

CELULELE STEM CUTANATE

CUTANEOUS STEM CELLS

M. ALECU*, **, GABRIELA COMAN*, IONICA COSTACHE RĂDULESCU**, MONICA COSTESCU***,
ALINA MUȘETESCU*

București

Rezumat

Cercetările efectuate până în prezent la nivelul pielii au evidențiat că la acest nivel există două tipuri principale de celule stem: celulele stem epidermice și celulele stem melanocitare. La acestea se adaugă și unele adipocite și celule ale glandelor sudoripare ecrine care au în unele condiții caractere de celule stem. Celulele stem, atât cele epidermice cât și cele melanocitare se găsesc localizate în zona infundibulară (nișă) care asigură prin intermediul factorilor de creștere un microambiant ce menține celulele stem în faza nediferențiată.

Celulele stem cutanate constituie un factor important în apariția și desfășurarea procesului de îmbătrânire, al proliferației tumorale precum și a altor procese patologice desfășurate la nivelul pielii.

Acumularea de cunoștințe despre celulele stem cutanate cu implicarea lor în procese patologice majore face ca acestea să devină o țintă terapeutică importantă pentru terapia cutanată.

Cuvinte cheie: celule stem epidermale, celule stem melanocitare, piele.

Summary

Researches conducted so far have shown that at the skin level there are two main stem cells types, epidermal and melanocyte. To these are added some adipocytes and eccrine sweat gland cells that in some conditions are presenting stem cell characteristics. The stem cells, epidermal and melanocyte are both localized in the infundibular area (niche zone) that ensure an enabling microenvironment through growth factors that maintain stem cells in an undifferentiated status.

The cutaneous stem cells are an important factor in the emergence and development of ageing process, tumoral proliferation as in other pathology developed at the skin level.

Accumulation of knowledge about cutaneous stem cells and their involvement in major pathological processes make them an important target for cutaneous therapy.

Key words: epidermal stem cells, melanocyte stem cells, skin.

DermatoVenerol. (Buc.), 56: 63-77

Organismele pluricelulare organizate în țesuturi și aparate își reînnoiesc permanent celulele prin diviziune directă simetrică a celulelor componente respectiv dintr-o celulă iau naștere două celule fiice identice care la rândul lor se vor divide direct și simetric în alte celule

Pluricellular organisms organized in tissues and systems are permanently renewing the cells by symmetric splitting of the apart cells respective, two identical daughter cells arise from one cell, cells that will divide directly and symmetric into other daughter cells.

* Spitalul Clinic „Prof. Dr. Scarlat Longhin”, Centrul Dermato-venerologic.

** Universitatea „Titu Maiorescu”, Facultatea de Medicină-Dermatologie.

*** U.M.F. „Carol Davila”, Dermatologie.

fiice. În acest mod organismul înlocuiește celulele care și-au încheiat ciclul de viață, cu celule identice menținându-se astfel un număr constant de celule la nivelul unui țesut și al organismului pluricelular în general.

S-a constatat că există cel puțin două situații în care acest mecanism este depășit. O primă situație este reprezentată de apariția unui deficit numeric celular prin acțiunea unui traumatism care distruge un număr mare de celule și este nevoie de o refacere rapidă a numărului normal de celule din țesutul distrus. O a doua situație este reprezentată de celulele supraspecializate din organism (celule sanguine, keratinocite, celulele epiteliului intestinal) care pierd capacitatea de diviziune și care, ca și celulele la sfârșitul perioadei de viață, trebuie înlocuite cu alte celule noi. Apare astfel problema identificării modului cum organismul reușește să mențină un număr constant de celule în aceste două situații.

Un prim model l-au oferit chiar celulele sanguine. Astfel s-a constatat în urmă cu peste o jumătate de secol că celulele sanguine circulante provin din celule precursorare unipotente în viața adultă, câte o celulă precursoră pentru fiecare serie (eritocitară, granulocitară, trombocitară, etc.), care au fost denumite celule sușă sau celule stem.

Experimental, E.A. McCulloch și J.E. Till în jurul anilor 1960, au injectat la șoarecii iradiați celule precursorare de serie din măduva hematogenă care s-au regăsit sub forma unor noduli splenici formați dintr-un singur fel de celule (1-2). Acest experiment, ca și cercetările ulterioare, a evidențiat clar rolul celulelor stem (sușă) în formarea elementelor celulare ale sângelui respectiv a unor celule specializate care și-au pierdut capacitatea de a se divide.

Embriologia oferă un model mult mai amplu al dezvoltării unor celule specializate dintr-o celulă unică, celula stem.

Astfel organismul uman ia naștere dintr-o singură celulă, zigotul care rezultă din fuziunea celor doi gameți, respectiv zigotul, beneficiind de informația genetică, în mod egal de la ambii părinți. Prin diviziune zigotul formează morula (formată din 16 celule) și ulterior blastula formată din 128 celule, care cuprind în interiorul lor o cavitate. În următorul stadiu, gastrula, apare

In this way the organism replace the cells that closed their life cycle with identical cells, maintaining the constant number of the cells in the tissue and in the pluricellular organism also.

It was observed that two situations, at least, seems to overdraw (exceed) this mechanism. First situation is represented by the appearance of a cell number deficiency by a trauma action that destroys a great number of cells and the rapid restore of the number of cells is required. A second situation is represented by the superspecialized cells of the organism (blood cells, keratinocytes, gut epithelial cells) that loses their division capacity and as cells that complete their life cycle need to be replaced by new cells.

So arises the problem to identify the way organism succeeds in maintaining the constant number of the cells in these two situations.

One pattern is offered by blood cells. Thus, most than 50 years ago it was discovered that blood circulating cells descend from unipotent precursor cells in the adult life, one progenitor cell for each series (erythrocyte, granulocyte, platelet, etc) and it was called stem cell.

The experiments performed by EA McCulloch and JE Till in the 1960, that injected in irradiated mice progenitor cells from hematogen bone marrow and generated spleen nodules formed by a single cell type. This experiment, as the subsequent researches distinctly showed the role of stem cells in blood figurate elements formation and specialized cells that lost their division capacity.

Embryology offers a more developed model of developing in specialized cells from unique stem cell. Thus the human organism is born from a single cell, zygote, resulting from two gametes fusion, being the benefit of equally both parents genetic information.

Zygote if forming by division, morula (consisting in 16 cells) and afterwards blastula formed by 128 cells that include a cavity within. In the next stage, gastrula differentiation in embryological layers occurs (ectoderm, endoderm).

Last decade researches emphasized that fact that blastocysts cells in adequate growth and cell

diferențierea în foițele embrionare (ectoderm, endoderm).

Cercetările ultimului deceniu au evidențiat faptul că celulele recoltate din blastulă (blastocit), puse în condiții de creștere și de stimulare celulară adecvate, pot reproduce toate țesuturile organismului uman. Au fost denumite celule stem totipotente (omnipotente). Aceste celule pot forma un organism perfect viabil.

