



BIULETYN
Wydziału Farmaceutycznego
Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego

Biul. Wydz. Farm. WUM, 2019, 7, 36-42
<http://biuletynfarmacji.wum.edu.pl/>

ROŚLINNE KOMÓRKI MACIERZYZYSTE I ICH ZASTOSOWANIE W KOSMETOLOGII I MEDYCYNIE REGENERACYJNEJ

Anna Szymanowska^{1*}, Agnieszka Gornowicz¹, Anna Bielawska¹, Krzysztof Bielawski²

¹Zakład Biotechnologii, Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej, Uniwersytet Medyczny w Białymstoku, ul. Jana Kilińskiego 1, 15-089 Białystok

²Zakład Syntezy i Technologii Środków Leczniczych, Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej, Uniwersytet Medyczny w Białymstoku, ul. Jana Kilińskiego 1, 15-089 Białystok

*autorka korespondująca, tel: + 48 85 748 5740, e-mail: anna.szymanowska@umb.edu.pl

Otrzymany 14.02.2019, zaakceptowany 07.06.2019, zamieszczony 28.06.2019

STRESZCZENIE

Pośród wszystkich komórek organizmu, komórki macierzyste wykazują wyjątkowe właściwości. Zdolne są zarówno do samoodtwarzania się przez nieograniczony czas, jak i różnicowania się w wyspecjalizowane typy komórek. Większość preparatów i produktów kosmetycznych zawierających w swoim składzie roślinne komórki macierzyste, w rzeczywistości zawiera ekstrakty z komórek macierzystych. Ekstrakty z komórek macierzystych nie są już żywymi komórkami, a właściwości takich preparatów kosmetycznych związane są z zawartością w nich wtórnych metabolitów o działaniu antyoksydacyjnym, przeciwstarzeniowym oraz pobudzającym regenerację skóry. Artykuł omawia wybrane przykłady zastosowania roślinnych komórek macierzystych w kosmologii i medycynie regeneracyjnej.

SŁOWA KLUCZOWE: roślinne komórki macierzyste, ekstrakty komórek macierzystych, ekspresja genów.

ABSTRACT

PLANT STEM CELLS AND THEIR APPLICATION IN COSMETOLOGY AND REGENERATIVE MEDICINE

Among all cells, stem cells show unique properties. They are able to self-renew for an unlimited time and differentiate into specialized cells. Most of the cosmetic products describing the presence of plant stem cells in their composition actually contain extracts from stem cells. Stem cells extracts are not alive cells and the properties of the cosmetics products are related to content of secondary metabolites of these cells, which have antioxidant, anti-aging, and skin regeneration stimulating activity. The article discusses selected examples of the use of plant stem cells in cosmetology and regenerative medicine.

KEYWORDS: plant stem cells, stem cells extracts, gene expression.

1. Wstęp

Komórki macierzyste wyróżnia zdolność do samoodtwarzania się przez nieograniczony czas, jak i zdolność różnicowania się w wyspecjalizowane typy komórek. Można je podzielić na totipotencjalne, pluripotencjalne, multipotencjalne i unipotencjalne. Biorąc pod uwagę pochodzenie klasyfikuje się je na komórki macierzyste roślinne i zwierzęce. Dodatkowo macierzyste komórki zwierząt można pogrupować na zarodkowe, płodowe i somatyczne komórki macierzyste. Komórki somatyczne po zakończeniu rozwoju embrionalnego są w stanie różnicować się tylko w jeden typ komórek, czyli wykazują charakter unipotencjalny. W przeciwieństwie do nich macierzyste komórki roślin zachowują charakter totipotencjalny przez cały okres życia, dzięki czemu roślina może rosnąć i wytwarzać nowe organy [1,2].

Najczęściej wykorzystywanym modelem doświadczalnym w badaniach mechanizmów wpływających na funkcjonowanie komórek macierzystych jest gatunek *Arabidopsis thaliana*, czyli rzodkiewnik pospolity. Jest to niewielka roślina zielna należąca do klasy okrytonasiennych, rodziny *Brassicaceae* (kapustowatych). Dzięki wieloletniej pracy naukowców znana jest sekwencja całego genomu rośliny, co przekłada się na jej szerokie zastosowanie w badaniach naukowych [3].

2. Roślinne komórki macierzyste

Komórki macierzyste roślin zlokalizowane są w ściśle określonych obszarach, tzw. merystemach. Stanowią one populację małych, izodiametrycznych komórek o cechach embrionalnych. Merystemy odpowiadają za odbudowę części lub całej rośliny, a także posiadają zdolność do samoodnawiania własnej populacji. Zachowują one swoje funkcje przez całe życie, co w przypadku drzew może trwać tysiące lat. Merystemy można podzielić ze względu na pochodzenie na pierwotne i wtórne. Do pierwszej grupy zalicza się merystem wierzchołkowy pędu - SAM (ang. *Shoot Apical Meristem*), merystem wierzchołkowy korzenia - RAM (ang. *Root Apical Meristem*), merystem interkalarny - IM (ang. *Intercalary Meristem*) i merystem kwiatowy - FM (ang. *Floral Meristem*). Wśród merystemów wtórnych wyróżnia się kambium, fellogen i tkankę przyranną - kalus. W całym cyklu życiowym rośliny zachowana jest równowaga pomiędzy ilością komórek różnicujących się i dzielących, dzięki czemu merystem zachowuje swój kształt i rozmiar, pomimo zużywania części komórek do wytwarzania zawiązków rośliny. Zablokowanie procesu różnicowania się komórek prowadzi do rozrostu merystemu, a z kolei zahamowanie podziałów komórkowych może skutkować zmniejszeniem rozmiarów merystemu [4,5].

