
Az őssejtek stimulálása az igazi megújulásért

Dr. Daniel Schmid, Dr. Cornelia Schürch, Dr. Fred Züllli

Mibelle Biochemistry, Svájc

2008. augusztus

Kivonat

Az embriók őssejtjeivel szemben a felnőttkori őssejtek kitaranak egy egész életre. Nélkülözhetetlenek a szövetek fenntartásához és helyrehozásához. A bazális rétegében néhány őssejt gyártja az összes többi keranocitát, amelyek elválnak a felhám legkülső rétegétől, és négyhetente megújulnak. Az idősebb bőrben ezek az őssejtek kevésbé aktívak, és a számuk is alacsonyabb, ez okozza a ráncokat és a felhám megnövekedett megújulási idejét. A növények szintén rendelkeznek őssejtekkel. Elkülönítés után folyékony közegben tenyésztethetők. A PhytoCellTec™ Malus Domestica, az alma őssejtjeinek elkészítési módja serkenti az emberi vér őssejtjeinek osztódását, és növeli a bőr rostszöveti sejtjeinek és az egyes szőrtüszők élettartamát. Egy klinikai teszt során, melyben négy héten keresztül hús alanyt vizsgáltak, ez az új hatóanyag jelentősen csökkentette a ráncokat a szarkalábak felbukkanási helyein.

Mik azok az őssejtek?

Az őssejtek olyan programozatlan sejtek, amelyek később különböző feladatok ellátására tudnak specializálódni. Ezért az őssejteknek nagy jelentőségük van a regeneratív gyógyászatban. A regeneratív kezelések a gyógyulás elősegítésére törekszenek, a jövőben akár a Parkinson-kór, az Alzheimer-kór vagy a cukorbetegség kezelésére is alkalmasak lehetnek. A regeneratív gyógyászat eredménye a hosszabb, egészségesebb élet. Az őssejt-kutatás manapság felkapott téma, amit a szépségápolás területén is használnak. Az Amatokin, a Voss Laboratórium arcápolási terméke állítólag serkentette a bőr őssejtjeit. A Dior's Capture R60/80 XP pedig olyan ráncmentesítő termékek, amelyek működésének lényege az őssejtek életterejének megőrzése.

Szóval mik is tulajdonképpen ezek az őssejtek?

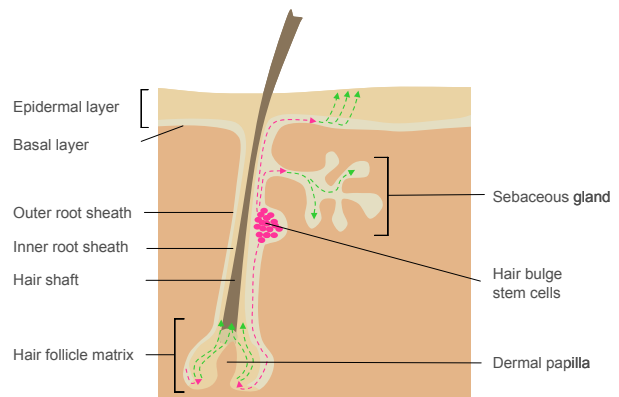
A fő irányelvek, amelyek az őssejt-populációkat meghatározzák, a következők: 1, a kapacitás az újratermelődsre önmegújulás útján 2, a képesség, hogy specializált sejteket termeljen. Kétfajta őssejt létezik az emberekben és az állatokban: embriókori őssejt és felnőttkori őssejt. Az embriókori őssejtek többfelé is fejlődhetnek, ezért a test bármelyik sejtjének szerepét fel tudják venni. A felnőttkori őssejtek szerepe viszont csak a fenntartás és a szövetek helyreállítása. Sokkal korlátozottabbak, és csak arra a szerepre tudnak specializálódni, amelyek szövetben megtalálhatóak. Léteznek azonban olyan felnőttkori őssejtek, melyek többfelé is fejlődhetnek. A legújabb kutatások középpontjában ezek állnak, hiszen nem merül fel etikai kérdés ezekkel kapcsolatban.

