

Medicina Cutánea®

Ibero-Latino-Americana

Argentina · Bolivia · Brasil · Chile · Colombia · Costa Rica · Cuba · Ecuador · El Salvador · España · Guatemala · Honduras · México · Nicaragua · Panamá · Paraguay · Perú · Portugal · República Dominicana · Uruguay · USA · Venezuela

www.medcutan-ila.org

Med Cutan Iber Lat Am 2013;41(3):97-102

Med Cutan Iber Lat Am 2013;41(3) 137-147

Sevilla, 5 de abril de 2013

**CONFERENCIA especial
HIPOXIA Y ALOPECIA**



Bruno Bernard

dermatología estética y cosmética



**Dermatología
estética
y cosmética**

Sevilla, 4, 5 y 6 de abril de 2013
Sede: Hotel Silken Al-Andalus Palace



■ Sevilla: CONGRESO DERMATOLOGÍA ESTÉTICA Y COSMÉTICA ■

CONFERENCIA especial *Hipoxia y Alopecia*

139 HIPOXIA Y ALOPECIA

Bruno Bernard

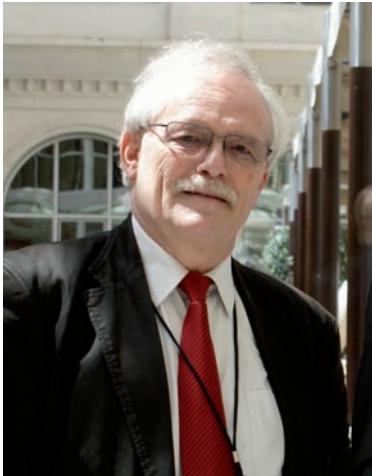


ENTREVISTAS

142 BRUNO BERNARD

«El papel de las células madre es sencillamente esencial»

146 COLOQUIO CON BRUNO BERNARD



HIPÓXIA Y ALOPECIA

Dr. Bruno Bernard

Hair Research Director
L'Oréal Fellow. Paris



El Dr. Bernard en una instantánea durante su exposición.

A lo largo de la vida, los folículos pilosos están sujetos a una sucesión de procesos de degeneración y regeneración. Cada ciclo está compuesto de una fase de crecimiento (anágena), una fase de degradación (catágena), una fase de reposo (telógena) y, finalmente, una fase neomorfogénica (neógena). La duración de los diferentes estadios por los que pasa el folículo hace que definamos al cabello como un órgano biestable, ya que transita de una etapa activa de equilibrio al estado de reposo en equilibrio (y viceversa) de una forma estocástica.

Dentro de los diferentes períodos por los que pasa el cabello, tienen especial importancia: 1) la fase telógena, que incluye un período de latencia llamado quenógeno, durante el cual el folículo permanece vacío después de que la fibra del pelo se haya perdido y cuya importancia estriba en ser una reserva potencial para el aumento de la densidad del pelo; y 2) la etapa neógena, durante la cual todos los compartimentos de los folículos pilosos son regenerados a partir de las reservas locales de células madre.

Tanto el estudio funcional como el examen inmunohistoquímico (CD29, K19) sugirieron la existencia de al menos dos grupos