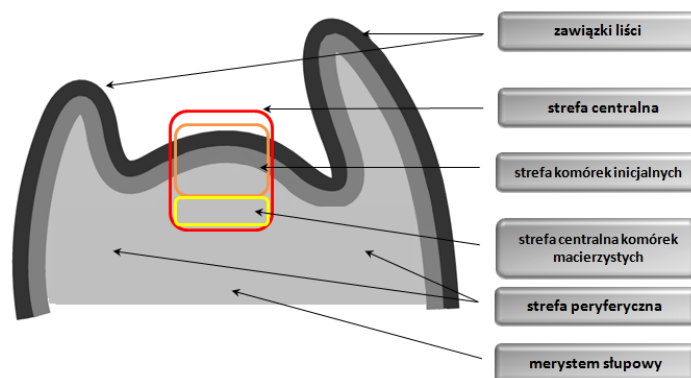
W szczytowej części rośliny zlokalizowany jest wierzchołek pędu, który stanowi zakończenie głównej osi lub odgałębienia pędu bocznego. W części końcowej wierzchołka znajduje się merystem apikalny pędu mający charakter embrionalny, niekiedy otoczony i zakryty niedojrzałymi liśćmi. Podstawową funkcją merystemu jest wytwarzanie nadziemnych części rośliny, takich jak liście, pączki kwiatowe i pędy boczne. Zwykle SAM zbudowany jest z sepek, a nawet tysięcy komórek przy czym merystem gatunku *Arabidopsis thaliana* składa się tylko z sześćdziesięciu komórek [5,6]. Merystem wierzchołkowy pędu roślin okrytonasiennych składa się z dwóch części: tuniki i korpusu. Korpus otoczony jest przez jedną lub więcej warstw tuniki. Komórki tuniki dzielą się antyklinalnie, z kolei komórki korpusu mogą dzielić się zarówno antyklinalnie, peryklinalnie, jak i ukośnie [7]. Schemat struktury wewnętrznej SAM pierwszy raz został przedstawiony przez Foster'a. W modelu tym wyróżnia się: strefę centralną komórek macierzystych, strefę komórek inicjalnych i strefę peryferyczną, co zostało przedstawione na ryc. 1 [5].

Pierwsze dwie strefy określane są jako strefa centralna. Pod nią zlokalizowany jest merystem słupowy. Komórki strefy centralnej komórek macierzystych są silniej zwakuolizowane, posiadają mniejsze jąderka, grubsze ściany komórkowe i w porównaniu do komórek pozostałych stref są większe. W tej strefie liczba podziałów mitotycznych jest mniejsza w porównaniu do strefy peryferycznej [5].

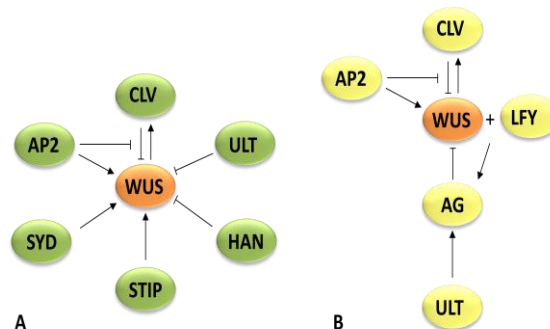
Prawidłowe funkcjonowanie SAM wymaga zróżnicowanych mechanizmów na poziomie molekularnym, komórkowym i pozakomórkowym. Istotną rolę w procesie kształtowania merystemu wierzchołkowego pędu odgrywa gen *STM* (*SHOOT MERISTEMLESS*). Jego ekspresja występuje w stadium zarodkowym. Brak aktywności tego genu prowadzi do zahamowania podziałów komórkowych, a w konsekwencji

może spowodować niewykształcenie merystemu przy równoczesnym zachowaniu prawidłowego rozwoju pozostałych części zarodka rośliny [9]. W roku 1999 grupa naukowców z Japonii wykazała, że do prawidłowej ekspresji genu *STM* niezbędna jest ekspresja genu *CUC* (*CUP-SHAPED COTYLEDON*) odpowiedzialnego za formowanie organów roślinnych [10].

W prawidłowym rozwoju merystemu wierzchołkowego pędu bierze udział szereg genów m.in.: *WUS* (*WUSCHEL*) i *CLV 1,2,3* (*CLAVATA 1,2,3*). Pierwszy z nich odpowiada za zainicjowanie podziałów komórkowych w merystemie wierzchołkowym pędu, natomiast geny *CLV 1,2,3* odpowiadają za pobudzenie wytwarzania organów [11]. Ogromną rolę w regulacji samoodtworzenia merystemu apikalnego pędu odgrywa korelacja pomiędzy tymi genami. Ma ona charakter sprzężenia zwrotnego. *WUS* aktywuje *CLV3*, który wiąże się z *CLV1* i *CLV2*, a to prowadzi do zahamowania ekspresji *WUS*. Za właściwą organizację SAM odpowiadają także białka, *SYD* (*SPLAYED*) i *AP2* (*APETALA2*). *SYD* aktywuje ekspresję genu *WUS*. Gen *AP2* lub czynnik regulowany przez *AP2* hamuje sygnał *CLV-WUS*, jednocześnie pobudzając ekspresję *WUS*. Dane te sugerują, że *AP2* działa antagonistycznie w stosunku do *CLV3* i *AG* (*AGAMOUS*), które hamują ekspresję *WUS* w merystemie kwiatowym. Ostatnie lata badań, wskazują, że na ekspresję genu *WUS* bezpośrednio mogą oddziaływać także produkty dwóch innych genów: *HAN* (*HANABA TARANU*) i *ULT* (*ULTRAPETALA*). Oba geny hamują transkrypcję *WUS*. W zawiązku kwiatu ekspresja *WUS* dodatkowo hamowana jest przez *AG*. Przy czym *WUS* i *LFY* (*LEAFY*) stymulują ekspresję genu *AG* [5,6,12,13]. Regulacja ekspresji genów w merystemie apikalnym pędu i merystemie kwiatowym została zaprezentowana na ryc. 2.