Minden sejt, legyen az őssejt vagy differenciált sejt, ugyanazt a DNS-t, ugyanazokat a géneket hordozza. Tehát mitől őssejt az őssejt? A tulajdonságaik a mikro-környezettől kapott jelektől függenek.

például az őket körülvevő sejtektől, amik egyfajta fülkét alkotnak körülötte. Azonban elsősorban a sejtől magából jövő jelek befolyásolják a sejt sorsát. Ezeket epigenetikus jeleknek hívják. Röviden ezek olyan jelzések a DNS-ben, vagy az azt körülvevő fehérjékben, amelyek egyes gének ki- és bekapcsolásáért felelősek.

Az őssejtek szerepe a bőrben

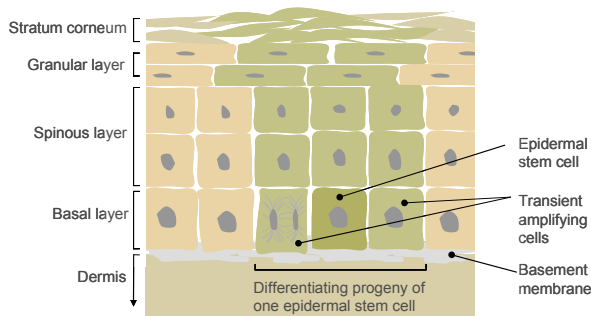
A bőr igazából a legnagyobb emberi szerv. A felső borítása a felhám, egy rétegzett hámszövet. A felhám magában foglalja a szőrtüszőket és a faggyúmirigyeket is. Mivel a differenciált sejtek a felhámról leválnak végül, folyton újra kell termelni a differenciált sejteket. Ettől különösen fontosak a bőr őssejtjei. Bizonyították, hogy a hajhagymák a felhám őssejtjeinek maradékából keletkeznek.



1.) Ábra: A hajhagyma olyan differenciálatlan őssejteket tartalmaz, amelyekből a felhám, a szőrtüsző és a faggyúmirigy keletkeznek.

Innentől az őssejtek fokozatosan vándorolnak a szőrtüszőkbe, a faggyúmirigyekbe és a felhám bazális rétegébe, hogy olyan elődsejteket hozzanak létre, amelyek aztán szőrsejteké, faggyúmirigy-sejteké vagy bőrsejteké fejlődnek. (1)

A bazális réteg a felhám két különböző sejtpopulációt tartalmaz. (Fig.2.): (I) a lassan osztódó epidermális őssejteket és (II) az elődsejteket, amelyek gyorsan osztódnak, hogy új sejtekkel pótolhassák a hámlás során elhaltakat. Korlátozott számú osztódás után leválnak az alap membránról, és megkezdődik a differenciálódásuk, amely végén a szaruréteg sejteivé válnak. A legújabb tanulmányok kimutatták, hogy az őssejtek a bazális réteg sejteinek 2-7%-át teszik ki. A tény, hogy a felhámréteg sejteinek megújulása lassú, azért fontos, mert néhány osztódás után elhalnak, és minden osztódás végzetes DNS-mutáció kockázatát hordozza. Az őssejtek elvesztése pedig sokkal károsabb a szövetekre nézve, mint ha már specializálódott sejteket veszítünk el. Az öszülés például annak az eredménye, hogy a melanocita őssejtek a szőrtüszőkben elhalnak (2).



2.) Ábra: A felhám őssejtek továbbítást erősítő sejteket állítanak elő, amelyek aztán alkalmazkodnak a különböző rétegekhez.