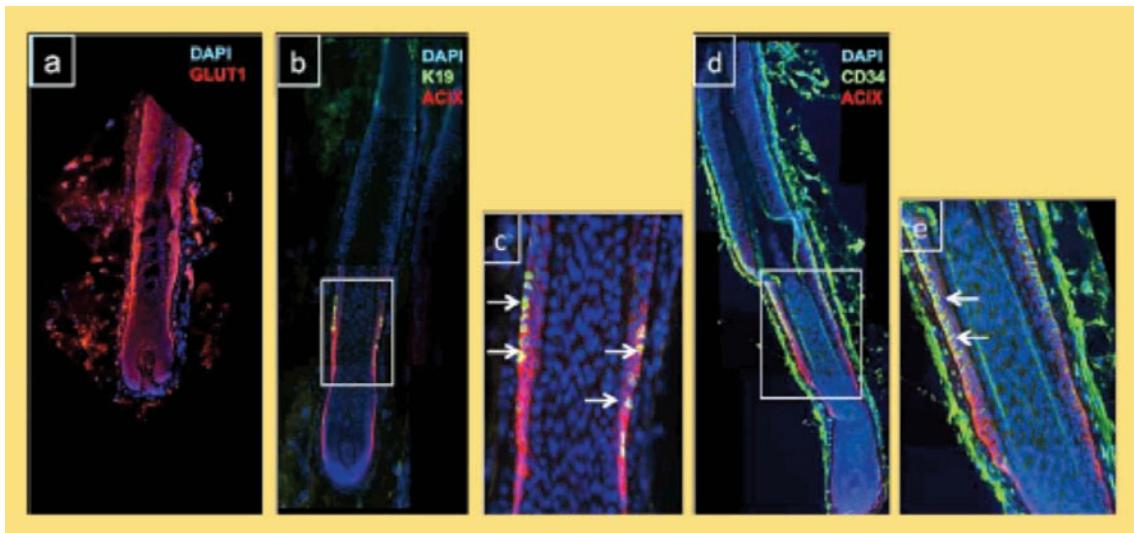
de células pluripotentes: uno situado en la parte superior de la vaina externa de la raíz (VER) y, el otro, en la VER inferior del folículo piloso humano. Los reservorios superior e inferior de células K19+ no son idénticos y se diferencian por la expresión diferencial de una serie de marcadores de células madre. Por ejemplo, K15 y CD200 se expresan mayormente en el reservorio superior, a diferencia de CD271 y CD34, que aparecen asociados al reservorio inferior.

Este diferente mapa de epítotos no se limita a las VER sino que también se extiende a la vaina de tejido conectivo (VTC), en relación con los dos reservorios de células madre. De hecho, expresan diferencialmente los epítotos de sulfato de condroitina y de sulfato de heparina.

Teniendo en cuenta el papel esencial del nicho de células madre en el mantenimiento de las funciones de las células madre, estudiamos más a fondo los factores microambientales que podían influir en el reservorio de células madre del folículo piloso humano. Dos mar-



Reservorio superior e inferior de células pluripotenciales en la VER del folículo piloso humano



Marcaje inmunohistoquímico de folículos capilares humanos en secciones de tejido de cuero cabelludo. Expresión en hipoxia de proteínas reguladoras GLUT1 (a) y ACIX (b y d) en el ORS y estudios de colocación de ACIX en el reservorio inferior de células madre/progenitoras se ha detectado a través de la expresión de K19 o CD34 (b-e)

cadores biológicos, expresados por los reservorios de presuntas células madre, conocidos como K19 y CD271, han sido descritos como hipoxia inducida por los genes. Teniendo en cuenta que la hipoxia parece ser una característica de los nichos de células madre adultas, decidimos estudiar más a fondo la expresión de dos marcadores altamente sensibles a la hipoxia, la anhidrasa carbónica IX (IX CA) y el transportador de glucosa 1 (GLUT1). Encontramos que su expresión se restringía a las VER inferiores del folículo piloso humano en fase anágena (2, 3).

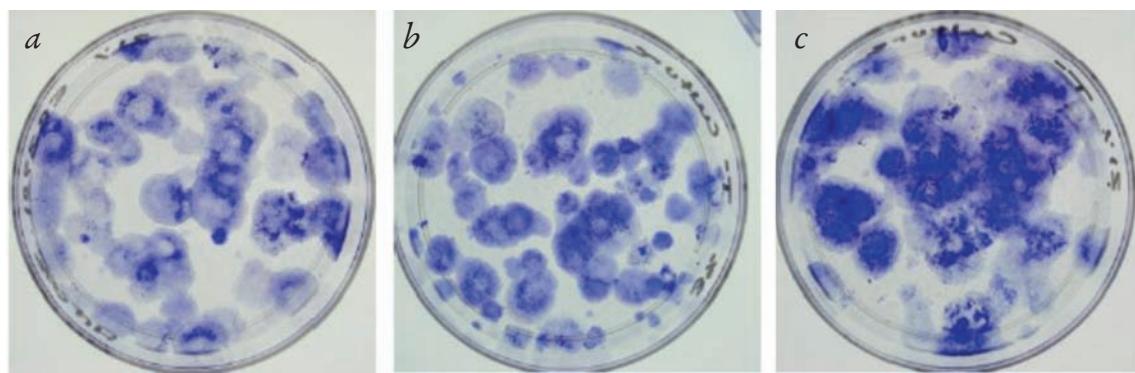
Además, la doble inmunofluorescencia demostró que un subconjunto de células ACIX se solapan con las poblaciones celulares K19+ y CD34+. Este hallazgo, descubierto recientemente, tiene un particular interés, dado que las células CD34hi no existen en cabezas calvas (4). Estos resultados también ponen de relieve el hecho de que los reservorios de células madre superior (CD200+) e inferior (CD34+) del folículo piloso humano están sometidas a microambientes muy diferentes, al menos en lo que respecta a la hipoxia (2, 3).