Celulele gastrulei au o mare capacitate de diferențiere dar se diferențiază numai în țesuturile care provin din aceeași foiță embrionară. Au fost denumite celule stem pluripotente. Alte tipuri de celule stem sunt celulele stem multipotentecare se pot diferenția numai în celule din familii înrudite, celule stem oligopotente care se diferențiază numai în celule apropiate între ele (limfocite/granulocite) și celule unipotente care pot forma un singur tip de celule (ex. celulele epiteliale din piele). Acest ultim tip de celule, care este prezent în viața adultă, (nu în perioada embrionară) a fost denumit celule stem adulte [2].

Caracteristicile celulelor stem

Celulele stem se caracterizează prin o mare capacitate de proliferare și diferențiere în celule specializate, capacitate denumită potență. Potența celulelor stem scade de la celulele stem totipotente (blastociste) la celulele stem adulte. Ceea ce este interesant este faptul că potența celulelor stem scade în condițiile în care informația genetică rămâne neschimbată, fiind aceeași atât la celulele stem totipotente cât și la celulele stem adulte. Cel puțin teoretic s-ar putea ca să existe o evoluție inversă de la celulele stem adulte către celulele stem oligopotente, multipotente și pluripotente (totipotente?). Altfel spus o celulă stem adultă să își revină la stadiul de celulă stem embrionară. Cercetările în acest sens sunt fie prea spectaculoase ca să fie reale fie sunt neconcludente fie sunt parțial comunicate.

Baza moleculară a capacității foarte mari de proliferare pare să fie dată de activitatea unor factori de transcripție, oct-4, Nanog și Sox-2 ce mențin supresate genele care conduc celulele spre diferențiere [3]. De asemenea s-a demonstrat că profilul micro RNA este diferit la celulele stem și la celulele de amplificare tranzitorie față de

stimulation conditions may reproduce all the human organism tissues. These were named totipotent stem cells (omnipotent). These cells may form a perfect viable organism.

Gastrula cells have a great capacity of differentiation but they are differentiated only in the tissues resulting from the same embryological layer. These were named pluripotent stem cells. Other types of stem cells are multipotent stem cells that may differentiate only in related family of cells, oligopotente stem cells that are differentiating only in similar types of cells (ex. lymphocytes/granulocytes) and unipotent stem cells that may form only one type of cell (ex. epithelial cells from the skin). This type of cell, existing in the adult life, (not in the embryonic period) was named adult stem cell. [2].

Stem cells characteristics

Stem cells are characterized by a high capacity of proliferate and differentiate in specialized cells, capacity named potency. The potency of stem cells is diminishing from totipotent stem cells (blastocysts) to adult stem cells. It is interesting that the potency of stem cells lowers considering that they have the same genetic information, totipotent stem cells and adult stem cells also. At least theoretical, an inverse evolution from adult stem cells to oligopotente, multipotent and pluripotent (totipotent?) may exist. Otherwise, an adult stem cell returns to embryonic stem cell stage. Researches in this field are either too spectacular to be real or no conclusive or partially communicated.

The molecular basis of the great proliferate capacity seems to be due to a transcription factors activity, oct-4, Nanog and Sox-2 that are suppressing genes responsible with cells differentiation. [3]. At the same time it was demonstrated that micro RNA profile is different in stem cells and transitory amplifying cells than keratinocytes stepped into terminal differentiation program. [4].

A second characteristic of the stem cells is represented by the manner of division. Thus a somatic cell is splitting symmetrical into two daughter cells identical with the mother cell, and

keratinocitele intrate în programul de diferențiere terminală [4].

O a doua mare caracteristică a celulelor stem o reprezintă modul de diviziune al acestor celule. Astfel, o celulă somatică se divide simetric în două celule fiice identice cu celula mamă, iar aceste celule fiice se divid la rândul lor tot simetric în alte două celule fiice. Spre deosebire de celulele somatice, celulele stem se divid asimetric în două celule fiice dintre care una reproduce celula stem mamă și una intră în procesul de diferențiere. În acest mod populația de celule stem rămâne constantă și se produc și celulele care vor intra în procesul de diferențiere terminală (celule sanguine sau keratinocite) sau atunci când este cazul, (traumatisme cu pierderea de celule) se vor forma celule somatice adulte. [5].

Diviziunea asimetrică este asociată în cadrul celulelor stem cu un ciclu lent de viață cu menținerea îndelungată a celulelor stem în stadiul G0 al ciclului celular, ceea ce le diferențiază net de celulele somatice.

Identificarea celulelor stem

În afară de caracteristicile fiziologice bine definite enunțate s-a încercat identificarea morfologică a celulelor stem. S-a căutat ca acest tip de identificare să se facă pe baza unor proteine de pe suprafața celulelor stem și a unor factori de transcripție. S-a demonstrat că aceste proteine de suprafață încadrate în proteine de semnal, sau de adeziune, au o specificitate relativă pentru celulele stem în sensul că numai în puține cazuri se găsesc numai la nivelul acestor celule. În afară de acestea, celulele stem adulte din diferite țesuturi prezintă markeri specifici pentru un anumit tip de țesut.

Luați în ansamblu, s-au identificat peste 100 de astfel de markeri care într-o anumită asociere pot defini o celulă stem.

Dintre cei mai cunoscuți markeri ai celulelor stem embrionare sunt: oct-4, un factor de transcripție din grupa factorilor POU (exprimat în celulele totipotente). Creșterea diferențierii celulelor stem embrionare face ca acest factor să își reducă exprimarea. Tot din această categorie fac parte Sox 2, Nanog. Dintre proteinele de suprafață cei mai importanți factori sunt complexe de factori SSAs, Tra 1-60 și Tra-1-81. Celulele stem neurale exprimă pe suprafața lor

these daughter cells are dividing into other two identical daughter cells. Unlike somatic cells, stem cells are splitting asymmetrical into two daughter cells one reproducing the mother stem cells the other following the differentiation process. This way the stem cell population remain constant and cells that will terminally differentiate are producing (blood cells or keratinocytes) and where is needed (trauma with lost of cells) will form somatic adult cells. [5].

Asymmetrical division is associated with slow life cycle with prolonged G0 stage of life cycle remaining of stem cells thus being distinctly different from somatic cells.

Stem cells identification

Beside physiological well known characteristics, the morphological stem cells identification has been studied following the identification by stem cells surface proteins and transcription factors. It was demonstrated that these surface proteins, considered as signal proteins, or adhesion proteins, have a relative specificity for stem cells considering that in a few cases are present on these cells only. Beside, adult stem cells from different tissues have specific markers for one kind of tissue.

On the whole, more than 100 of these markers were identified that in one kind of association may define a stem cell.

Some of the most well known markers of the stem cells are: oct-4, a transcription factor from POU group (totipotent cells expressed). Intensifying embryonic stem cells differentiation makes this factor to reduce its expression. From the same category are Sox-2, Nanog. Among the surface proteins the most important factors are the complexes: SSAs, Tra 1-60, and Tra-1-81. Neural stem cells are expressing on their surface the marker nestin and PSA-NCAM. Hematopoietic stem cells are expressing markers like: CD34, CD133, ABCG2 [6].