Növényi őssejtek és tenyésztésük kultúrákban

A növények szintén rendelkeznek őssejtekkel. Az őssejtek kétfajta populációjából nő ki a növény teste. Az egyik tartalmazza a hajtás apikális osztódó szövetét, a másik pedig a gyökér apikális osztódó szövetét. Az őssejtek fenntartása a növényekben szintén a mikro-környezet jelzéseitől függ, és hasonló epigenetikus hatásoktól, mint az emlősök őssejtjeinél (3). Viszont az emberekkel ellentétben, a kifejlett növények még mindig tartalmaznak totipotens őssejteket, amelyek képesek a növény egészének regenerálására. A növényi szövetkultúra technológiája arra alapul, hogy a növényi őssejtek tenyésztésekor vagy egy teljes növény, vagy szövet, vagy csak egyedi sejtek jönnek létre, amelyekből aztán növényi metabolitokat lehet kinyerni. Ezzel a gyakorlattal steril és ellenőrzött környezetben, évszaktól és más környezeti hatásoktól függetlenül lehet növényi anyagokat előállítani. A növényi szövetkultúrákat csaknem bármilyen növényi szövetből létrehozhatók.

A szövetet, amely a kultúrából létrejön, explantációnak nevezzük. Mint egyfajta sebreakció, az új sejtek az explantáció megsebzett felületén keletkeznek. Ezek a sejtek lassan osztódni kezdenek, hogy aztán a callus-nak nevezett szintelen sejtmasszává formálódjanak. Ezek a sejtek aztán olyan sejtekké alakulnak át, amelyekből hiányoznak a normális növényi sejtek tulajdonságai. A callus őssejtjei összemérhetők az osztódó szövetek sejteivel. A nagy termés érdekében a callus sejteit egyenként is lehet kultúrában vagy folyékony kultúrában, kis sejt számú fűrtökben termesztani.

Kultúrákból származó alma-őssejtek kiváló tárolási tulajdonságokkal

A friss alma a gyönyörű bőr szimbóluma. A kiváló tárolási tulajdonságokkal rendelkező almák hónapokig frissek maradnak. Ezek az almák különösen hosszú élettartamú őssejtekkel kell, hogy rendelkezzenek. Hasznot tudunk húzni ezekből az őssejtekből? Mi lehet egy ilyen hosszú életű őssejtekből álló kivonat hatása a bőrre? A piacon elérhető almák nem jók hosszú tárolásra. Arra természetették őket, hogy édes ízük legyen, és könnyen lehessen termesztani őket. Régebben a jó tárolhatóság legalább ilyen fontos tulajdonság volt a tenyésztés kiválasztásakor. Ezek közül a régi tenyésztetek közül a kevésbé intenzív mezőgazdasági területeken megtalálható még néhány fa. Az Uttwiler Spätklauber olyan almafa, amelyet kifejezetten a jó tárolhatóság érdekében termesztettek (Fig. 3).



3.) Ábra: Elszigetelt Uttwiler Spätklauber fa a zürichi tónál Zimmerberg tartományban

A Spätklauber fajta a tizennyolcadik század közepén ültetett csemetékből származik. Még megtalálható néhány belőlük Svájc egyes területein. Ezeknek a fának az almái alkalmasak arra, hogy szövetexplantációkat nyerjenek ki belőlük őssejt-kultúrákhoz. Sikeresen létesítettek folyékony kultúrákat az Uttwiler Spätklauber őssejtek bioreaktoraiában. Az ezekből kivont sejteket tesztelték és tanulmányok sorozatának vetették alá a bőr és haj öregedésére való hatásuk szempontjából.

Alapanyagok és módszerek

Plant cell cultures

Apples of the Uttwiler Spätklauber variety were used for selection of suitable plant material. Callus induction and sub-cultivation was carried out according to standard protocols.