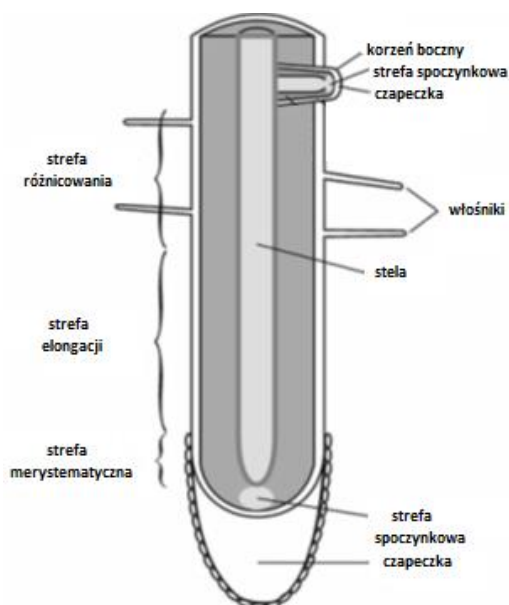
Ryc. 1. Schemat merystemu wierzchołkowego pędu [8].



Ryc. 2. Regulacja ekspresji genów w merystemie apikalnym pędu (A) i merystemie kwiatowym (B) [5].

Przemiany genetyczne, subkomórkowe, komórkowe i hormonalne w merystemie wierzchołkowym pędu prowadzą do przeorganizowania SAM w kierunku tworzenia zawiązków kwiatów lub kwiatostanu. U gatunku *A. thaliana* zmiana merystemu wegetatywnego na merystem kwiatowy związana jest ze wzrostem ekspresji genów: *SOC1* (*SUPPRESSOR OF OVEREXPRESSION OF CONSTANS1*), *SVP* (*SHORT VEGETATIVE PHASE*), *AGL24* (*AGAMOUS LIKE 24*), a wytwarzanie merystemu kwiatowego jest pobudzone przez geny *LFY* (*LEAFY*), *AP1* (*APETALA1*) i *CAL* (*CAULIFLOWER*). Merystem kwiatowy daje początek nowym bocznym merystemom, a działanie merystemu kwiatowego kończy się wraz z procesem wykształcenia kwiatów [14].

Korzeń można podzielić na trzy główne strefy: strefę merystematyczną zlokalizowaną na szczycie korzenia, zawierającą niszę komórek macierzystych, strefę elongacji zawierającą komórki, które opuściły w wyniku podziałów strefę merystematyczną, i strefę różnicowania zawierającą komórki, które osiągnęły końcowe stadium [15]. Strefy te zostały przedstawione na ryc. 3.



Ryc. 3. Schemat budowy korzenia [1].

Strefa merystematyczna chroniona jest czapeczką. U gatunku *Arabidopsis* ma około 0,25 milimetra długości. Strefa merystematyczna posiada zdolność wykształcenia korzenia podstawowego, przy jednoczesnym braku możliwości wytwarzania korzeni bocznych. Większość podziałów komórkowych w wierzchołku korzenia jest poprzeczna lub antyklinalna, co prowadzi do wzrostu korzenia na długość. Podziały komórkowe wszystkich komórek nie zachodzą w tym samym tempie. Zazwyczaj podziały komórek centralnej strefy spoczynkowej są znacznie wolniejsze od podziałów komórek otaczających. Komórki te są odporne na promieniowanie, a także uszkodzenia chemiczne. Merystemy wierzchołkowe korzeni roślin nasiennych zawierają kilka typów komórek macierzystych, podczas gdy w prymitywnych roślinach naczyniowych znajduje się pojedyncza komórka macierzysta. W strefie elongacji komórki znacznie zwiększają swoją długość. W tej strefie nadal mogą występować podziały, ale ich liczba wraz ze wzrostem odległości od merystemu zmniejsza się do zera. Strefa różnicowania jest obszarem, w którym komórki osiągają charakterystyczne cechy dla poszczególnych tkanek. Komórki prze-

chodzą do tej strefy po zakończeniu podziałów i procesu wydłużania. Chociaż komórki mogą zacząć proces różnicowania wcześniej, jednak dopiero w tej strefie osiągają stadium końcowe. W poprzecznej strukturze korzenia można wyróżnić warstwy: tkankę przewodzącą, perycykl, endodermę, korę pierwotną i epidermę. Podziały komórek w perycyklu prowadzą do powstania merystemów wtórnych, które wyrastają przez korę i skórę [1,6,16].

Kalus, inaczej merystem przyrany, powstaje w miejscu zranienia rośliny i odpowiada za zasklepienie uszkodzonego miejsca. Najczęściej różnicuje się z komórek kambium, jednak jeżeli uszkodzenie nie dochodzi do kambium, wówczas żywe zróżnicowane komórki przylegające do miejsca zranienia ulegają odróżnicowaniu i stają się merystematyczne, wytwarzając tkankę kalusową [17]. Proces formowania kalusa jest jednym z etapów embriogenezy somatycznej, tzn. tworzenia zygoty bez zapłodnienia. Komórki odróżnicowują się i przekształcają się w komórki macierzyste mające zdolność odtworzenia nowej tkanki, a nawet całej rośliny. Hodowla kalusa wykorzystywana jest w produkcji kosmetyków z dodatkiem ekstraktów z komórek macierzystych roślin [18].