Also markers for stem cells are considered proteins like: beta-1 integrin, alpha 6-integrin, c-kit, cytokeratin 15, cytokeratin 19 in epithelial stem cell case. [6].

By genetic engineering techniques a product of a gene, named green fluorescent protein (GFP)

markerul nestină și PSA-NCAM. Celulele stem hematopoietice prezintă markeri ca: CD34, CD133, ABCG2 [6].

De asemenea sunt considerați markeri pentru celulele stem o serie de proteine ca: beta 1 integrina, alfa 6 integrina, c-kit, citokeratina 15, citokeratina 19 în cazul celulelor stem epidermice.

Prin tehnici de inginerie genetică s-a descoperit o genă al cărui produs a fost denumit proteină fluorescentă verde (green fluorescent proteinGFP). Această genă se găsește la celulele nediferențiate și este blocată în momentul când celula devine specializată [7].

Cu toate că există numeroși markeri de identificare a celulelor stem mai mult sau mai puțin specifici acestor celule, identificarea în sensul de vizualizare și izolare este dificilă. Numeroși markeri pot fi asociați cu starea de nediferențiere a unei celule mai mult decât cu o celulă stem anume dintr-un anumit țesut.

CELULE STEM DE LA NIVELUL PIELII.

La nivelul pielii s-au identificat până în prezent două tipuri de celule stem adulte. Acestea sunt celule stem epidermice și celule stem melanocitare.

Celule stem epidermice

Primele cercetări privind celulele stem epidermice s-au efectuat la șoarece pe epiteliul dorsal unde s-a observat că la nivelul epiteliului interfolicular acesta este organizat sub forma unor coloane în sensul că o celulă epitelială este înconjurată de alte 10 celule bazale iar peste aceste celule se dispun keratinocite în diverse stadii de diferențiere (corespunzător stratului epidermului) până la nivelul stratului cornos. S-a presupus că celula centrală este o celulă stem care dă naștere la întreaga coloană, întreaga structură fiind denumită unitate proliferativă epidermică. În cazul epiteliului uman, datorită prezenței papilelor dermice care orientează oblic această structură, ca și grosimii epidermului, unitatea de proliferare epidermică este mai greu vizibilă dar există și a fost demonstrată cu certitudine [8].

Un alt grup de experimente care a urmărit gradul de încorporare a unor nucleotide marcate radioactiv (timidină tritiată) în secvențele ADN ale celulelor bazale epidermice a evidențiat că

was discovered. This gene is present in undifferentiated cells and it is blocked when the cell became specialized [7].

Although there are a lot of markers for stem cells identification more or less specific for these cells, identification by visualization or isolation is difficult. A lot of markers may be associated with the undifferentiated stage of cell, rather than a certain kind of cell from a certain kind of tissue.

CUTANEOUS STEM CELLS.

Two kinds of adult stem cells were identified at the skin level till now. These are epidermal stem cells and melanocytic stem cells.

Epidermal stem cells

First researches on epidermal stem cells were performed on dorsal mouse epithelium where the interfollicular epithelium proved to be organized in columns, one basal epithelial cell is surrounded by other 10 basal cells over these cells are disposed keratinocytes in different stages of differentiation (according to the epidermal stratum) till the corneum stratum .

It was presumed that the central cell is a stem cell that give birth to a whole column, the ensemble being named proliferative epidermal unit. In the case of human epithelium because of the dermal papillae orienting oblique this structure, as of the thickness of epidermis the epidermal proliferation unit is hardly visible but it exists and it was demonstrated with certainty [8].

Another group of experiments followed up the degree of radionuclide incorporation (tritium thymidine) in DNA sequencing of epidermal basal cells showing that these cells are differently incorporating nucleotides. Thus around 10% of the cells slowly incorporate tritium thymidine and for a long period of time are maintaining the same rate of incorporation (3 months). Other basal cells, respectively 50-60% of basal keratinocytes are less visible and variably incorporate thymidine.

First category of the cells, with slow degree of thymidine incorporation, correspondingly to a slow life cycle, has been assimilated with stem cells and the other category with keratinocytes in

aceste celule încorporează diferit aceste nucleotide. Astfel în jur de 10% din celulele încorporează lent timidina marcată și își mențin o perioadă lungă de timp (aproximativ 3 luni) același nivel de încorporare. Alte celule bazale, respectiv 50-60% din keratinocitele bazale sunt mai puțin conturate și încorporează variabil timidina tritiată.

Prima categorie de celule, cu grad lent de încorporare a timidinei, corespunzătoare unui ciclu lent de viață a fost asimilată cu celulele stem iar ultima categorie, cu keratinocitele intrate în stadiul de diferențiere terminală. Celulele cu un ritm mai rapid de încorporare au fost denumite celule de amplificare tranzitorii. Aceste celule au un potențial intermediar de proliferare iar prin diviziune cresc (amplifică) numărul de celule din care pot să apară celulele specializate. Termenul de „tranzitoriu” se referă la faptul că aceste celule au caracter de trecere între celulele stem propriuzise și celulele diferențiate. Se consideră că celulele stem se divid de 4-5 ori înainte de a se diferenția în celule specializate și ar constitui un mecanism de protecție împotriva unor proliferări necontrolate de tip tumoral [9].

Studiile cu timidină marcată au evidențiat și localizarea celulelor stem epidermice. S-au identificat astfel două locații. O primă locație o reprezintă, după cele mai multe opinii, în cazul epidermului interfolicular, baza creștelor papilare, unde se consideră că ar fi un loc mai protejat. A doua locație ar fi regiunea „bulge” (protuberanță/umflătură) care reprezintă un spațiu format de teaca externă a firului de păr situată în apropierea locului de inserție a mușchilor piloerectori, sau sub orificiul de inserție a glandelor sebacee [8,9]. Se consideră în prezent că această regiune reprezintă un rezervor de celule stem epidermice, care se găsesc în stratul bazal al epidermului. Fără să existe suficiente dovezi, se consideră că celulele stem epidermice din zona infundibulară migrează la nivelul stratului bazal al epidermului [9].

O observație în acest sens este și faptul că foliculul pilos are capacitatea de a regenera epitelul în întregime în caz de distrugerii masive traumatice [10].

Celulele stem epidermice se caracterizează (și în unele cazuri se identifică atât in vivo cât și în culturi) printr-o serie de markeri (proteine de

terminal differentiating stage. The cells with fast incorporation rate were denominated transitory amplifying cells. These cells poses an intermediate potential of proliferation and by division amplifying the number of cells that give birth to specialized cells. The term “transitory” refers to the fact that these cells have an intermediate character between proper stem cells and differentiated cells. It is considered that stem cells are divided 4-5 times before differentiating in specialized cells this being a protection mechanism against uncontrolled tumoral proliferation [9].

