tejido adiposo participa de manera activa en los procesos endócrinos secretando citoquinas y factores de crecimiento. Las ASCs secretan altos niveles de diversos factores de crecimiento como, factor de crecimiento epidérmico (EGF), factor de crecimiento endotelial (VEGF), factor de crecimiento fibroblástico básico (bFGF), factor de crecimiento de queratinocitos (KGF), factor de crecimiento derivado de plaquetas(PDGF), factor de crecimiento hepatocitario (HGF), factor de crecimiento transformante beta (TGF- β), factor de crecimiento tipo insulínico (IGF) y del factor neutrófilico derivado del cerebro (BDNF), (*Chen et al., 2009; Kilroy et al., 2007; Rehman et al 2004; Cai et al., 2007; Ebrahimian et al., 2009; Kim et al., 2009; Kim et al., 2007; Wei et al., 2009*). También secretan citoquinas como el factor estimulante de colonias de granulocitos (G-CSF), factor estimulante de colonias de granulocitos/macrófagos (GM-CDF), factor estimulante de colonias de macrófagos (M-CSF), interleucina-6 (IL-6), interleucina-7 (IL-7), interleucina-11 (IL-11), interleucina-12 (IL-12), factor inhibitorio de leucemia (LIF) y el factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α)(*Kilroy et al., 2007; Rehman et al 2004*).

LCELLS S.A. DE C.V.

Longinos Cadena 1031, Col. Echeverría
Guadalajara, Jal. México C.P. 44970.

Call center +52 (33) 3813-0570
+52 (33) 3144-9816

EXCRECIÓN PARACRINA: MSCs provenientes de Medula Ósea (BM-MSCs)

Análisis con PCR en tiempo real de los niveles de expresión de factores de crecimiento y citoquinas de BM-MSCs tratados bajo condiciones de hipoxia demostraron niveles significativamente altos de diversos factores de crecimiento, incluyendo el factor de crecimiento epidérmico (EGF), el factor de crecimiento de queratinocitos (KGF), el factor de crecimiento de tipo insulínico (IGF-1), el factor de crecimiento vascular endotelial (VEGF), eritropoyetina (EPO), el factor neutrofílico derivado del cerebro (BDNF), el factor de crecimiento hepatocitario (HGF), el factor inhibitorio de leucemia (LIF), el factor inhibidor de metaloproteinasa-1 (TIMP-1), el factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF) y del factor de crecimiento derivado de células estromales (SDF-1). En lo que se refiere a los resultados de los niveles de citoquinas secretados por BM-MSCs se encontraron en niveles altos a la Interleucina 6 (IL-6), interleucina 8 (IL-8) y de Angiopoyetina (Ang), (*Liwen Chen, Edward E. Tredget, et al. 2008 Paracrine Factors of Mesenchymal Stem Cells Recruit Macrophages and Endothelial Lineage Cells and Enhance Wound Healing*).

MSCs como herramientas terapéuticas prometedoras

Los efectos paracrinos de las MSC pueden dividirse en tróficos (nutricionales), inmunoreguladores, anti-cicatrización y quimioatrayentes. Los efectos tróficos de las MSC pueden subdividirse más adelante en; anti-apoptóticas, de soporte (estimulación de mitosis, proliferación y diferenciación de precursores orgánicos intrínsecos o de células madre) y angiogénicos.

La habilidad de acoplarse preferencialmente a sitios o ha tejidos lesionados, la cual podría ser influenciada por diversos factores, se agrega a las propiedades regenerativas de las MSCs ya que eleva la probabilidad de que células administradas de manera sistémica encuentren las áreas donde sus efectos paracrinos son más necesitados, y esto es de particular interés para la aplicación clínica.

LCELLS S.A. DE C.V.

Longinos Cadena 1031, Col. Echeverría
Guadalajara, Jal. México C.P. 44970.