3. Ekstrakty roślinnych komórek macierzystych

Większość preparatów i produktów kosmetycznych posiadających w swoim składzie roślinne komórki macierzyste w rzeczywistości zawiera ekstrakty z komórek macierzystych. Komórki macierzyste i ekstrakty nie wykazują takich samych właściwości. Ekstrakty z komórek macierzystych nie są żywymi komórkami, a właściwości preparatów kosmetycznych związane są z zawartością w nich wtórnych metabolitów o działaniu antyoksydacyjnym, przeciwstarzeniowym oraz pobudzającym regenerację skóry. Wtórne metabolity są niezbędne dla przetrwania rośliny, lecz nie są konieczne do jej prawidłowego wzrostu. Zawartość aktywnych metabolitów jest uzależniona od pochodzenia rośliny, lokalizacji, pory roku, w której jest pozyskiwana, a także warunków środowiska. Dlatego też w celu ujednoczenia zawartości substancji czynnych prowadzi się produkcję komórek macierzystych w specjalnych bioreaktorach. Wyhodowane w warunkach laboratoryjnych komórki macierzyste są bogate w aktywne metabolity [18-20]. Ekstrakty z komórek macierzystych roślin są doskonałym źródłem dobrze znanych związków przeciwutleniających, m.in.: polifenoli, kwasów fenolowych, flawonoidów, triterpenów, a także karotenoidów, które wykazują działanie antyoksydacyjne, a tym samym przeciwstarzeniowe. Hodowla komórek macierzystych w warunkach laboratoryjnych pozwala na przygotowanie ekstraktów bogatych w pożądane związki. Kultury roślinne bardzo często nie zawierają wysokich zawartości metabolitów wtórnych. W wielu przypadkach zawartość związków aktywnych można zwiększyć przez działanie na niezróżnicowaną hodowlę komórkową elicytorami, czyli czynnikami indukującymi biochemiczne reakcje obronne roślin [21,22]. Można wyróżnić elicytory biotyczne i abiotyczne. Do pierwszej grupy zaliczamy składniki budulcowe ścian komórkowych grzybów, glonów, bakterii. Wśród elicytorów abiotycznych można wyróżnić czynniki fizyczne, takie jak: promieniowanie UV, wysokie zasolenie, susza, stres osmotyczny, stres termiczny, oraz chemiczne, do których zaliczamy sole mineralne lub toksyny roślinne. Elicytorami są także cząsteczki sygnałowe, wytwarzane przez rośliny, biorące udział w przekazywaniu sygnałów, do których należą m.in. kwas jasmonowy czy kwas salicylowy.

Mechanizm działania elicytorów nie jest całkowicie poznany. Przyjmuje się, że pod ich wpływem następuje aktywacja szlaków metabolizmu wtórnego prowadząca do powstania związków warunkujących przetrwanie rośliny w warunkach stresowych. Na skuteczność procesu ma wpływ nie tylko wybór właściwego elicytora, jego stężenie, faza rozwoju w której zostanie dodany, ale także warunki hodowli, gatunek rośliny, rodzaj kultury, czy też wybrana linia komórkowa.

4. Technologia wytwarzania ekstraktów z roślinnych komórek macierzystych

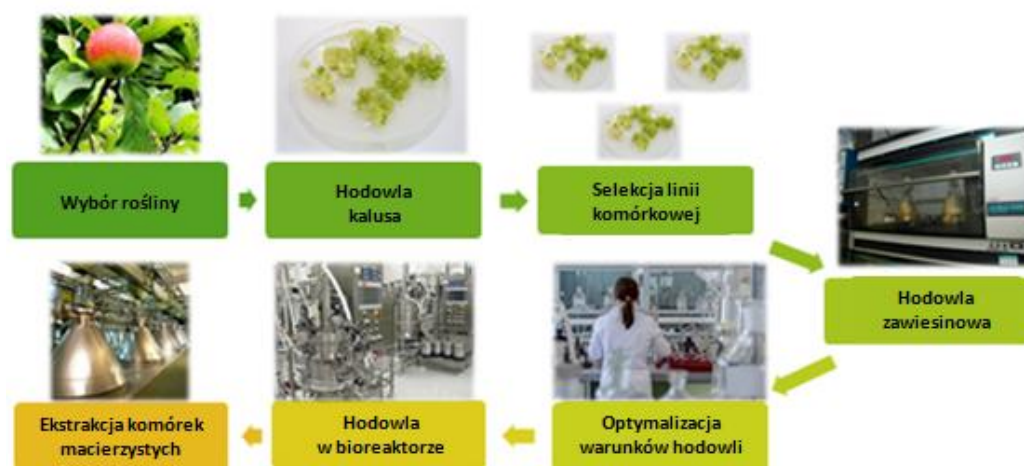
Pierwszy etap w produkcji komórek macierzystych stanowi wybór rośliny. Najczęściej wykorzystywane są odmiany wykazujące unikatowe właściwości: np. rośliny, których owoce zachowują długo świeżość (ekstrakty ze szwajcarskiej odmiany jabłoni *Uttwiler Spätlauber*), rośliny występujące w trudnych warunkach przyrodniczych (ekstrakty z różanecznika alpejskiego *Rhododendron ferrugineum*) lub rośliny wykorzystywane w medycynie ludowej (np. ekstrakty z jeżówki wąskolistnej *Echinacea angustifolia*). Hodowlę tkanek roślinnych można rozpocząć praktycznie z każdej części rośliny. Pozyskany materiał roślinny jest sterylizowany w celu usunięcia mikroorganizmów, które mogłyby zanieczyścić lub zahamować rozwój hodowli. Tak oczyszczony materiał jest cięty na mniejsze fragmenty tzw. eksplantaty, które umieszcza się na płytkach Petriego w stałym medium o określonym składzie pozbawionym antybiotyków. Kolejnym etapem jest wyselekcjonowanie linii komórek o najbardziej pożądanym cechach biochemicznych i metabolicznych. Wybraną hodowlę zawieszają w szklanych naczyniach o niewielkiej objętości w medium zapewniającym optymalny przyrost biomasy. Po założeniu hodowli zawieszinowej w warunkach *in vitro* i wyselekcjonowaniu linii komórkowej można rozpocząć produkcję przemysłową. Kultury zawieszinowe przenoszone są do bioreaktorów o pojemności sięgającej nawet kilkudziesięciu tysięcy litrów. Hodowlę w bioreaktorze prowadzi się na podłożu hodowlanym bogatym w składniki sprzyjające przyrostowi biomasy (makro- i mikroelementy, witaminy, regulatory wzrostu np. auksyny i cytokiny). Biomasa komórek macierzystych uzyskanych z bioreaktora poddaje się działaniu wysokiego ci-

śnienia i enzymów. Tak uzyskaną zawiesinę zawierającą cytoplazmę, organella komórkowe, resztki komórek i metabolity wtórne ekstrahuje się, zaś uzyskane homogenaty wykorzystuje się jako składniki kosmetyków lub preparatów medycznych [23]. Schemat procesu produkcji z wykorzystaniem hodowli kalusa został przedstawiony na ryc. 4.