En conjunto, creemos que el folículo del cabello humano alberga dos reservorios de células madre epiteliales que pueden diferen-

ciarse, por un lado, por la expresión diferencial de proteínas concretas y, por otro, por la diferencia en sus nichos microambientales.

Aunque el papel de cada uno de estos dos depósitos no se ha establecido en los seres humanos, se ha notificado que el depósito de células CD34+ disminuye en la alopecia androgenética (4), lo que sugiere que el reservorio inferior está involucrado en el control del ciclo del pelo y, más concretamente, en la regeneración del cabello, de acuerdo con el modelo predeterminado del propio folículo. El reservorio inferior de células madre podría representar una población «primitiva» de células madre capaces de cooperar, dentro de un centro de señalización, con los reservorios de células madre superior y de la dermis papilar. A partir de esta comunicación, se puede desencadenar la fase neógena y la regeneración de los folículos pilosos de linaje epitelial. La protección de la funcionalidad completa de este depósito inferior, manteniendo la señalización hipoxica, podría facilitar un nuevo enfoque en los estudios del crecimiento del cabello.

Para investigar los posibles efectos de la hipoxia sobre las células progenitoras originarias del cabello, se midió la capacidad de los queratinocitos derivados de la VER de



Test de Eficiencia de Formación de Colonias (CFE): ORS- derivados keratinocitos cultivados 10 días en condiciones CFE en presencia de a) 21% O₂, b) 3% O₂ y c) 21% O₂ con 300 μM de ER3721

formar colonias (Eficiencia de Formación de Colonias) cuando se cultivaban *in vitro* en condiciones de hipoxia (O₂ al 3 %) y normoxia (O₂ al 21 %). Aunque el número absoluto de colonias no fue estadísticamente diferente para las dos condiciones, la densidad celular y la diferenciación se redujeron en aquellas cultivadas en condiciones de hipoxia, debido a la inmadurez de las células. Estos hallazgos sugieren que la hipoxia puede ser un regulador importante de las células madre precursoras en el desarrollo del folículo piloso humano.

Estudios *in vitro* mostraron que en el tratamiento de los folículos pilosos con el potente inhibidor de la prolil-4-hidroxilasa, Stemoxydine ®, modifica la expresión de un grupo de genes de una forma similar a las condiciones de hipoxia. La hipótesis de que moléculas como Stemoxydine ® pueden remediar la señalización de hipoxia puede respaldar una nueva estrategia para mantener el crecimiento del pelo y el desarrollo de los diferentes ciclos del cabello.

El Dr. P. Reygagne (Centro Sabouraud, Saint-Louis hospital, Paris, Francia) realizó estudios clínicos doble ciego frente a placebo que demostraron que la aplicación durante tres meses de Stemoxydine ® al 5 % aumentaba significativamente la densidad de pelo visible (un 4 % frente a placebo) (5).

BIBLIOGRAFÍA

1. Bernard BA. Exp.Dermatol. 21: 401-403 (2012)
2. Bernard BA, Rathman-Josserand M. Ann. Dermatol.Venereol. 140:5-8 (2013)
3. Rathman-Josserand M, Genty G, Lecardonnel J, Chabane S, Cousson A, Michelet JF, Bernard BA. J Invest Dermatol. doi: 10.1038/jid.2013.113 (2013)
4. Garza LA, Yang CC, Zhao T, Blatt HB, Lee M, He H, Stanton DC, Carrasco L, Spiegel JH, Tobias JW, Cotsarelis G. J Clin Invest. 121(2):613-22 (2011)
5. Reygagne P. Ann. Dermatol.Venereol. 140:9-12 (2013)



Los profesionales que acudieron a la Conferencia pudieron comprobar las excepcionales dotes de comunicador del Dr. Bernard.