Call center +52 (33) 3813-0570
+52 (33) 3144-9816

EFFECTOS PARACRINOS

Anti-apoptoticos:

En un escenario donde MSCs se administran con la finalidad de tratar lesiones cutáneas, el primer efecto esperado es la reducción de la extensión de las células muertas, esto es observado en modelos animales con tejido lesionado y en experimentos con cultivos. MSCs reducen la apoptosis de fibroblastos irradiados con luz UV y de células epiteliales de tumor de un pulmón cultivadas a un pH bajo y en condiciones de hipoxia, la regulación corriente arriba y la secreción de stanniocalcin1 se ha encontrado que es parcialmente responsable de este efecto antiapoptotico. MSCs derivadas de tejido adiposo ha demostrado expresión de HGF, VEGF, factor de crecimiento transformante beta (TGF- β), factor de crecimiento básico de los fibroblastos (bFGF también conocido como FGF2) y del factor estimulante de colonias de granulocitos-macrófagos (GM-CSF), y la expresión de estas moléculas se ha encontrado que aumenta en cultivos bajo condiciones de hipoxia; particularmente, la regulación corriente arriba del gen VEGF bajo condiciones de hipoxia ha demostrado ser mayor que lo observado para otros factores.

Inmunoregulación:

Las propiedades inmunoreguladoras de las MSCs se pudieron observar en experimentos donde las células demostraron inhibición directa de la proliferación de células T α y β *in vitro*. Las MSCs pueden inhibir o promover la proliferación de células B, suprimir la activación de células NK y modular la secreción de citosinas de las células dendríticas y los macrófagos.

De manera inversa, los efectos de las MSCs en el sistema inmune podrían no ser estrictamente de supresión. Por ejemplo, cantidades bajas de MSCs pueden hacer que las células dendríticas sean propensas a promover la activación de células T mientras que un alto número de MSCs es requerido para causar el efecto apuesto. Bajas dosis de IFN- γ permite a las MSCs expresar moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad clase II y comportarse como células presentadoras de antígeno; por

LCELLS S.A. DE C.V.

Longinos Cadena 1031, Col. Echeverría
Guadalajara, Jal. México C.P. 44970.

Call center +52 (33) 3813-0570
+52 (33) 3144-9816

el otro lado dosis altas de IFN- γ conllevan a un decremento de los niveles de moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad tipo II y a la secreción de factores anti-inflamatorios.

Anti-cicatrizantes:

Recientemente, se ha observado que bFGF y HGF están involucrados en la prevención de fibrosis en tejidos adiposis isquémicos de modelos murinos. La administración de cultivos expandidos de MSCs para prevenir la fibrosis puede, estando aún por verse, ser visto como una vía para aumentar la producción local de HGF (y probablemente de factores anti-cicatrizantes) en casos en los que se desea evitar la fibrosis.

Angiogénesis:

El efecto pro-Angiogénico de las MSCs ha sido demostrado en modelos murinos con isquemia en los miembros posteriores. En ese estudio, los autores detectaron bFGF, VEGF, factor de crecimiento placental (PIGF) Y MCP-1 en MSCs en medio acondicionado, y también se verifico la presencia de bFGF y de VEGF alrededor de las células infundidas *in situ* tras una administración local.

(Lindolfo Da silva Meirelles, Aparecida María Montes, et al. 2009, "Mechanisms involved in the therapeutic properties of mesenchymal stem cells").

USO DE FACTORES DE CRECIMIENTO Y CITOQUINAS COMO TRATAMIENTO COSMETICO

El envejecimiento de la piel es un proceso mediado por una combinación de efectos del tiempo (envejecimiento intrínseco) y factores ambientales (envejecimiento extrínseco) estos procesos afectan tanto a la célula como a la infraestructura celular. El uso de factores de crecimiento y citocinas para el rejuvenecimiento y retroceso causado por foto-envejecimiento (factor extrínseco) es un tratamiento aun emergente *(Mehta RC, Fitzpatrick RE, 2007, "Endogenous growth factors as cosmeceuticals")*

Analizando diversas publicaciones científicas referentes a este tema podemos

LCELLS S.A. DE C.V.