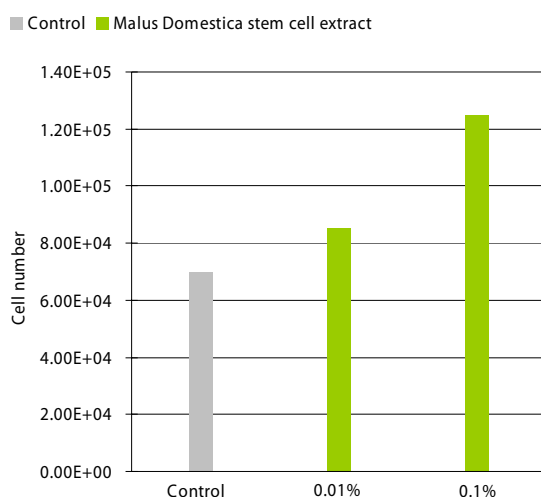
Incorporation of the dedifferentiated cells in an appropriate liquid media, homogenisation of the cells in suspension and continuous characterisation of the cell suspension was also carried out according to standard procedures. For up-scaling, 10% of the next larger culture volume of a fully grown cell suspension was used as inoculum. Production of biomass was done in 50 to 100 l cultures with a special bioreactorsystem (Wave-Biotech AG, Tagelswangen, Switzerland). Cultivation was done at 25°C and an aeration of 0.1 vvm. Biomass production was monitored by analysis of total sugar concentration, conductivity, pH-value and optical density. Production of secondary metabolites was followed by HPLC and UV/VIS analysis.

The extract of Uttwiler Spätklauber stem cells was obtained after lysis of the plant cells using high pressure homogenisation. For preparation of PhytoCellTec™ Malus Domestica, the extract was incorporated into lecithin liposomes. The composition of PhytoCellTec™ Malus Domestica is the following (INCI): Malus Domestica Fruit Cell Culture, Xanthan Gum, Glycerin, Lecithin, Phenoxyethanol and Aqua.

Eredmény és viták

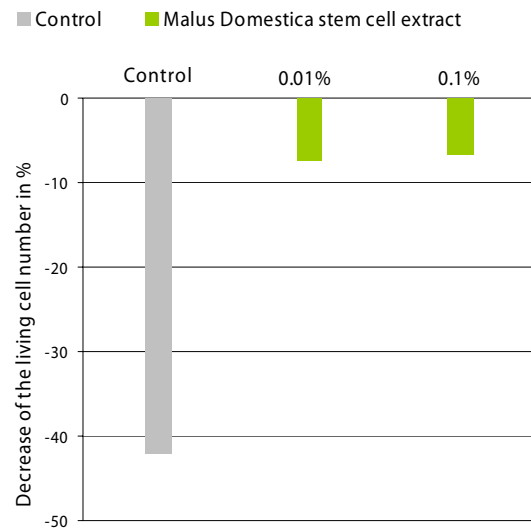
Az emberi őssejtek védelme

A köldökzsínórvér az emberi őssejtek etikailag is elfogadható forrása. Az Uttwiler Spätklauber őssejtjeinek kivonatát két tanulmány is tesztelte életképesség szempontjából köldökzsínórvérből leszedett őssejtekkel. Első esetben a kivonat hatását vizsgálták az emberi őssejtek osztódási aktivitására vonatkozóan. Tiszta, koncentrációtól függő hatást találtak (Fig. 4.). Már 0.1%-nál a kivonat nyolcvan százalékkal serkentette az osztódást. A második kísérletben az őssejteket UV-fénnyel sugározták.



4.) Ábra: Az Uttwiler Spätklauber őssejt-kivonat hatása a köldökzsínórvérből kinyert őssejtek életképességére.

Azon őssejteknek, amelyeket normál kultúrában neveltek, majdnem ötven százaléka elhalt, míg az Uttwiler Spätklauber kultúrában nevelt őssejtek csak kis százalékban veszítettek életképességükből.