Studies with marked thymidine emphasized epidermal stem cells localization. Two locations were identified. First, accordingly to some opinions, in the case of interfolicular epidermis, papillary crest (ridge) basis were the place is considered to be more protected. The second location is the bulge region, a space formed by external sheath of the hair, located near the piloerector muscles insertion or under insertion of sebaceous glands aperture [8,9]. Nowadays it is considered that this region is an epidermal stem cells reservoir from the basal layer of epidermis [9].

An observation in this respect is the observation that the hair follicle has the capacity of regenerating the whole epithelium in massive traumatic damages [10].

Epidermal stem cells are characterized (and in some cases are identifying in vivo and in cultures) by a series of markers (surface or intracellular proteins). These proteins are not specific to stem cells but in certain configuration may lead to these cells identification. The most important markers are: beta-1 integrin, keratin filament profile, p63 transcription factor, transferrin receptor (CD71). An important role has beta-1 integrin, an adhesion molecule expressed on all the keratinocytes. It was observed that the more stable are the cells the higher is the proliferative capacity. The marker value for the stem cells it is yet limited because at the basal layer level there are more cells having high beta-1 integrin levels than the number of stem cells [9, 10].

suprafață sau intracelulare). Aceste proteine nu sunt proprii celulelor stem ci într-o anumite configurație, pot duce la identificarea acestor celule. Cei mai importanți markeri sunt: beta-1 integrina, profilul filamentelor de keratină, factorul de transcripție p63, receptorul pentru transferină (CD71). Un rol important îl are beta-1 integrina, o moleculă de adeziune care este exprimată pe toate keratinocitele. S-a constatat însă că, cu cât celulele respective sunt mai stabile și capacitatea de proliferare este mai mare. Valoarea de marker pentru celulele stem este totuși limitată deoarece la nivelul stratului bazal există mai multe celule care au nivele crescute de beta-1 integrină decât numărul de celule stem [9, 10].

La nivelul stratului bazal, keratinocitele exprimă perechea de filamente de keratină 5 și 14 iar în straturile următoare 1 și 10. Keratinocitele care exprimă keratina 19 au o capacitate crescută de proliferare și de a forma colonii în cultură. În regiunea infundibulară celulele stem epiteliale exprimă în cantitate crescută keratina 19. Factorul de transcripție p63 este un factor ce face parte din familia de factori p53. Toate celulele bazale exprimă acest factor. Dar, celulele care exprimă mai mult acest factor au capacitate crescută de proliferare [11,12].

Atât celulele stem epidermice de la nivelul stratului bazal cât și cele din zona infundibulară sunt supuse acțiunii unor căi de semnalizare dintre care cele mai importante sunt: calea Wnt/betacatenină, Shh, BMP (bone morphogenetic protein signaling) și Notch. Dintre acestea cea mai cunoscută cale de semnalizare este calea Wnt/betacatenină care activează celulele stem de la nivelul regiunii infundibulare, ca și proliferarea de novo, și regenerarea foliculului pilos. BMP are o acțiune inversă în sensul că inhibarea semnalului indus de BMP duce la activarea celulelor stem. Proteinele transmembranale Notch sunt exprimate atât pe celulele epiteliale adulte cât și pe cele embrionare, inclusiv pe celulele glandelor sebacee. La nivelul celulelor stem, atât din stratul bazal cât și din regiunea infundibulară semnalele pe calea Notch acționează în sensul activării sau menținerii în stare activă a acestor celule. Semnalele căii Notch reglează ciclul de evoluție al foliculului pilos și par să inhibe proliferarea tumorală a celulelor epiteliale [10].

At the basal layer level, keratinocytes express the pair of keratin filament 5 and 14 and in the following layers, 1 and 10. Keratinocytes expressing keratin 19 have high proliferative and colony forming capacity. In the infundibular region stem cells are highly expressing keratin 19. Transcription factor p63 belongs to the family of p53 factors. All basal cells express this factor but those cells expressing higher this factor possess raised proliferative capacity [11,12].

Both epidermal stem cells from basal layer level and those from infundibular zone are subjected to signaling ways some of the most important being: the pathway Wnt/betacatenin, Shh, BMP (bone morphogenetic protein signaling) and Notch. Among these the most well known signaling pathway is Wnt/betacatenin that activates infundibular stem cells as de novo proliferation and hair follicle regeneration. Bmp has an inverse action considering that BMP signal inhibition leads to stem cells activation. Transmembrane proteins Notch are equally expressed on adult epithelial cells and on embryonic cells inclusive on sebaceous gland cells. At the stem level cells both from basal layer and infundibular region Notch signaling produce activation and maintaining of the active status of these cells. The signals of Notch pathway is regulating the evolution cycle of hair follicle and seems to inhibit the proliferation of tumoral epithelial cells [10].

Melanocyte Stem cells

Melanocytes are cells originated from neural crest that have as primordial function melanin production, by specialized intracellular organelles named melanosomes. Skin melanocytes are found in the basal cell layer where through three or four dendritic extensions introduce melanin into surrounding keratinocytes. Each keratinocyte may produce and transmit melanin to approximately 30 keratinocytes.

Besides the melanin production, cutaneous melanocytes seem to be involved in immune and inflammatory response. Melanocytes have phagocytosis capacity, processing and presenting antigen in cooperation with MHC molecules of class II. Melanocytes produce cytokines like: IL-

Celulele stem melanocitare

Melanocitele sunt celule provenite din creasta neurală care au ca principală funcție producerea de melanină prin intermediul unor organite intracelulare specializate numite melanosomi. La nivelul pielii melanocitele se găsesc în stratul bazal, unde prin intermediul a trei sau patru prelungiri dendritice introduc melanosomi cu melanină în keratinocitele înconjurătoare. Fiecare melanocit poate produce și transmite melanină la aproximativ 30 de keratinocite.

În afară de producția de melanină, melanocitele cutanate par a fi implicate în răspunsul imun și inflamator. Melanocitele au capacitatea de fagocitoză, de a procesa și prezenta antigenul în cooperare cu moleculele MHC de clasa a II-a. Melanocitele produc o serie de citokine ca: IL-1 α , IL-1 β , IL-6, IL-8, TNF- α , GM-CSF și cortizol și exprimă pe suprafața lor TLR (toll-like receptor). Se consideră că melanocitele ar avea și un rol senzorial exprimând pe suprafața lor și receptori pentru β -endorfine. Există o strânsă relație între melanocite și keratinocite acestea controlând sinteza de pheo/ eumelanină prin intermediul mai multor tipuri de citokine. Pe de altă parte, odată cu melanosomii se transmit în keratinocite o serie de substanțe cum ar fi acetilcolina sau se pot transmite și ionii de calciu. Melanina transferată în keratinocite are rol nu numai în protecția UV dar este și o substanță puternic antioxidantă.

Melanocitele adulte provin în piele din o serie de celule nediferențiate și nepigmentate denumite melanoblaste. Melanoblastele provin la rândul lor din creasta neurală și în cursul dezvoltării embrionare migrează în epiderm ajungând la nivelul foliculului pilos. Se consideră că melanoblastele prezintă caracterele unor celule stem.