Longinos Cadena 1031, Col. Echeverría
Guadalajara, Jal. México C.P. 44970.

Call center +52 (33) 3813-0570
+52 (33) 3144-9816

encontrar un grupo solido de factores de crecimiento y citoquinas que aportan vías de señalización o que actúan de manera directa en la mejora de la estructura cutánea y su regeneración de cicatrices.

EGF epidermal growth factor [*Homo sapiens* (human)] **Factor de crecimiento epidérmico (EGF)**

Gen EGF

NCBI: 9606

Número MIM: 611718

Localización citogenética: 4q25

Localización molecular en el cromosoma 4: pares de bases 110,834,039 a 110,934,117

Proteína EGF

La proteína sintetizada es una molécula precursora de gran tamaño que es separada de manera proteolítica hasta generar el péptido de 53 aminoácidos conocido como factor de crecimiento epidermal (EGF). Esta proteína actúa como un potente factor mitogénico que juega un papel muy importante en el crecimiento, proliferación y diferenciación de numerosos tipos celulares. Esta proteína actúa uniéndose a su receptor en la superficie celular con una alta afinidad, el receptor del factor de crecimiento epidermal (REGF). El EGF estimula el crecimiento de varios tejidos epidérmicos y epiteliales en tejidos in vivo e in vitro de algunos fibroblastos en cultivos celulares. [<http://ghr.nlm.nih.gov/gene/EGF>, (Consultado: 06/05/13 4:02pm)]

Vía de señalización de EGF

El factor de crecimiento epidérmico induce la proliferación celular a través de su receptor REGF, el cual está compuesto por un dominio citoplasmático tirosin quinasa, un solo dominio transmembranal y un dominio extracelular involucrado en el anclaje de la proteína y el receptor. Los efectos proliferativos de EGF tienen señalización mediante diversas vías. La unión de la proteína resulta en una dimerización del

LCELLS S.A. DE C.V.

Longinos Cadena 1031, Col. Echeverría
Guadalajara, Jal. México C.P. 44970.

Call center +52 (33) 3813-0570
+52 (33) 3144-9816

receptor de EGF, autofosforilación del receptor, y la fosforilación mediante la tirosina de otras proteínas. El receptor de EGF activa RAS y la vía de MAP-quinasa, causando finalmente la fosforilación de factores de transcripción como c-Fos para crear AP-1 y ELK-1 que contribuyen a la proliferación. La activación de los factores de transcripción STAT-1 y STAT-3 mediante JAK-quinasas en respuesta a EGF contribuye a la señalización proliferativa. La señalización de fosfatidilinositol y la liberación de calcio inducidos por EGF activa a la proteína quinasa C, otro componente en la señalización de EGF. El cruce con otras vías de señalización hace que el REGF funcione como un punto de unión entre diversos sistemas de señalización. (FIGURA 1)