Obecnie coraz częściej prowadzone są kokultury, w których w jednym naczyniu hodowlanym prowadzona jest hodowla dwóch gatunków roślin lub dwóch typów kultur jednego gatunku. Metabolity jednej z kultur mogą stanowić substraty do biosyntezy metabolitów przez drugą kulturę. W celu zwiększenia zawartości metabolitów wtórnych hodowlę prowadzi się w ściśle określonych warunkach, dobierając skład podłoża hodowlanego, warunki oświetlenia, temperaturę, stopień wilgotności powietrza itd. [24].

Ekstrakty uzyskiwane w wyniku hodowli komórek macierzystych są wolne od patogenów, zanieczyszczeń, pozostałości środków ochrony roślin, a także nie zawierają związków o potencjalnym działaniu toksycznym lub alergicznym. Przykładem jest produkcja bezpiecznych dla ochrony skóry związków zawartych w ekstrakcie z pomidora (*Lycopersicon esculentum*). Ekstrakt bogaty jest w kwasy fenolowe, flawonoidy, fitochelatyny, dzięki którym wykazuje korzystny wpływ na skórę. Chroni on przed stresem oksydacyjnym, pobudza syntezę kolagenu, a także pełni funkcję protekcyjną przed bezpośrednim wpływem metali ciężkich na skórę. Analizy biochemiczne ekstraktu wskazują na brak alkaloidów, takich jak alfa-tomatina i dehydrotomatina, które bardzo często odpowiadają za reakcje alergiczne skóry [25].

Metabolity wtórne roślin mogą wpływać na interakcje promieniowania ultrafioletowego ze skórą poprzez pochłanianie światła UV-A i UV-B, hamowanie wywołanych promieniowaniem UV reakcji wolnych rodników w komórkach skóry, ochronę naturalnych antyoksydantów na powierzchni skóry, łagodzenie odpowiedzi zapalnych w keratynocytach, modulowanie nadmiernego metabolizmu i proliferacji wywołanych przez promieniowanie UV, oraz ostabienie immunosupresji indukowanej przez promieniowanie UV [26].



Ryc. 4. Proces produkcji ekstraktów z komórek macierzystych roślin z wykorzystaniem hodowli kalusa [23].

5. Zastosowanie ekstraktów z komórek macierzystych roślin

W wyniku produkcji kultur komórek roślinnych można uzyskać ekstrakty o zwiększonej zawartości metabolitów wtórnych, w stężeniach, które nie byłyby możliwe do uzyskania metodami tradycyjnymi. W tym celu wykorzystywane są bioreaktory, które zapewniają najlepsze warunki pobudzenia do produkcji odpowiednich związków lub klasy związków. Tą metodą uzyskiwany jest resweratrol z *Vitis vinifera*. Tradycyjne metody ekstrakcji trans-resweratrolu z winogron są czasochłonne i drogie [27,28]. W tabeli 1 przedstawiono wpływ niektórych ekstraktów z komórek macierzystych na komórki skóry ludzkiej [29].

Jednym z pionierów w przemysłowym otrzymaniu ekstraktów roślinnych komórek macierzystych jest szwajcarska firma Mibelle AG Biochemistry. Firma opracowała nową technologię hodowli komórek roślinnych - PhytoCellTec, która umożliwia hodowlę komórek kalusa z rzadkich i chronionych gatunków roślin. W 2008 roku firma zarejestrowała pierwszy liposomalny preparat PhytoCellTec Malus

Domestica zawierający ekstrakt komórek macierzystych pochodzący z rzadkiej odmiany szwajcarskiej jabłoni *Uttwiler Spätlauber* o następującym składzie: ekstrakt komórek szwajcarskiej jabłoni w stężeniu 9%, fosfolipidy 0,14%, glicerol 0,4%, fenoksyetanol 1,4%, ketrol T 1%. Producent zaleca stosowanie go jako dodatek do kosmetyków w stężeniu od 2 do 5% [31]. W kolejnych latach na rynku pojawiły się kolejne preparaty: PhytoCellTec Argan, PhytoCellTec Alp Rose i PhytoCellTec Solaris Vitis w postaci proszków, które dodawane są do kosmetyków [32]. Działanie poszczególnych preparatów zostało przedstawione w tabeli 2.

Na rynku kosmetycznym istnieje wiele innych firm sprzedających ekstrakty z komórek macierzystych, takich jak Naolys (Francja), Active Concept LLC (USA), Akott Evolution S.R.L. (Włochy), Biocosmethic (Francja), Infinitec (Hiszpania), Innova BM (Bułgaria), In vitro Plant-tech AB (Szwecja), Sederma (Wielka Brytania), Provital Group (Hiszpania) i Vitalab (Włochy) [23].

Tabela 1. Efekt działania wybranych ekstraktów z komórek macierzystych na skórę [23,30].