5.) Ábra: Az Uttwiler Spätklauber őssejt-kivonat megvédi a köldökzsínórvérből kinyert őssejteket az UV-sugárzással szemben

A kötőszöveti sejtekben az öregedés jeleinek visszafordítása

Az öregedés természetes folyamat, amely, körülbelül ötven osztódás után leállítja a sejtek azon képességét, hogy további osztódásokon menjenek keresztül. Az öregedés a sejtek korábbi életkorában is megtörténhet, például a sejt-DNS károsodásának hatására. A korai öregedés különösen káros, ha az őssejteket támadja meg, mert ezek pótolhatatlanok a szövetek regenerációjához. Nemrégiben a kötőszövetek sejtjein alapuló sejtmodellt állítottak fel a korai öregedésre. Két óráig H₂O₂ kezelés után a sejtek az öregedés tipikus jeleit mutatták. Ezt a modellt használták, hogy az Uttwiler Spätklauber őssejtek kivonatának öregedést gátló hatását bizonyítsák. A H₂O₂ kezelés után a kötőszöveti sejteket 2%-os kivonatba helyezték 144 órára. Aztán a génképet cDNA sorrendszerezéssel elemezték 150 teszten keresztül, melyek a sejt-növekedéshez, jelzésekhez, öregedéshez és elhaláshoz kapcsolódtak. A génképet aztán összehasonlították a sejtekkel, amelyeket csak a kultúrában tároltak a H₂O₂ kezelés után.

A kontrollcsoport kultúrájában számos gén, melyek a sejtosztódás vagy a sejt-növekedés ösztönzése szempontjából voltak fontosak, alulszabályozottnak bizonyultak a H₂O₂ kezelés után (Táblázat 1).

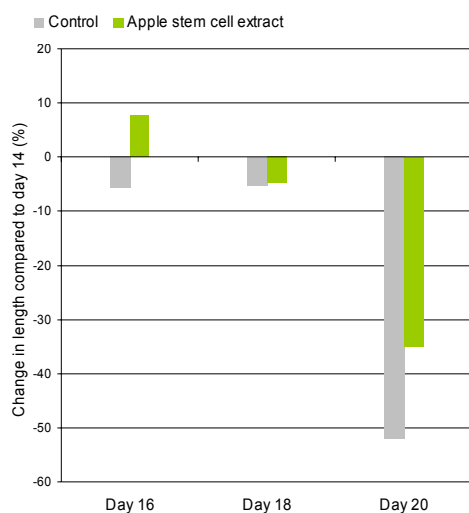
Az Uttwiler Spätklauber kivonatban tárolt őssejtek semlegesítették ezt az alulszabályozottságot, sőt, akár felülszabályozott hatást váltottak ki. A kivonat serkentette egy fontos antioxidáns enzim kibocsátását, a heme oxigenase 1-ét, amely kiválasztása nem lett gyakoribb a kontrollkultúrában.

Gen	After H ₂ O ₂ Control	After H ₂ O ₂ + 2% Malus Domestica stem cell extract
cyclin B1: induces proliferation	73 ↓	130 ↑
cyclin E1: tumor inducer	78 ↓	135 ↑
p53: tumor suppressor gene	63 ↓	137 ↑
insulin-like growth factor II: cell proliferation enhancer	71 ↓	117 ↑
heme oxygenase 1: antioxidans enzyme	89 ↓	211 ↑

1.) Táblázat: Az Uttwiler Spätlauber őssejt-kivonat hatása a kötőszöveti sejtek génképére a H₂O₂ kezelés után.