La nivelul foliculului pilos, odată localizate, se separă în două tipuri de populații. O primă populație care se diferențiază în melanocite adulte care se localizează la nivelul matrixului firului de păr și sunt responsabile de pigmentarea firului de păr, melanocite ce nu au caracterul celulelor stem și o a doua populație localizată la nivelul regiunii infundibulare în porțiunea inferioară a acesteia (lower permanent portion). Melanocitele din această zonă sunt celule stem melanocitare care sunt responsabile cu

IL-1 α , IL-1 β , IL-6, IL-8, TNF- α , GM-CSF but also cortisol and express TLR (toll like receptors) on their surface. It is considered that melanocytes possess sensorial role expressing on their surface receptors for endorphin. There is a close relationship between melanocytes and keratinocytes these controlling pheo/eumelanin synthesis by some different kind of cytokines.

On the other hand, beside melanosoms in keratinocytes there are transmitted some substances as acetylcholine or calcium ions. Keratinocytes transferred melanin has a role not in UV protection only but there is an antioxidant substance too.

Skin adult melanocytes originate from some undifferentiated and nonpigmented cells named melanoblasts. Melanoblasts originate from neural crest and in embryo development are migrating in epidermis to hair follicle level. It is considered that melanoblasts presents stem cells characteristics.

At the hair follicle level they are separating into two types of populations. One that is differentiated into adult melanocytes, located into hair matrix and are responsible of hair color, melanocytes without stem cell characteristics and a second population located at the infundibular region in its lower permanent portion. Melanocytes from this region are melanocyte stem cells, responsible with skin normal or posttraumatic repopulation with adult melanocyte cells [14]. It is considered that at the interfolicular epithelium level melanocytes stem cells originate from infundibular region or neural crest derived melanoblasts which differentiate into melanocytes adult stem cells by keratinocytes stimulation [14,15]. The fact that depigmented lesions from lips mucosa or from feet and palms, without hair follicles, may repigment after phototherapy suggests that repigmentation has been made by epidermal melanocytes [16]. That does not mean that repigmentation was made by melanocytes migration from the pigmented lesion border [16]. Melanocytic stem cells expresses on their surface, proteic markers realising a different profile than adult melanocytic stem cells.

repopularea normală sau posttraumatică a pielii cu celule melanocitare adulte [14]. Se consideră că la nivelul epitelului interfolicular melanocitele stem ar proveni din regiunea infundibulară sau din melanoblastele migrate din creasta neurală și care se diferențiază în celule adulte, melanocitele, prin stimularea pe care o realizează keratinocitele [14,15]. Faptul că leziunile depigmentate de pe mucoasa buzelor sau de la nivelul plantelor și palmelor unde nu există foliculi piloși se pot repigmenta după fototerapie sugerează că această repigmentare s-a făcut pe baza melanocitelor din epiderm [16].

Aceasta nu înseamnă neapărat că repigmentarea s-a făcut prin migrarea melanocitelor de la marginea leziunii depigmentate [16].

Celulele stem melanocitare exprimă pe suprafața lor o serie de markeri proteici care realizează un fel de profil diferit față de celulele stem melanocitare adulte.

Cele mai cunoscute proteine de suprafață cu rol de markeri sunt: Pax3, Tyrp2, Sox10, mitf [17].

Un rol foarte important pare să îl prezinte receptorul (markerul) Pax3, care poate acționa atât ca inițiator al melanogenezei orientând celula stem melanocitară spre diferențiere cât și inhibitor al diferențierii spre celula melanocitară adultă [18]. Proteina Sox10 acționează sinergic cu Pax3 activând factorul de transcripție Mitf care controlează la rândul său proliferarea și diferențierea celulelor melanocitare adulte. Melanoblastele care exprimă factorul Sox10 în viața embrionară exprimă în cantități foarte reduse acest factor după colonizarea regiunii infundibulare. Dar factorul Sox10 se găsește intens exprimat pe melanocitele adulte de la nivelul matrixului firului de păr. Există o dinamică a exprimării acestor factori în funcție de gradul de diferențiere a celulelor dar și de tendința de evoluție a fiecărei celule în parte fie spre menținerea stării de nediferențiere, fie de celulă melanocitară adultă [17].

Un rol important în menținerea stării de nediferențiere a celulelor stem melanocitare îl reprezintă receptorul Notch, odată activat acest receptor duce la apariția mai multor factori de transcripție care activează un complex de gene *hes* care codifică o serie de factori blocați ce mențin blocate genele implicate în diferențierea celulară, menținând celula în faza de celulă stem melanocitară. Mutațiile la nivelul receptorului

The best known surface proteins with marker role are: Pax3, Tyrp2, Sox10, Mitf [17].

A very important role seems to have the receptor (marker) Pax3, that may act as initiator of melanogenesis, orienting melanocytic stem cell to differentiate, and inhibitor of differentiation leading to adult melanocyte cell [18].

The Sox10 protein actions synergic with Pax3 activating transcription factor Mitf that controls adult melanocytes proliferation and differentiation. Melanoblasts that express Sox10 factor in embryo life express in reduced amounts this factor after infundibular region colonization. But Sox10 factor is intensively expressed on adult melanocytes at the hair matrix level.

There is a dynamic of these factor expression by the differentiation degree of the cells and by the evolution tendency of every cell either to maintain the undifferentiated status or adult melanocytic cell [17].

An important role in the undifferentiated status maintaining of the melanocytic stem cells is represented by Notch receptor, once activated this receptor generate more transcription factor that activated a gene complex *hes* that code a succession of blocking factors that maintain the differentiation gene blocked maintaining the cell in the melanocytic stem stage. Mutations at the Nocth receptor level are associated with a massive decrease of melanoblasts and melanocytic stem cells, and a marked whitening of the hair [19].

Another important marker on the melanocytic stem cell is nestin, being present both on stem cells and endothelial cells. The presence of nestin on the tumoral melanocytic cells is associated with a poor prognostic in the clinical evolution of melanoma [20].

A special place in the evolution of melanocytic stem cells has the group of receptors kit specially c-kit. The receptor c-kit is a transmembrane protein that binding its specific receptor SCF (stem cell factor) activate tyrosine kinases. The kit receptor, generally plays an important role in normal hematopoiesis, melanogenesis, gametogenesis, as in the differentiation of ICC (interstitial cells of Cajal) [21]. Even though it is involved in proliferation,

Notch sunt asociate cu o scădere masivă a melanoblastelor și a celulelor stem melanocitare , cu o albire marcată a forului de păr [19].

Un alt marker important pe celulele stem melanocitare este Nestina care se întâlnește atât pe celulele stem cât și pe celulele endoteliale. Prezența nestinei pe celulele tumorale melanocitare este asociată cu un prognostic nefast al evoluției clinice a melanomului [20].