Gatunek rośliny z której pozyskiwany jest ekstrakt komórek macierzystych	Działanie
<i>Apium graveolens</i>	regeneracyjne
<i>Camellia sinensis</i>	antyoksydacyjne, przeciwzapalne
<i>Citrus aurantium dulcis</i>	przeciwstarzeniowe
<i>Cucumis sativus</i>	nawilżające
<i>Daucus carota</i>	antyoksydacyjne, nawilżające
<i>Dolichos biflorus</i>	przeciwzapalne, ochronne przed promieniowaniem UV
<i>Echinacea angustifolia</i>	pobudza syntezę kolagenu, zmniejsza przepuszczalność naczyń krwionośnych
<i>Gardenia taitensis</i>	przeciwstarzeniowe, przeciwzmarszczkowe, regeneracyjne
<i>Ginkgo biloba</i>	antyoksydacyjne, przeciwzapalne
<i>Gossypium herbaceum</i>	przeciwfotostarzeniowe, detoksykacyjne, ochronne przed stresem oksydacyjnym
<i>Ipomoea purpurea</i>	przeciwzapalne, przeciwzmarszczkowe, antyoksydacyjne, wspomaga regenerację skóry
<i>Lycopersicon esculentum</i>	wzrost syntezy kolagenu
<i>Orchis spp.</i>	regeneracyjne, nawilżające
<i>Oryza sativa</i>	antyoksydacyjne, przeciwzapalne, wyrównujące koloryt skóry
<i>Panax ginseng</i>	regeneracyjne, przeciwstarzeniowe
<i>Polianthes tuberosa</i>	przeciwstarzeniowe, przeciwzmarszczkowe
<i>Quercus alba</i>	antyoksydacyjne, przeciwbakteryjne, przeciwstarzeniowe
<i>Rhodiola rosea</i>	przeciwzapalne, antyoksydacyjne
<i>Rosa damascena</i>	przeciwstarzeniowe, poprawia witalność skóry, wzmacnia procesy regeneracyjne skóry
<i>Rubus idaeus</i>	przeciwzapalne
<i>Silybum marianum</i>	antyoksydacyjne
<i>Solanum lycopersicum</i>	nawilżające
<i>Taxus cuspidata</i>	przeciwnowotworowe
<i>Vaccinium vitis-idaea</i>	przeciwstarzeniowe, przeciwzmarszczkowe
<i>Vitis vinifera</i>	detoksykacyjne

Tabela 2. Działanie wybranych ekstraktów z komórek macierzystych firmy Mibelle.

Gatunek rośliny z której pozyskiwane są ekstrakty z komórek macierzystych	Działanie preparatu zawierającego PhytoCellTec	Źródło
<i>Malus domestica (Uttwiler Spätlauber)</i>	odwrócenie oznak starzenia (np. zmniejszenie głębokości zmarszczek)	[33]
<i>Vitis vinifera</i>	przeciwstarzeniowe; ochronne przed UVA i UVB	[34]
<i>Rhododendron ferrugineum</i>	przeciwstarzeniowe; ochronne przed UVA i UVB	[35]
<i>Argania spinosa</i>	przeciwstarzeniowe; przeciwzmarszczkowe; antycellulitowe	[36]

6. Perspektywa wykorzystania

Trwają próby wykorzystania roślinnych komórek macierzystych w medycynie regeneracyjnej w leczeniu ran. Rany stanowią anatomiczne, fizjologiczne i funkcjonalne przerwanie integralności tkanek ciała. Proces gojenia jest niezwykle złożony. Ze względu na czas gojenia rany można podzielić na ostre i przewlekłe. Te pierwsze goją się stosunkowo szybko, do 7 dni przy prawidłowej pielęgnacji uszkodzenia. W leczeniu tych ran stosowane są środki dezynfekujące i dodatkowo ranę zabezpiecza się opatrunkiem. Rany przewlekłe, pomimo stosowania standardowych metod pielęgnacji ran ostrych, nie goją się. Leczenie ran przewlekłych może trwać miesiące, lata, a w skrajnych przypadkach kończy się niepowodzeniem. Podstawową metodą leczenia tych ran jest chirurgiczne oczyszczanie rany i zastosowanie preparatów odkażających i przyspieszających autolizę. Proces oczyszczania rany może być wspomagany przez wykorzystanie larw much gatunku *Lucilia sericata*. Czerwiec te żywią się bakteriami i martwą tkanką, przez co oczyszczają i odkażają ranę, a także pobudzają naturalne procesy gojenia rany. Innym sposobem na oczyszczanie ran jest zastosowanie terapii podciśnieniem. Obecnie trwają intensywne badania z wykorzystaniem ekstraktów roślinnych w leczeniu ran [37].

Zespół badawczy pod przewodnictwem Hoomin Lee w 2017 roku ocenił wpływ kalusowego ekstraktu z ryżu siewnego na proces gojenia ran. Ryż siewny (*Oryza sativa L.*) jest to jednoroczna roślina zbożowa z rodziny wiechlinowatych (*Poaceae*) [38]. W badaniach wykorzystano różne metody ekstrakcji kalusa: ciśnieniową ekstrakcję gorącą wodą (PHWE), ekstrakcję etanolem, ekstrakcję z wykorzystaniem rozpuszczalników innych związków tj. n-heksanu, chloroformu, octanu etylu, n-butanolu lub wody. Otrzymano szereg różnych ekstraktów z kalusa ryżu siewnego. Wykazano, że ekstrakt n-heksanowy w największym stopniu pobudzał migrację komórek, co ma istotne znaczenie w procesie zarastania rany. Naukowcy sugerują, że materiały lipidowe zawarte w tym ekstrakcie mogą stymulować ekspresję czynników wzrostu wewnątrz rany [39].

Wyjątkowe właściwości regenerujące wykazują owoce gruszy chińskiej (*Pyrus pyrifolia*). Roślina wykorzystywana jest w tradycyjnej medycynie koreańskiej i chińskiej ze względu na zawartość składników aktywnych, takich jak związki fenolowe (np. arbutyna, kwas chlorogenowy, kwercetyna, katechiny), triterpeny, steroidy. Wykorzystywana jest także jako środek przeciwkaszlowy, przeciwbiegunkowy i antyoksydacyjny. W 2018 roku zbadano wpływ wodnego kalusowego ekstraktu z liści gruszy chińskiej. Zidentyfikowano trzy główne związki wykazujące działanie biologiczne: adenozyne, guanozyne i urydyne. Wykazano, że ekstrakt posiada silne działanie antyoksydacyjne. Ekstrakt znacząco pobudza proliferację keratynocytów i fibroblastów [40].