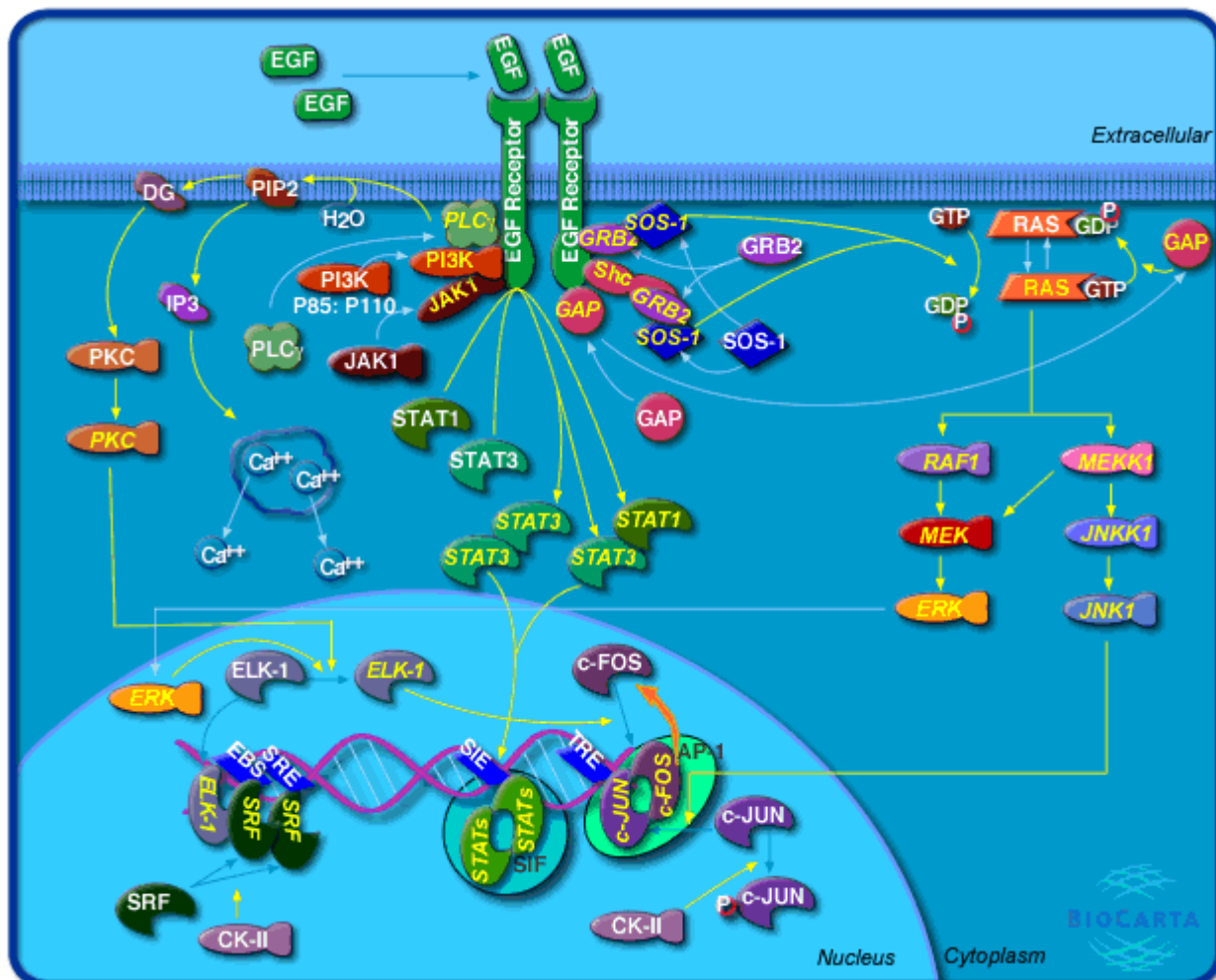


FIGURA 1. Vías de señalización activadas por EGF

(http://www.biocarta.com/pathfiles/h_egfpathway.asp)

LCELLS S.A. DE C.V.

Longinos Cadena 1031, Col. Echeverría
Guadalajara, Jal. México C.P. 44970.

Call center +52 (33) 3813-0570
+52 (33) 3144-9816

PDGF platelet derived growth factor [*Homo sapiens* (human)]
Factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF)

El factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF) juega un rol crítico dentro de la proliferación y desarrollo celular. La forma biológicamente activa es un dímero constituido de cadenas A (alfa) y cadenas B (beta) [http://www.biocarta.com/pathfiles/h_pdgfPathway.asp, (Consultado: 06/05/13 4:49pm)]

Gen PDGFA	Gen PDGFB
NCBI: 5154 Número MIM : 173430 Localización citogenética: 7p22 Localización molecular en el cromosoma: pares de bases 55,095,263 a 55,164,411	NCBI: 5155 Número MIM : 190040 Localización citogenética: 22q13.1 Localización molecular en el cromosoma: pares de bases 39,619,684 a 39,640,956

Los miembros de esta familia son mitogénicos para células de origen mesenquimal y se caracterizan por tener un motivo de ocho cisteínas.