Un loc aparte în evoluția celulelor stem melanocitare îl are grupul de receptori Kit în special c-kit. Receptorul c-kit este o proteină transmembranală , care prin cuplarea cu ligandul său specific SCF (stem cell factor) duce la activarea tirozinkinazei. Receptorul kit în general are un rol esențial în desfășurarea normală a hematopoiezei, melanogenezei, gametogenezei ca și în diferențierea celulelor Cajal interstițiale [21]. Dar deși este implicat în proliferarea, migrarea melanocitelor normale sau a melanocitelor din leziunile nevice, c-kit se găsește într-o mică măsură pe melanocitele tumorale [22]. Factorul SCF și receptorul său c-kit sunt exprimate pe principalele linii celulare migratoare promovând migrarea celulelor în viața embrionară , scăzând aderența celulelor stem la fibrele de colagen IV și la fibronectină. Migrarea melanoblaștilor de la creasta neurală spre foliculul pilos se face dirijat sau prin intermediul acestui factor. Totodată prin intermediul complexului c-kit/SCF se menține homeostazia melanocitelor la nivelul nișei [17].

Factorul SCF este un dimer cu 141 de aminoacizi legați necovalent, glicozilați, fiind produs de elementele stromei medulare, celulele endoteliale, fibroblaste, celulele din sistemul nervos și keratinocite. Acest factor promovează supraviețuirea celulelor progenitoare, promovează hematopoieza și migrarea celulelor în viața embrionară dar și în viața adultă. Se consideră că stimularea cu SCF induce migrarea melanocitelor stem spre epiteliu, ca și migrarea melanocitelor din cresta neurală spre teritoriul cutanat [23].

Studiile imunohistochimice au evidențiat faptul că celulele stem melanocitare se găsesc în două locații după migrarea din cresta neurală . Una la nivelul matrixului firului de păr și o a doua în regiunea nișei (zona infundibulară) acolo unde se găsesc și celulele stem epidermale. Celulele stem melanocitare nu sunt amestecate cu celulele stem epidermice și se găsesc separate în regiunea inferioară a zonei infundibulare.

migration of normal melanocyte cells or nevus lesion melanocytes, c-kit it is found in a lesser degree on tumoral melanocytes [22]. SCF factor and receptor c-kit are expressed on the main migrating cell lines promoting migration of the cells in embryo life, decreasing adhesion of stem cell to collagen IV fibers and to fibronectin. The melanoblasts migration from neural crest to hair follicle it is conducted or through this factor. In the same time, by c-kit/SCF complex, the homeostasis of melanocytes in niche is maintained [17].

The SCF factor is a dimer with 141 noncovalent bound amino acids, glycosylated , produced by stromal medullae elements , endothelial cells, fibroblasts, nervous system cells and keratinocytes. This factor promotes hematopoiesis and cells migration in embryo life but in adult life also. It is considered that SCF stimulation induces melanocytes stem cell migration to epithelium, as the migration of melanocytes from neural crest to cutaneous zone [23].

Immune histochemical studies showed that melanocyte stem cells are found in two locations after neural crest migration. One in the hair matrix and the other in the niche region (infundibular zone) where epidermal stem cells are also found. Melanocytic stem cells are not mixed with epidermal stem cells and are found separately in the inferior infundibular zone.

The niche region seems to create a microenvironment for the stem cells in which these are maintained in the stem cell status (undifferentiated status). This is performed by molecular mechanisms that maintain epidermal and melanocytic stem cells in the niche. Other and independent from SCF, is an important mechanism represented by permanent activation of antiapoptotic genes bcl-2. Other genes like: mitf, kit, sox10, are blocked in the case of niche melanocytic stem cells. Essentially it is considered that melanocytic stem cells from niche and epidermal stem cells expresses a different receptors configuration and respond to other signals than adult melanocytic and epidermal stem cells. In niche, stem cells present a

Regiunea nișei pare să asigure un anumit microambient pentru celulele stem, în care acestea sunt menținute în stare de celule stem (celule nediferențiate). Acest lucru se realizează prin mecanisme moleculare prin care celulele stem epidermale și melanocitele sunt menținute ca celule stem la nivelul nișei. În afară de factorul SCF și independent de acesta, un mecanism important îl reprezintă activarea permanentă a genelor antiapoptotice bcl-2. Alte gene cum ar fi genele mitf, kit, sox 10 sunt blocate în cazul melanocitelor stem de la nivelul nișei. În esență se consideră că melanocitele stem de la nivelul nișei ca și celulele stem epidermice exprimă altă configurație de receptori și răspund altor semnale decât celulele stem adulte melanocitare și epidermice. În nișă celulele stem au o reducere semnificativă a transcripției, translației ca și a metabolismului celular [17].

Chiar dacă regiunea nișei asigură un microambient special melanocitele din nișă suferă numeroase influențe din partea altor tipuri de celule. Astfel melanocitele ca și keratinocitele din nișă sunt influențate de evoluția keratinocitelor în procesul de diferențiere.

Mai mulți factori keratinocitari pot avea influența într-un anumit moment evoluția celulelor din nișă, în sensul migrării și evoluției lor spre diferențierea terminală.

Un factor important care reglează evoluția celulelor stem melanocitare și foarte probabil și a keratinocitelor îl reprezintă ciclul folicular. Astfel s-a demonstrat că celulele de la nivelul regiunii infundibulare participă activ la procesul de epitelizare în procesul de vindecare a regiunilor cutanate distruse traumatic. Procesul de refacere epitelială, ca și diferențierea melanocitelor și keratinocitelor stem din nișă este mai accentuată în faza de anagen a ciclului folicular pilos. Conexiunea dintre ciclul folicular și procesul de vindecare a rănilor este dată de o proteină, conexina 43 (Cx 43) care aparține proteinelor constitutive a joncțiunilor gap care este implicată atât în procesele reparative cutanate cât și în desfășurarea normală a ciclului folicular. Tot ca puncte de conexiune sunt proteinele Notch 1, proteina basonuclina ca și receptorul (Vdr) pentru vitamina D [24,27].

Astfel s-a constatat că celulele melanocitare stem din nișă se diferențiază în celule stem adulte în faza de creștere a foliculului.

significant decrease of transcription, translation and cellular metabolism [17].

Even though the niche region offers a special micro environment the melanocytes suffer many influences from other cells types. Thus melanocytes as keratinocytes from niche are influenced by the evolution of keratinocytes in the process of differentiation. Many keratinocyte factors may influence in a specific time, the niche cells evolution, in the sense of migration and their evolution to terminal differentiation.

An important factor that regulates the evolution of melanocytes stem cells and mostly probably of keratinocytes too is the follicle cycle. So it was demonstrated that melanocytic stem cells from niche are differentiating in adult stem cells in the growing phase of follicle.

So it was demonstrated that infundibular region cells are actively participate at the reepithelization process in the wound healing after trauma. The process of epithelium restoration as stem keratinocytes and melanocytes from niche is more pronounced in the anagen hair follicle stage. The connection between hair follicle cycle and wound healing is due to a protein connexin 43 (Cx43) gap junction constitutive, involved in cutaneous restoration and in normal development of hair follicle cycle. As such connection points are Notch-1 proteins, basonuclin protein and the receptor Vdr for vitamin D [24,27].