Alternatywę dla tradycyjnych metod leczenia trudno gojących się ran stanowi wykorzystanie opatrunków hemielulozowych nowej generacji. Są one wykonane z nanocząsteczkowych włókien roślinnych komórek macierzystych. Nanogen Activ produkowany przez firmę Genadyne wykorzystujący komórki macierzyste roślin pozwala na zmniejszenie stanu zapalnego, obrzęku i pobudzenie procesów regeneracyjnych w ranie. Opatrunek Nanogen Activ zawiera aktywne związki pochodzenia roślinnego obdarzone ładunkiem dodatnim, co pozwala na usunięcie martwych

tkanek z rany, a także pobudza procesy ziarninowania. Ten nowoczesny wyrób polecany jest pacjentom, u których tradycyjne środki przeciwdrobnoustrojowe nie działają. Preparat jest w 100% roślinny, dzięki czemu ryzyko wystąpienia alergii jest znikome. W 2015 roku dokonano oceny wpływu biocelulozowego opatrunku uzyskanego z komórek macierzystych zielonej herbaty na grupie 32 pacjentów z przewlekłymi niegojącymi się ranami o różnej etiologii. Po zastosowaniu opatrunku zauważono wzrost wytwarzania składników macierzy zewnątrzkomórkowej, co przyspieszało proces gojenia ran [41-43].

7. Podsumowanie

Komórki macierzyste, dzięki unikatowym właściwościom, coraz częściej wykorzystywane są w kosmetykach do pielęgnacji skóry, a także w medycynie regeneracyjnej. Technologia przemysłowej produkcji ekstraktów komórek macierzystych stanowi źródło unikalnych aktywnych składników, wolnych od toksycznych dodatków, co gwarantuje wysoką jakość produktu końcowego. Dalszy rozwój technik biotechnologicznych pozwoli wkrótce na szersze komercyjne wykorzystanie komórek macierzystych.

8. Wykaz skrótów

SAM	merystem wierzchołkowy pędu (Shoot Apical Meristem)
RAM	merystem wierzchołkowy korzenia (Root Apical Meristem)
STM	gen <i>SHOOT MERISTEMLESS</i>
WUS	gen <i>WUSCHEL</i>
CLV 1,2,3	geny <i>CLAVATA 1,2,3</i>
CUC	gen <i>CUP SHAPED COTYLEDON</i>
SYD	gen <i>SPLAYED</i>
AP2	gen <i>APETALA2</i>
AG	gen <i>AGAMOUS</i>
ULT	gen <i>ULTRAPETALA</i>
LFY	gen <i>LEAFY</i>
HAN	gen <i>HANABA TARANU</i>
SOC1	gen <i>SUPPRESSOR OF OVEREXPRESSION OF CONSTANS1</i>
SVP	gen <i>SHORT VEGETATIVE PHASE</i>
AGL24	gen <i>AGAMOUS LIKE 24</i>
AP1	gen <i>APETALA1</i>
CAL	gen <i>CAULIFLOWER</i>
PHWE	ciśnieniowa ekstrakcja gorącą wodą

9. Bibliografia

- Pavlović M., Radotić K.: Animal and plant stem cells Concepts, Propagation and Engineering, 2017.
- Bielawska A., Szymanowska A.: Komórki macierzyste - nadzieja medycyny, Aktualności Medyczne, 2018, 9: 32-37.
- Meinke D.W., Cherry M., Dean C., Rounsley D.S., Koornneef M.: *Arabidopsis thaliana*: a model plant for genome analysis, Science, 1998, 282: 662-682.
- Fletcher J.C., Meyerowitz E.M.: Cell signalling within the shoot meristem, Curr. Opin. Plant. Biol., 2000, 3: 23-30.
- Szczęśny T.: Genetic control of self-perpetuation of the shoot apical meristem in *Arabidopsis thaliana*, Postępy Biologii Komórki, 2008, 2: 169-182.