Az öregedés visszafordítása elkülönített szőrtüszőkben

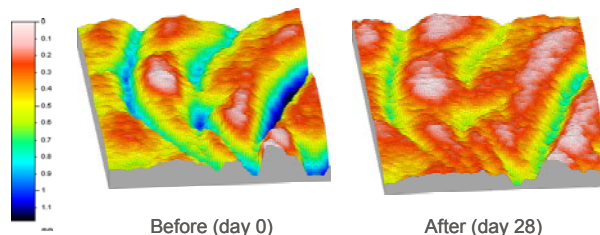
Az emberi szőrtüszőket el lehet különíteni olyan bőrrészletekből, amelyek ráncfelvarró műtétek után maradtak vissza. Csak az anagén fázisban lévő tüszőket gyűjtik be. A szőrtüszők olyan apró szervek, amelyek természetes modelljét képviselik a felhám és melanocita őssejteknek és differenciált sejteknek. A tüszőket közepes kifejelettség esetén körülbelül tizen-négy napig lehet életben tartani. Aztán fokozatosan elöregednek a sejtek, vagy apoptózison mennek át, ami egy előre programozott sejthalál. A vérkeringés hiánya miatt az elkülönített szőrtüszők nem maradnak életben hosszabb ideig. Viszont remek tesztmodellek olyan hatóanyagok megfigyelésére, amelyek a nekrozis folyamatát késleltetik. 0,2%-os Uttwiler Spätlauber őssejt-kivonat alig, de kimutathatóan késleltette az öregedést és az apoptózis okozta elhalást. A 6. ábra azt mutatja, hogy a tüszők, melyeket az Uttwiler Spätlauber őssejt-kivonatban tartottak, 18 napig is folytatták a növekedést, míg a kontrolltüszők a tizennegyedik nap után zsugorodni kezdtek.



6.) Ábra: Az Uttwiler Spätlauber őssejt-kivonat meghosszabbítja az elkülönített szőrtüszők élettartamát.

Ránctalanító hatás a szemkörnyéken

A PhytoCellTec Malus Domestica ránctalanító hatékonyságát négy héten át tartó, húsz alanyon végzett teszttel bizonyították. Két százalék PhytoCellTec™ Malus Domesticát tartalmazó krémmel kezelték naponta kétszer a szemkörnyéki ráncokat. A ráncok mélységét PRIMOS rendszerrel vizsgálták a második és a negyedik hét után. Digitális fényképeket készítettek a szemkörnyékről a tanulmány elején és végén. A PhytoCellTec™ Malus Domestica krém jelentősen csökkentette a ráncok mélységét, nyolc százalékkal a második, és tizenöt százalékkal a negyedik hét után. A hatást remekül megmutatták a háromdimenziós fényképek. Egy ilyen látható a 7. ábrán.



7.) Ábra: 3 dimenziós képanalízis a szemkörnyékről a 2 % PhytoCellTec™ Malus Domestica krém alkalmazása előtt és után.

Következtetések

Az őssejtek a bőr legfontosabb sejtjei. A felhám folyamatos regenerációjának, az új szőr és haj illetve pigmentjeik képződésének forrásai. Az őssejtek csökkent életképessége és a korai öregedése vagy apoptózisa a szövetek öregedésének elsődleges oka. Az ebben a cikkben közölt eredmények rámutatnak, hogy az Uttwiler Spätlauber őssejt-kivonat pozitívan befolyásolja az életképességet és az öregedésnek vagy apoptózisnak való ellenállást az emberi őssejteknel. Így a növényi őssejt-kivonat hozzájárul a bőr és a haj regenerációjához, és késlelteti a bőr öregedésének jeleit. A pontos mechanizmus még nem ismert. De az Uttwiler-Spätlauber almák, melyek rendkívül hosszú ideig maradnak frissek, speciális epigenetikus profillal rendelkező őssejteket tartalmazhatnak. Úgy látszik, hogy ezek az epigenetikus összetevők pozitív hatással vannak az emberi őssejtekre.

Források

- (1) Barthel R. & Aberdam D. (2005) Epidermal stem cells. Journal of European Academy of Dermatology and Venereology 19:405-13
- (2) Nishimura E.K., Granter S.R. & Fisher D.E. (2005) Mechanisms of Hair Graying: Incomplete Melanocyte Stem Cell Maintenance in the Niche. Science 307:720-4
- (3) Byrne M.E., Kidner C.A. & Martienssen R.A. (2003) Plant stem cells: divergent pathways and common themes in shoots and roots. Current Opinion in Genetics & Development 13:551-7