[<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/5155>, (Consultado: 14/05/13 4:00pm)]

Proteína PDGFA

La proteína PDGFA activa proteínas dentro de la célula adhiriendo átomos de oxígeno y fosforo (grupos fosfato) en posiciones específicas (un proceso denominado fosforilación). Estos procesos guían a la activación de una serie de proteínas en múltiples vías de señalización. [<http://ghr.nlm.nih.gov/gene/PDGFA>, (Consultado: 13/05/13 3:45pm)]

Proteína PDGFB

El gen PDGFB provee instrucciones para la producción de una versión (isoforma) de la proteína factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF). Esta proteína está involucrada en múltiples procesos celulares, incluyendo crecimiento celular y división

LCELLS S.A. DE C.V.

Longinos Cadena 1031, Col. Echeverría
Guadalajara, Jal. México C.P. 44970.

Call center +52 (33) 3813-0570
+52 (33) 3144-9816

celular (proliferación) y maduración (diferenciación).
[<http://ghr.nlm.nih.gov/gene/PDGFB>, (Consultado: 13/05/13 3:00pm)]

Vía de señalización de PDGF

El factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF) juega un rol crítico en la proliferación celular y desarrollo. La forma biológicamente activa es un dímero formado de cadenas alfa y beta. PDGF es activado en diferente grado dependiendo de que dímero es formado (AA, AB, O BB). La unión de la proteína con el receptor de membrana conlleva a la fosforilación de diversas proteínas celulares. (FIGURA 2) [http://www.biocarta.com/pathfiles/h_pdgfPathway.asp, (Consultado: 13/05/13 3:15pm)]