ENTREVISTA A BRUNO BERNARD

«El papel de las células madre es sencillamente esencial»

P: ¿qué características fundamentales hacen del pelo un órgano biestable?

El equilibrio biestable del cabello es un hallazgo que hemos confirmado en nuestras investigaciones a lo largo de la cuales hemos comprobado que el cabello no mantiene una pautas regulares de crecimiento. Es el primer órgano que se describe como biestable, porque la memoria o el control de la expresión de los genes tienen, también, reacciones biológicas biestables. Es la primera vez que se describe que un órgano sea biestable.

He propuesto este nuevo concepto después de que hubiésemos observado el comportamiento durante más de 14 años de 930 folículos pilosos individuales, que pasan de cuando en cuando de un estado a otro. El comportamiento estocástico es una característica de la biestabilidad. Cuando observamos la duración de las fases, descubrimos que, por ejemplo, la duración de la fase de anágena puede variar desde algunos meses hasta cerca de 10 años, y la duración de la fase de telógena, de latencia, desde algunos meses hasta más de un año. Pasa lo mismo de forma inversa, donde advertimos que la duración de la fase de neógena y de catágena es muy corta, siendo muy rápida la de catágena, tan solo tres semanas.

La existencia de estas grandes diferencias de duración de las fases confirma que el folículo se encuentra en fases estables y, de vez en cuando, salta de una fase a la otra. Esto modifica todo porque ya no podemos hablar, por ejemplo, de recrecimiento, sino de duración de fases. Por ejemplo, en la alopecia, el pelo va a pasar más tiempo en un equilibrio estable durmiente de telógena. Por lo tanto, es un cambio en la duración de las fases. Es una visión que es com-

pletamente nueva, al tratarse de una visión dinámica. Vemos que el cabello se mueve, no simplemente gira de fase en fase, sino que el folículo tiene su propia vida en dos estados. De hecho es similar a lo que nos ocurre con las fases de sueño y vigilia: el sueño es un periodo estable y durante la vigilia estamos muy animados, pero es importante porque la manera en cómo dormimos por la noche va a condicionar cómo nos encontraremos durante el día. Si tenemos pesadillas, estaremos de mal humor durante el día mientras que se tenemos dulces sueños, estare-



Bruno Bernard



De izquierda a derecha, Laura García, Responsable Científica de Inneov España, el Dr. Bernard, el Dr. Makinen, del Centro de Investigación Nestlé en Suiza e Isabel Castillejo (Inneov España).

mos sonrientes. Con el folículo pasa lo mismo, si preparamos bien las células madre durante la fase durmiente, se convertirán en un folículo activo, en plena forma. Por tanto, intentamos que las células madre no tengan pesadillas. A este respecto, cada vez que empleemos una molécula que permita una mejor gestión de la duración de la fase de telógena, obtendremos lo que denomino un *hair density optimizer*, es decir que el cabello optimizará la utilización de los reservorios de células madre.

Como he comentado antes, hay folículos que están vacíos y que, por lo tanto, no participan en el aspecto visible de la densidad capilar, ¡puesto que están vacíos! Al ayudarles a saltar a la fase activa y comenzar a producir cabello, aumentará así la

densidad capilar. Existe por tanto un reservorio que previamente no estaba identificado y que si se le activa producirá cabello de una forma totalmente normal; hay que permitirle despertarse.

P: ¿Qué papel juegan las células madre en la regeneración capilar?

El papel de las células madre es sencillamente esencial. Si no hay células madre, no hay regeneración. La regeneración folicular depende por completo, por un lado, de la presencia de las células madre y, por otro lado, de su funcionalidad. Cuando George Cotsarelis dice que en las áreas calvas las células madre CD34+ desaparecen, a lo que se refiere es que la funcionalidad de este reservorio interno se altera y, por lo tanto, el diálogo

“En el caso del folículo piloso, cada equis años, las células madre se despiertan y, por lo tanto, las tenemos que proteger durante todos esos años”

“Hay muchísimos factores que están implicados en el control del crecimiento del cabello, en todos los estadios y no son los mismos”

entre las poblaciones de células madre del reservorio superior y del reservorio inferior del folículo piloso humano está alterado, no es el óptimo, y hay un retraso en el arranque de la fase neógena.