So it was demonstrated that stem melanocytic cells from niche are differentiating in adult stem cells in the growing phase of hair follicle.

Other cutaneous stem cells

Beside keratinocytes and melanocytes stem cells some other stem cells were identified or cells with stem cell characteristics. So it is considered that there are adipocyte stem cells, in the dermis, capable to differentiate, in cultures, in a lot of mesenchymal adult types of cells [25]. At the same time it is considered that eccrine sweat glands cells may form a stratified epithelium, being an additional source of keratinocytes [26].

Alte celule stem cutanate

În afară de celule stem keratinocitare și melanocitare la nivel cutanat s-au pus în evidență și alte tipuri de celule stem sau de celule cu caractere de celule stem. Astfel se consideră că există celule stem adipoase, dispuse în dermul profund care sunt capabile să se diferențieze în culturi în numeroase tipuri de celule mezenchimale adulte (25). De asemenea se consideră că celulele glandelor sudoripare ecrine pot forma un epiteliu pluristratificat, fiind o sursă adițională de keratinocite [26].

IMPLICAREA CELULELOR STEM ÎN PATOLOGIA CUTANATĂ

Acumularea de cunoștințe despre celulele stem de la nivelul pileii a pus problema implicării acestor celule în procesele fiziologice sau patologice de la nivelul pielii. Se cunosc în prezent câteva aspecte privind participarea celulelor stem în procesul de îmbătrânire, proliferare tumorală și în procesele autoimune.

Ipotetic, în cazul îmbătrânirii cutanate și în special a epitelului cutanat se poate considera că pierderea capacității celulelor stem de la nivelul nișei de a asigura regenerarea epitelială normală, prin acumularea în timp de mutații genetice „negative” sau prin acțiunea speciilor reactive de oxigen ar sta la baza procesului de îmbătrânire.

S-a demonstrat însă că celulele care cumulează aceste defecte sunt celule de amplificare tranzitorie și nu cele stem. Experimental s-a demonstrat că celulele stem epidermice recoltate din regiunea infundibulară și cultivate au aceeași capacitate de diviziune și caracteristici indiferent dacă sunt recoltate de la un organism adult sau unul bătrân [28]. În cazul celulelor stem melanocitare scăderea numărului acestor celule ca și mutațiile negative acumulate duc la albirea naturală a părului întâlnită la subiecții vârstnici [29].

Acumularea de mutații multiple la nivelul celulelor adulte mai ales la nivelul mecanismelor de reglaj al diviziunii celulare reprezintă un factor important, poate cel mai important care face ca celula să nu mai răspundă la stimulii normali de diferențiere și proliferare și să prolifereze tumoral. Se pune întrebarea dacă la nivelul celulelor stem acumularea de mutații (favorizate și de procesul de îmbătrânire) care însă duce la acumularea de mutații mai puțin legate de procesul de proliferare celulară) poate

THE INVOLVEMENT OF STEM CELL IN CUTANEOUS PATHOLOGY

The accumulation of knowledge about cutaneous stem cells raised the question of these cells involvement in physiology and pathology of the skin. Some aspects of stem cells participation are known and also in the ageing process, tumoral proliferation and autoimmunity.

Hypothetically, in cutaneous ageing, especially epithelium, it may be considered that lost of niche stem cells capacity of regenerate normal epithelium by negative genetic mutation accumulation or reactive oxygen species action are the keystone of ageing.

It was demonstrated that the cells that accumulate such imperfections are transitory amplifying cells, not stem cells. Experimentally it was demonstrated that epidermal stem cells from infundibular region, in culture, have the same division capacity and characteristics regardless their source, an old or adult organism. (28). In the case of melanocyte stem cells the decrease in their number as the accumulation of mutations lead to natural whitening of the hair in the elderly [29].

Multiple mutation accumulation in adult cells mostly in adjustment mechanisms of cell division represent an important, probably the most important factor that makes the cell unresponsive to normal proliferation and differentiation and leads to the tumoral proliferation. The question raises if mutations accumulation in stem cells (promoted by ageing too) may trigger the tumoral proliferation process in these cells. Thus it is considered that solid tumors are heterogeneous population of mutant cells some of them with stem cells characteristics. For instance, nestin as a marker for melanocyte stem cells has been distinguished on primary melanocytes and melanoma metastases also. Stem cells from solid tumors named tumoral stem cells, seems to be the cause of metastasis and specially of tumor regrowth after cytostatic therapy [20,30].

The atrophy that appears in the center of the chronic lupus erithematosus lesion seems to be a consequence of the destruction of epidermal stem cells from infundibular region.

produce procesul de proliferare tumorală a acestor celule. Astfel se consideră în prezent că tumorile solide reprezintă o populație heterogenă de celule mutante între care unele cu caractere de celule stem. De exemplu Nestina ca marker pentru celulele stem melanocitare a fost evidențiată atât pe melanocitele primare cât și pe metastazele de melanom. Celulele stem din tumorile solide, denumite chiar celule stem tumorale, par a fi responsabile de metastazare dar în special de refacerea tumorii după terapia cu citostatice [20, 30].

Atrofia care apare în centrul placardelor de lupus eritematos cronic pare să fie o consecință a distrugerii celulelor stem epidermale de la nivelul regiunii infundibulare.

Citokeratina 15 care este exprimată la nivelul celulei stem din regiunea infundibulară este mult diminuată sau chiar absentă în cazul unui infiltrat inflamator abundent care alterează sau distruge foliculul pilos inclusiv regiunea infundibulară [31].

Concluzii

Cercetările efectuate asupra celulelor stem de la nivelul pielii arată că ele sunt implicate în o serie de procese normale și patologice cu mare impact asupra vieții fiecărui individ .

Îmbătrânirea cutanată și dezvoltarea tumorală atât a celulelor epidermice cât și a melanocitelor reprezintă două procese pe care le putem considera interconectate la nivelul celulelor stem.

Ținând cont de importanța celulelor stem ca și de acumularea de numeroase date despre aceste celule, ele pot fi ținta terapeutică importantă pentru un viitor nu foarte îndepărtat. În prezent există numeroase studii dermice în care se utilizează capacitatea regenerativă enormă a celulelor stem în procese traumatice cutanate. De asemenea încercările de a „reprograma” celulele adulte în celule stem cu o capacitate regenerativă foarte mare reprezintă o altă direcție de cercetare, care în caz de reușită, chiar și parțială, poate schimba abordarea unor procese patologice degenerative considerate ireversibile la nivelul organismului adult.

Intrat în redacție: 17.02.2010

Cytokeratin 15 expressed on stem cells from infundibular region is consistently diminished or even absent in an abundant inflammatory infiltrate that alters or destroy the hair follicle including the infundibular zone [31].

Conclusions

Researches on cutaneous stem cells show that these are involved in normal and pathological processes with large impact on the live of each individual.