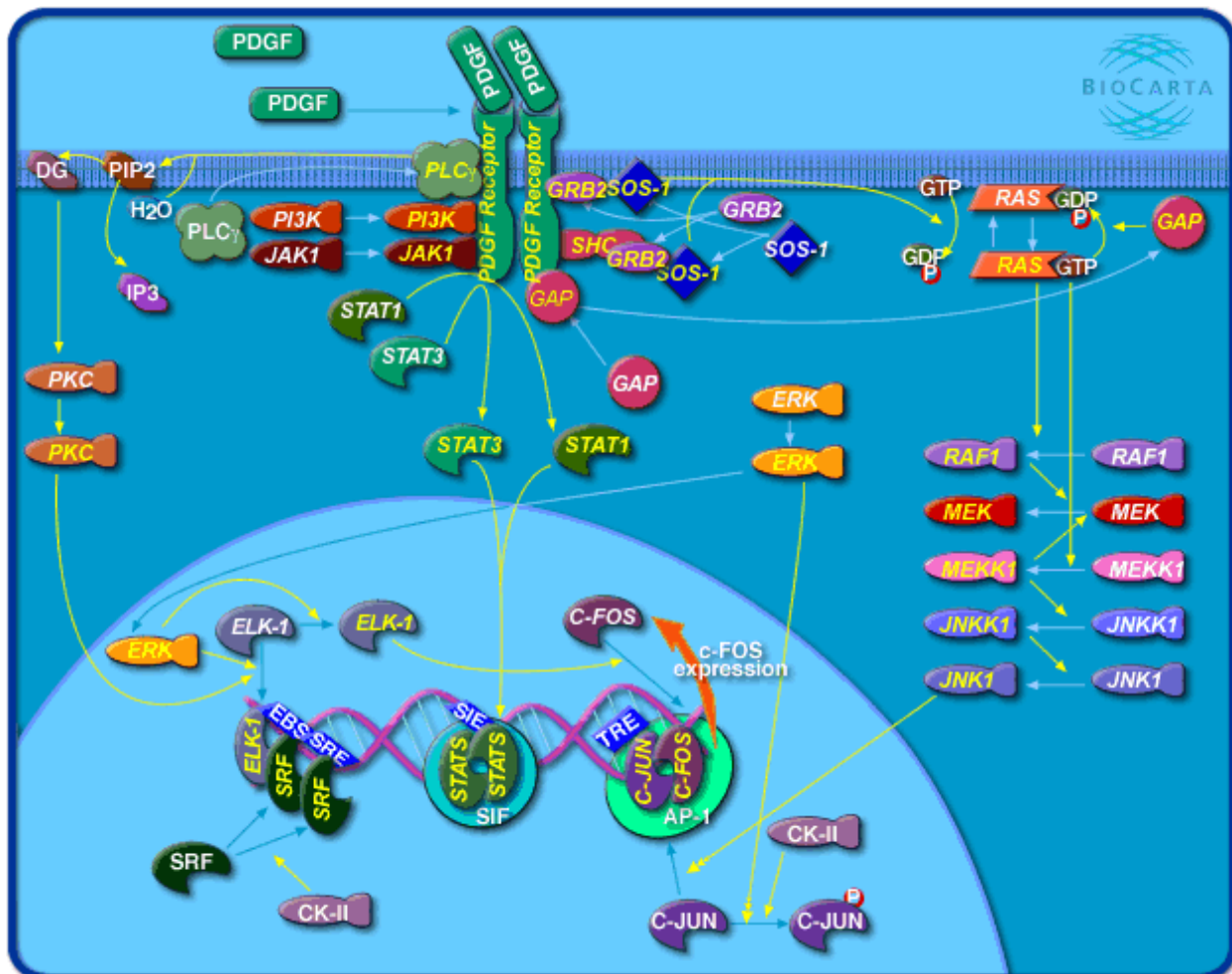


FIGURA 2. Vías de señalización activadas por PDGF

(http://www.biocarta.com/pathfiles/h_pdgfPathway.asp)

LCELLS S.A. DE C.V.

Longinos Cadena 1031, Col. Echeverría
Guadalajara, Jal. México C.P. 44970.

Call center +52 (33) 3813-0570
+52 (33) 3144-9816

VEGF Vascular endothelial growth factor [*Homo sapiens* (human)] **Factor de crecimiento vascular endotelial (VEGF)**

Gen VEGF

NCBI: 7422

Numero MIM : 192240

Localización citogenética: 6p21.1

Este gen es miembro de la familia de factores de crecimiento PDGF/VEGF y codifica una proteína que es comúnmente encontrada como un homodimero unido por enlaces disulfuro. Esta proteína es un mitógeno glicosilado que actúa específicamente en células endoteliales mediante diversos efectos, incluyendo la mediación de los niveles de permeabilidad vascular, induciendo la angiogénesis, vasculogénesis y el crecimiento de la célula endotelial, promoviendo la migración celular, e inhibiendo la apoptosis. [<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/7422>, (Consultado: 12/05/13 3:00pm)]

Proteína VEGF

Muchos polipéptidos mitogénos, como el factor de crecimiento básico de fibroblastos (FGFB) y el factor de crecimiento derivado de plaquetas, son activos para un amplio rango de tipos celulares. En contraste, el factor de crecimiento vascular endotelial es un mitógeno específicamente para células endoteliales vasculares. Está, sin embargo, estructuralmente relacionado con el factor de crecimiento derivado de plaquetas. [<http://omim.org/entry/192240?search=VEGF&highlight=vegf>, (Consultado: 12/05/13 3:25pm)]

Vía de señalización de VEGF

El factor de crecimiento vascular endotelial (VEGF) juega un papel muy importante en la fisiología de la formación de los vasos sanguíneos. La hipoxia es un potente inductor

LCELLS S.A. DE C.V.

Longinos Cadena 1031, Col. Echeverría
Guadalajara, Jal. México C.P. 44970.