Una cosa es segura y es que las células madre son las células que aseguran la renovación del folículo. Para su información, el folículo mide sólo 4 milímetros de largo y existen compartimentos con programas de diferenciación muy diferentes. Todos estos compartimentos degeneran de forma cíclica y para recomponerlos hacen falta las células madre, puesto que son capaces de diferenciarse en un linaje de la vaina radicular externa, la vaina radicular interna y o la fibra. Y esto es gracias a la pluripotencialidad. Gracias a esta capacidad de las células madre de diferenciarse en distintos programas el cabello puede reconstruirse. Y es el único órgano en el hombre que puede hacer esto, no hay otros.

P: ¿Qué efectos tiene la hipoxia en el crecimiento capilar?

R: La hipoxia no va a tener un efecto sobre el crecimiento pero sí sobre el sostenimiento de la calidad de la funcionalidad de las células madre. En otros términos, y como decía antes, es lo que va a permitir a las células madre dormir bien. Por tanto, si las situamos en un contexto en el que ya no hay hipoxia, van a tener pesadillas y van a perder su funcionalidad. Por lo tanto, yo diría que es un entorno que prepara el futuro, permite conservar la funcionalidad óptima de las células madre de tal forma que cuando el folículo piloso tenga que volver a crecer va a funcionar bien. Es la característica de los nichos de las células madre. Si se cogen células madre del linaje mesenquimal, hematopoyético o neuronal, todas ellas están en ambientes hipódicos. Recuerdo un hallazgo que se ha dado a conocer hace 3 o 4 meses, si mal no recuerdo, de un equipo de in-

vestigadores franceses que ha sido capaz de hacer crecer células cardíacas activas a partir de células madre del tejido cardíaco de un cadáver que llevaba 18 días muerto, es decir, que estaba bien muerto. La explicación que dieron es que en el momento de la muerte las células madre estuvieron sometidas a una tremenda hipoxia y eso es lo que les permitió sobrevivir. Y es porque habían estado protegidas por la hipoxia por lo que 18 días después de la muerte pudieron volver a funcionar. Así pues, la hipoxia es un factor ambiental que protege a las células madre, que las impide proliferar y diferenciarse. Porque las células madre están ahí antes que nada para dormir, para poder despertarse cuando son necesarias y recomponer un tejido.

En el caso del folículo piloso, cada equis años, las células madre se despiertan y, por lo tanto, las tenemos que proteger durante todos esos años.

P: ¿Existe otro tipo de células que se vean influidas por la hipoxia?

La mayoría de las células madre adultas están protegidas por la hipoxia.

P: Una última pregunta: ¿Por qué resulta tan difícil identificar y determinar cuáles son los factores que intervienen en el crecimiento folicular?

Hay muchísimos factores que están implicados en el control del crecimiento del cabello, en todos los estadios y no son los mismos. Antes, cuando decía que había una competición, una lucha, entre los factores a favor y los factores en contra la fase neógena, quería indicar que los conocíamos. Los que están en contra son FGF-18, BMP-2 y BMP-4. Los que están a favor son TGF-beta-2 y FGF-7. Y es una verdadera competición y cuando ganan los que están a favor, entonces el cabello vuelve a crecer.



Bruno Bernard y Francisco Camacho, coordinador de la Conferencia Especial Hipoxia y Alopecia.

Hay toda una serie de factores producidos por la dermis papilar que van a controlar la producción de la fibra capilar. Por ejemplo, el IGF-1, el factor de crecimiento insulínico-1, es absolutamente necesario para mantener el crecimiento del cabello. Si se elimina este factor, el cabello pasa directamente del estado activo en equilibrio al estado estable durmiente; es algo casi inmediato, en cuestión de tres semanas.