6. Grabowska A., Filipecki M., Linkiewicz A.: Genetic regulation of plant embryogenesis, *Postępy biologii komórki*, 2001, 4: 509-527.
7. Barton M.K., Poethig R.S.: Formation of the shoot apical meristem in *Arabidopsis thaliana* - An analysis of development in wild type and in the shoot meristemless mutant, *Development*, 1993, 119: 823-831.
8. Kumar P., Mina U.: Life Sciences, Fundamentals and Practice, Part II, 2016.
9. Clark S.E., Jacobsen S.E., Levin J.Z., Meyerowitz E.M.: The CLAVATA and SHOOT MERISTEMLESS loci competitively regulate meristem activity in *Arabidopsis*, *Development*, 1996, 122: 1567-75.
10. Aida M., Ishida T., Tasaka M.: Shoot apical meristem and cotyledon formation during *Arabidopsis* embryogenesis: interaction among the CUP-SHAPED COTYLEDON and SHOOT MERISTEMLESS genes, *Development*, 1999, 126: 1563-1570.
11. Schoof H., Lenhard M., Haecker A., Mayer K.F., Jürgens G., Laux T.: The stem cell population of Arabidopsis shoot meristems in maintained by a regulatory loop between the CLAVATA and WUSCHEL genes, *Cell*, 2000, 17: 635-644.
12. Sharma V.K., Carles C., Fletcher J.C.: Maintenance of stem cell population in plants. *PNAS*, 2003, 100: 11823-11829.
13. Zhao Y., Medrano L., Ohashi K., Fletcher J.C., Yu H., Sakai H., Meyerowitz E.M.: HANABA TARANU is a GATA transcription factor that regulates shoot apical meristem and flower development in *Arabidopsis*, *Plant. Cell.*, 2004, 16: 2586-2600.
14. Wilnowicz E., Frankowski K., Glazińska P., Sidłowska M., Marciniak K., Kopcewicz J.: Rola giberelin w regulacji kwitnienia roślin, *Kosmos Problemy Nauk Biol.*, 2011, 1-2: 129-140.
15. Drish R.C., Stahl Y.: Function and regulation of transcription factors involved in root apical meristem and stem cell maintenance, 2015, *Front Plant Sci.*, 6: 505.
16. Perilli S., Di Mambro R., Sabatini S.: Growth and development of the root apical meristem, *Curr Opin Plant Biol.* 2012, 15: 17-23.
17. Szweykowska A., Szweykowski J.: Botanika Tom 1 Morfologia, Wydawnictwo Naukowe PWN, 2003.
18. Moruś M., Baran M., Rost-Roszkowska M., Skotnicka-Graca U.: Plant stem cells as innovation in cosmetics, *Acta. Pol. Pharm.*, 2014, 71: 701-707.
19. Yun U.W., Yan Z., Amir R., Hong S., Jin Y.W., Lee E.K., Loake G.J.: Plant natural products: history, limitations and the potential of cambial meristematic cells, *Biotechnol. Genet. Eng. Rev.*, 2012, 28: 47-59.
20. Trehan S., Michniak-Kohn B., Beri K.: Plant stem cells in cosmetics: current trends and future directions, *Future Sci OA.*, 2017, 3:FSO226.
21. Ebel J., Cosio E.G.: Elicitors of plant defense responses. *Int. Rev. Cytol.*, 1994, 148: 1-36.
22. Poulev A., O'Neal J.M., Logendra S., Pouleva R.B., Timeva V., Garvey A.S., Gleba D., Jenkins I.S., Halpern B.T., Kneer R., Cragg G.M., Raskin I.: Elicitation, a new window into plant chemodiversity and phytochemical drug discovery, *J. Med. Chem.*, 2003, 46: 2542-2547.
23. Georgiev V., Slavov A., Vasileva I., Pavlov A.: Plant cell culture as emerging technology for production of active cosmetic ingredients, *Engineering in Life Sciences*, 2018, 18: 779-798.
24. Ekiert H.: Farmaceutyczne aspekty biotechnologii roślin. Część I. Wprowadzenie - metodyka i główne kierunki badawcze, *Farmacja Polska*, 2009, 1: 69-77.
25. Friedman, M.: Tomato glycoalkaloids: Role in the plant and in the diet, *J. Agric. Food Chem*, 2002, 50: 5751-5780.
26. Korkina L. G., Mayer W., de Luca C.: Meristem Plant Cells as a Sustainable Source of Redox Actives for Skin Rejuvenation, *Biomolecules*, 2017, 7: 40.
27. Donnez D., Jeandet P., Clément C., Court E.: Bioproduction of resveratrol and stilbene derivatives by plant cells and microorganisms, *Trends Biotechnol*, 2009, 27: 706-713.
28. Jeandet P., Delaunois B., Aziz A., Donnez D., Vasserot Y., Cordelet S., Court E.: Metabolic engineering of yeast and plants for the production of the biologically active hydroxystilbene, resveratrol, *J. Biomed. Biotechnol*, 2012, 2012: 579089.
29. Barbulova A., Apone F., Colucci G.: Plant Cell Cultures as Source of Cosmetic Active Ingredients, *Cosmetics*, 2014, 1: 94-104.
30. Warghat A.R., Thakur K., Sood A.: Plant stem cells: what we know and what is anticipated, *Mol.Biol. Rep.*, 2018, 45: 2897-2905.
31. Schmid D., Schürch C., Blum P., Belser E., Züll F.: Plant stem cell extract for longevity of skin and hair, *SÖFW J.*, 2008, 134: 30-35.
32. Shürch C., Blum P., Züll F.: Potential of plant cells in culture for cosmetic application, *Phytochem*, 2008, 7: 599-605.
33. Schmid D., Züll F.: Stimulating epidermal regeneration with plant-derived stem cells, *Cosmetics&Toiletries*, 2010, 125: 61-70.
34. Filipović M., Gledović A., Lukić M., Tasić-Kostov M., Isailović T., Pantelić I., Vuleta G., Savić S.: Alp Rose stem cells, olive oil squalene and a natural alkylpolyglucoside emulsifier: Are they appropriate ingredients of skin moisturizers - *in vivo* efficiency on normal and sodium lauryl sulfate-irritated skin?, *Vojnosanit Pregl*, 2016, 73: 991-1002.
35. Schmid D., Züll F.: Use of Plant Cell Cultures for a Sustainable Production of Innovative Ingredients, *SOFW Journal*, 2012, 138: 2-10.
36. Ples M., Glik J., Misiuga M., Skotnicka J., Kawecki M., Nowak M.: Rany przewlekłe i ich leczenie. Substytuty skóry i przeszczepy allogeniczne, *JOTSRR*, 2016, 38: 48-56.
37. Przetaczek-Rożnowska I., Bubis E.: Zboża bezglutenowe alternatywą dla osób chorych na celiakię, *Kosmos problemy nauk biologicznych*, 2016: 310: 127-140.
38. Lee H., Kim D., Lim S.M., Kwon S.: Rice callus extracts for enhancing skin wound healing. *Biotechnology and Bioprocess Engineering*, 2017, 22: 352-358.
39. Park D.E., Adhikari D., Pangeni R., Panthi V. K., Kim H. J., Park J. W.: Preparation and characterization of callus extract from *Pyrus pyrifolia* and investigation of its Effects on Skin Regeneration, *Cosmetics*, 2018, 5: 71.
40. Wahab N.: Nanogen Aktiv - brochure, Genadyne Biotechnologies, Cosmetics, 2018.
41. Wahab N., Guadagnoli J.A., Wray K., Luttrell T.: Use of plant based stem cell nanotechnology on nonhealing chronic wounds, 2015 - poster, <http://wce.lasvegaswebsolution.com/wp-content/uploads/2016/06/Use-of-Plant-Based-Stem-Cell-nanotechnology-on-Non-healing-Chronic-Wounds.pdf>.
42. Nanogen Aktiv product information: <http://www.biologiq.nl/User-Files/Nanogen%20Aktiv%20folder%20E%2004%202014.pdf>.
43. Elizondo J.: Use of bio-cellulose gel and bio-cellulose nanostructured matrix as palliative care in a hard to heal chronic wound - poster https://cdn.shopify.com/s/files/1/1012/7758/files/P-Nanogen_poster.pdf.