Call center +52 (33) 3813-0570
+52 (33) 3144-9816

de VEGF en cultivos *in vitro*. el aumento en la secreción de la proteína biológicamente activa de VEGF por células expuestas a condiciones de hipoxia es parte por un aumento de los niveles de transcripción, mediado por la unión del factor inducible de hipoxia (HIF1) al elemento responsable en la región 5' del gen VEGF. (FIGURA 3)

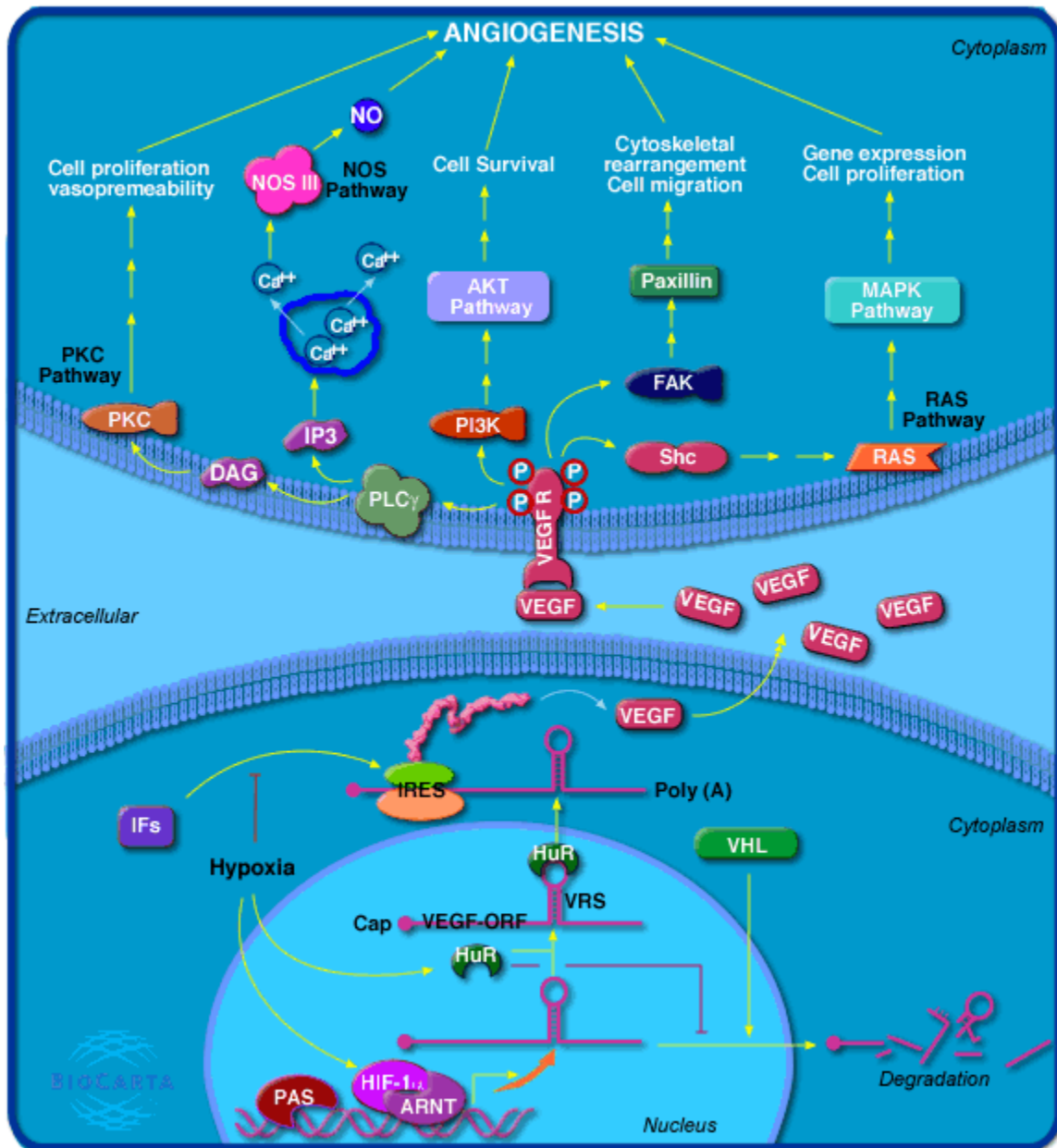


FIGURA 3. Vías de señalización activadas por VEGF
(http://www.biocarta.com/pathfiles/h_vegfPathway.asp)