“Cuando se estudia el folículo piloso y el cabello, se está estudiando la biología en el sentido más amplio”

Por otro lado, las citosinas proinflamatorias como la IL-1, se van a oponer al crecimiento del pelo. De hecho, todos los factores de crecimiento de la Creación tienen una influencia sobre el

folículo. Este órgano es muy peculiar porque resume en sí mismo todas las influencias que puede haber sobre el comportamiento tisular. De hecho, es el mejor ejemplo de las interacciones epitelio-mesenquimales, es decir, entre las células epiteliales y las células dérmicas. Y estas relaciones son absolutamente claves para la homeostasis tisular, incluso para la formación de los brazos o las piernas, estas relaciones epitelio-mesenquimales son esenciales. Y los factores que están implicados en la formación de los brazos o las piernas son los mismos que los que están implicados en la formación del cabello.

Cuando se estudia el folículo piloso y el cabello, se está estudiando la biología en el sentido más amplio. Me gusta entender el concepto de folículo piloso como un tubo de ensayo de la vida. Es un pequeño órgano en el que se dan todas las reglas fundamentales de la organización tisular, etc. Cuando hayamos comprendido cómo funciona el folículo piloso habremos comprendido cómo funciona el organismo entero.

COLOQUIO CON BRUNO BERNARD

Recogemos en este apartado una selección de las cuestiones planteadas al Dr. Bernard por los dermatólogos asistentes a la sesión.

P: ¿Puede Stemoxydine neutralizar la disminución de la funcionalidad de las células madre asociada con el proceso de envejecimiento?

Esa es nuestra hipótesis

P: ¿Puede ser útil Stemoxydine en otros tipos de alopecia aparte de la alopecia androgénica?

Probablemente en la mayoría de procesos naturales de pérdida de cabello, pero ciertamente no en los casos de pérdida patológica del pelo como en la alopecia areata o la alopecia cicatricial.

P: ¿Qué significa "nicho de células madre"?

Esto significa el ambiente celular, molecular, físico o químico inmediato a las células madre.

P: ¿Estimula Stemoxydine las células madre foliculares o tiene el fenómeno hipódico un significado distinto?

Los estudios *in vitro* han demostrado que tanto la hipoxia como Stemoxydine mantienen la funcionalidad de las células madre.

P: ¿Puede el mecanismo hipódico combinarse con el efecto de Minoxidil 0,5 - Aminexil?

Son complementarios

P: Con respecto a la investigación de esta molécula, ¿los estudios se realizaron en mujeres o en hombres?

Hasta la fecha, los únicos resultados publicados se obtuvieron en hombres.

P: ¿Existen estudios clínicos a largo plazo (más de 3 meses) que respalden la eficacia de Stemoxydine?

No lo sé, no dirijo los estudios clínicos

P: ¿Podría la aplicación de Stemoxydine dañar la funcionalidad de otras células epidérmicas posiblemente afectadas por el ambiente hipódico?

Seguramente no, puesto que simplemente la imita. Stemoxydine no refuerza el efecto de la hi-

poxia. Además, la hipoxia de tipo Stemoxydine mantiene la funcionalidad de células madre, no la daña.

P: ¿Qué representa el incremento del porcentaje del número total de cabellos en un +1.700 % en tres meses?

+4 % (frente a placebo) en la totalidad de las áreas afectadas por la disminución de la densidad capilar.

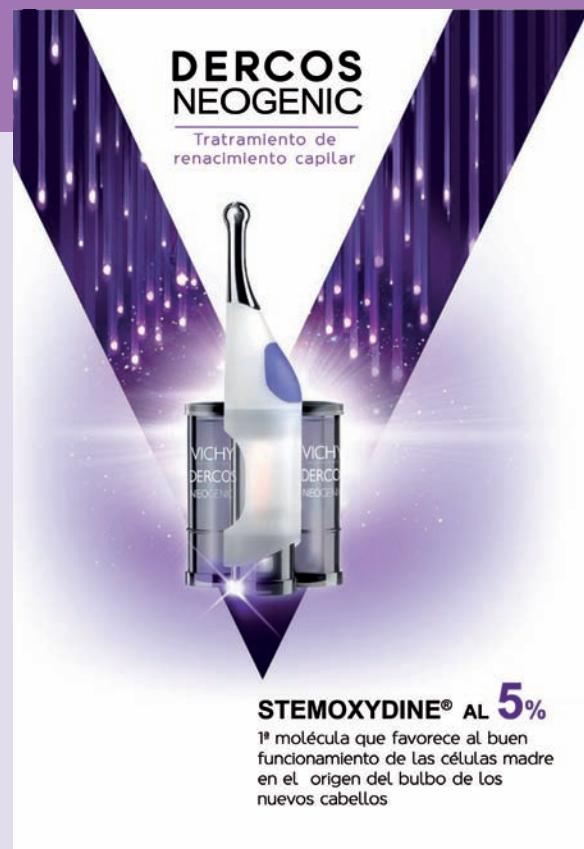
P: De acuerdo con los estudios clínicos, con el placebo se puede conseguir un incremento del 4 % en la masa capilar. ¿Qué porcentaje de densidad capilar representa la administración de Stemoxydine?