Cutaneous ageing and tumoral development both epidermal and melanocyte cells represents two processes interconnected at the stem cells level.

Considering the importance of stem cells and accumulation of data regarding these cells, they may be an important therapeutic target in a near future.

Nowadays there are clinical studies in which the great regenerative capacity of these cells is used in cutaneous traumatic processes. Also the trials of “reprogramming” the adult cells in stem cells with very high regenerative capacity represents another research direction, that in case of even partially success, may change the approach of the degenerative pathology considered to be irreversible in adult.

Received: 17.02.2010

Bibliografie/Bibliography

1. BECKER A.J., MC CULLOCH EA., TILL JE. – Cytological demonstration of the clonal nature of spleen colonies derived from transplanted mouse marrow cells. *Nature*, 1963, 197, 452-454.
2. HANS R. SCHOLLER – The potential of stem cells: an inventory of Hamanbiotehnology as a social challenge. Autori N. Knocpffler, D. Schipanski, SL Sorgner, Ashgate Publishing Ltd., 2007,2, 8-32.
3. BOYER LA, LEE TI., COLE MF., et all. – Core transcriptional regulatory circuitry in human embrionic stem cells. *Cell*, 2005, 122, 447-456.
4. HILDEBRAND J., RUTZE M., WALZ N., et all. – A comprehensive analysis of micro RNA expression during human keratinocytes differentiation in vitro and in vivo. *J. Invest. Dermatol* - 2011, 131, 20-29.
5. BECKMANN J., SCHEITZA S., WERNET P., et all. – Asymetric cell division within the human hematopoietic stem and progenitor cell compartment: identification of asymmetrically segregating proteins. *Blood*, 2007, 109 (12), 5494-5010.
6. NATIONAL INSTITUTE OF HEALTH- BETHESDA USA APPENDIX E – Stem cells markers in in stem cell information 2009.
7. EIGES R., SCHULDINER M., DRUKKER M., et all. – Stem cell transduced clones carrying a marker on undifferentiated cells *Cuurent Biol.* 2000, 11, 514-519.
8. POTTEN C., BOOTH C.- Keratinocyte stem cells: a comentary *J. Invest. Dermatol.* 2002, 119, 888-899.
9. FAIRLEY JA., ZIVONY D. – Epidermal kinetics and regulation of cell proliferation in biology of the skin. Freinken RK și Woodley DT., *Parthenon Publishing.* 2001, 12, 201-208.
10. BLANPEN C., FUCHS E. Epidermal stem cells of the skin *Ann. Rev. Cell Dev. Biol.* 2006, 22, 339-373.
11. MICHAEL M., TOROK N., GODHANT MR., et all. –Keratin 19 as a biochemical marker of the skin stem cells in vivo and in vitro. *J. Cell Sci.* 1996, 109, 1017-1028.
12. PELLEGRININ G., DELLAMBRA E., GOLISANO O., et all. P63 identifies keratinocyte stem cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2001, 98, 3156-3161.
13. PLONKA DM., PASSERON T., BRENNER M., et all. –What are melanocytes really doing all day long ? *Experimental Dermatol.* 2009, 18, 799/819.
14. NISHIMURA EK., JORDAN SA., OSHIMA N. et all. – Dominant role of the niche in melanocyte stem cells fate determination *Nature*, 2002, 416, 854-860.
15. HASS K., SMALLEY KS., LI I., HERLYN M. – Adhesion migration and communication in melanocyte and melanoma *Pigment Cell. Res.* 2005, 18, 150-159.
16. TOBIN D.J., SWAMSON N.N., PITTELKOW M.R. – Melanocyte are not absent in lesional skin long duration vitiligo. *J. Pathol.* 2000, 191 (4), 407-416.
17. OSAWA M., EGAWA G., SIU-SHAN MAK. Et all. – Mollecular characterisation of melanocyte stem cells in their niche *Development and Disease* 2005, 132, 5589-5599.
18. LANG D., LU MM., LI H., et all. – Pax 3 function at the nodal point in melanocyte stem cell differentiation *Nature*, 2005, 433, 884-887.
19. MARYAMA M., OSAWA M., SIU-SHAN MAK et all. – Noch signaling via Hes -1 transcription factor maintains survival of melanoblasts and melanocytes stem cells *The Journal of Cell Biology*, 2006, 173, (No 3), 333-339.
20. PIRAS F., PERRA MT., MURTAS D. et all. – The stem marker Nestin predicts poor prognosis in human melanoma *Oncology Reports*, 2010, 23(1), 17-24.
21. ASHIDA A., TAKATA M., MURATA H., et all. – Pathological activation of kit in metastatic tumors of acral and mucosal melanoma *Int. J. Cancer*, 2009, 124, 862-988.
22. SMALLEY KS., SONDAK VK., VERNON K.- C-kit signaling as a driving oncogenioc event in sub-group of melanoma *Histology and Histopathology* 2009, 24 (5), 643-650.
23. SCOTT G., EWING J., RAIN D., ABLARD C.- Stem cell factor regulates human melanocyte-matrix interaction *Pigment Cell Res.* 1994, 7 (1), 44-51.
24. BOTCHAREVA NV., BOTCHAREV VA., GILCHREST BA. – Fate of melanocytes during development of the hair follicle pigmentary unit. *J. Invest. Dermatol. Symp. Proc.*, 2003, June 8 (1), 76-79.
25. MACRENE AA. – Somatic stem cells in dermatology *J. of Drugs in Dermatology* 2008, march, (3), 209-212.
26. BIEDERMANN T., POTIGJA L., HABERZETH S. et all. – Human eccrine swat gland can reconstitute a stratified epidermis *J. of Invest., Dermatol.* 2010, 130 (8) 1996-2009.

27. ANSEL DM., KLOEPPER JE., THOMASON HA., et all – Exploring the hair Growth- wound healing connection: anagen phase promotes wound reepithelisation. *J. Invest. Dermatol.* 2011, 131, 518-528.
28. CHARRUYER A., BARLAD CO., YUE L. – Transit amplifying cell frequency and cell cycle kinetics are altered in aged epidermis. *J. Invest. Dermatol.* 2009, 129, 2574-2583.
29. AUBIN-HOUZELSTEIN G., DJIAN-ZAOUCHE J., PANTHIER JJ. – Melanocyte stem cells in adults. *J. Soc. Biol.* 2008, 202 (1), 25-32.
30. MENNA F., HOUBEN R., EYRICH M., et all. – Stem cells, melanoma and cancer stem cells: the good, the bad and the evil. *Giornale Italiano di Dermatologia e Venerologia*, 2009, 144 (3) 287-296.
31. AL-REFU K., EDWARDS S., INGHAM E., GOODFIELD M. – Expression of hair follicle stem cells detected by cytokeratin 15 stain, implication for pathogenesis of the scarring process in cutaneous lupus erithematosus. *British Journal of Dermatology*, 2009, 160 (6), 1188-1196.

Adresă de corespondență:
Correspondence adress:

E-mail: alecu.mihail@yahoo.com