El 4 % de aumento observado con el tratamiento con Stemoxydine fue el resultado obtenido frente a placebo. El aumento absoluto frente a basal fue de hecho del 8 %.



Conclusiones

- El ciclo capilar y su control siguen siendo hoy objeto de debate. La modulación de este control incluye un gran número de factores. Algunos de estos factores han sido identificados pero su coreografía/mecanismo de modulación sigue siendo motivo de investigación (1)
- El folículo capilar humano presenta un comportamiento autónomo. Las transiciones de una fase a la siguiente se producen de forma independiente y estocástica para cada folículo. (1)
- El folículo capilar humano presenta un equilibrio biestable en lugar de cíclico, por ello es capaz de pasar de un estado estacionario a un estado activo y viceversa, de forma aleatoria. (1)
- Las células madre adultas regulan la homeostasis de los tejidos y generan células progenitoras que son capaces de dividirse rápidamente y diferenciarse a término. Las células madre residen en un nicho específico, un microambiente que las aloja y mantiene. (2)
- Se ha demostrado la existencia de dos reservorios de células madre en los folículos capilares humanos capaces de expresar diferentes marcadores y presenta un nicho/microambiente diferente. Ambos reservorios expresan K19 y en concreto el reservorio inferior expresa K19/CD34. Este último está implicado de forma importante en el ciclo capilar y en renacimiento capilar. (3,4)
- La hipoxia es un importante regulador de la capacidad de regeneración y funcionalidad de las células madre/progenitoras. (4)
- La protección de la funcionalidad completa de este depósito inferior, manteniendo la señalización hipódrica, ha facilitado un nuevo enfoque en los estudios del crecimiento del cabello (4)
- Stemoxydine ha demostrado su eficacia induciendo la señalización hipódrica, clave para mantener la funcionalidad de las células madre del folículo capilar. Identificándose como un inhibidor competitivo de HIF1, es capaz de inducir "in vitro" la señalización hipódrica. (5)
- La utilización de Dercos Neogenic (Stemoxydine 5%) en aplicación diaria durante 3 meses ha confirmado un aumento de un 4% vs placebo de la densidad capilar, lo que se traduce en +1700 cabellos. (5)



BIBLIOGRAFÍA

1. Bernard BA. The human hair follicle, a bistable organ? *Exp Dermatol.* 2012 Jun;21(6):401-3. doi: 10.1111/j.1600-0625.2012.01457.x.
2. Hsu YC, Pasolli HA, Fuchs E. Dynamics between stem cells, niche, and progeny in the hair follicle. *Cell.* 2011 Jan 7;144(1):92-105. doi: 10.1016/j.cell.2010.11.049.
3. Commo S, Gaillard O, Bernard BA. The human hair follicle contains two distinct K19 positive compartments in the outer root sheath: a unifying hypothesis for stem cell reservoir? *Differentiation.* 2000 Dec;66(4-5):157-64.
4. Rathman-Josserand M, Genty G, Lecardonnel J, Bernard BA. Hypoxia and human hair follicle stem/progenitor cells. Publication on progress
5. Loussouarn G, El Rawadi C, Pineau I, Jouaniq C, Zohr Hamidou, Michelin, Reygagne P, STEMOXYDINER and hair kenogen phase in androgenetical alopecia (AGA).